

DR A. SCHIERBEEK

**DE
WONDER WERELD
VAN
HET
MIKRO SKOOP**



DE WONDERWERELD VAN HET
MIKROSKOOP

DR. A. SCHIERBEEK

DE
WONDERWERELD
VAN HET
MIKROSKOOP

127 AFBEELDINGEN
6DE GEHEEL HERZIENE DRUK

1962

N.V. UITGEVERIJ W. P. VAN STOCKUM & ZOON - 'S-GRAVENHAGE



6E GEHEEL HERZIENE DRUK 1962

1E DRUK 1929
2E DRUK 1932
3E DRUK 1935
4E DRUK 1946
5E DRUK 1951

DRUK

KON. DRUKKERIJEN LANKHOUT-IMMIG N.V. — 'S-GRAVENHAGE

VOORBERICHT VOOR DE VIJFDE DRUK (1952)

De onderwerpen, die in dit werkje zijn beschreven, zijn voor het merendeel door mij behandeld op een vrijwillig praktikum met de leerlingen uit de 5de klasse H.B.S. (sinds 1922), op een cursus voor Montessori-leidsters en daarna op het Gymnasium Haganum, 6de klasse, toen het derde lesuur in de 5de klasse nog niet aan de biologie onttroefd was. Ook op een cursus aan de Haagse Volksuniversiteit werden de oefeningen beproefd (1927/28).

De eerste druk verscheen in 1929: het aantal oefeningen bedroeg toen 100, het aantal figuren 87. De tweede druk bleef gelijk in omvang, maar in de derde (1935) steeg het aantal oefeningen tot 168, het aantal figuren tot 103. De vierde druk, waarover reeds tussen uitgever en schrijver gesproken werd in het gijzelaarskamp te Haaren op 13 juli 1942, verscheen in 1945. Het aantal oefeningen werd uitgebreid tot 190, het aantal figuren tot 107. Thans ziet de vijfde druk het licht, met 212 oefeningen en 116 figuren. Gedurende bijna 30 jaren is de ervaring steeds uitgebreid en vooral na de oorlog is veel nieuwe literatuur verschenen, die zoveel mogelijk verwerkt is.

Het beginsel is gelijk gebleven: het boek wil hen, die *zelfstandig mikroskopiseren* aanwijzingen geven voor het onderzoek, maar niet de resultaten van het onderzoek meedelen, want de vreugde van het zelf ontdekken (al is dit „herontdekken”) het zelf vinden is juist de grootste en beste attractie van het mikroskopiseren!

Het boek heeft zich van het begin af gericht tot hen, die niet ervaren zijn, maar die zelf hun weg willen of moeten zoeken, eenzame werkers over ons land verspreid. Vele brieven tot mij gericht, maakten dat een band ontstond tussen vele gebruikers en de schrijver en ik heb dit op hoge prijs gesteld. Thans is de Nederlandse Vereniging voor Mikroskopie de aangewezen plaats om van gedachten te wisselen en het blad *Microwereld* is de band geworden tussen de velen, die met een eenvoudig of meer kostbaar instrument de wonderen der mikroskopische wereld bestuderen. Op verschillende scholen is het boek als handleiding voor het praktikum ingevoerd en ook daar dient de zelfwerkzaamheid op de voorgrond te staan.

Enigszins tot mijn verrassing heeft het boek eveneens zijn weg gevonden onder studenten, die bij hun opleiding mikroskopie moeten beoefenen. Het is vooral met het oog op deze categorie van gebruikers, dat de theorie van het mikroskoop en van het *beste gebruik* van dit prachtige instrument is uitgebreid. Ook voor de andere groepen kan deze theorie voordeel bieden, vooral als een niet te eenvoudig gebouwd mikroskoop wordt gebruikt. Maar zij, die daarover niet beschikken moeten niet menen, dat voor de volgende oefeningen zulk een duur instrument strikt noodzakelijk is: Leeuwenhoek ontdekte de mikroskopische wereld met zelf geslepen lensjes in eigen gemaakte mikroskopen, die in een lucifersdoosje opgeborgen kunnen worden! Zijn voorbeeld bewijst duidelijk, dat de man achter het instrument belangrijker is dan dit instrument zelf.

Bij de derde druk kon ik een dankbaar gebruik maken van vele belangrijke aanwijzingen, door Dr Jac. P. Thijssen en Dr G. Postma verschaft, terwijl Mejuffrouw E. Petri, toen chemisch candidate, het gedeelte over Mikrochemie doorzag en mij verschillende verbeteringen aan de hand deed. Ook bij deze druk verleende Mej. Dra. Petri haar welkome hulp. Thans zijn vooral aan artikelen in *Microwereld* verschillende aanwijzingen ontleend.

Zoals ook in de vorige drukken geschiedde, zijn de eerste oefeningen van ieder hoofdstuk de eenvoudigste. Aan beginnende mikroskopisten (ik hoop dat er nog vele zullen komen) moet dus de raad gegeven worden vooral hiermee te beginnen.

VOORBERICHT VOOR DE ZESDE DRUK

Zo goed mogelijk is ook deze zesde druk (40 jaar na de cursus in 1922) weer bijgehouden, waarbij de schrijver de welkome steun ontving van zeer velen (zodat er vele tientallen wijzigingen zijn aangebracht), met name van de heren B. Brouwer, C. van Duyn Jr., Mevr. Dr A. Koopmans, de heren J. J. Lobenstein, Dr C. Postma en Dr J. van Zuylen. De heren Brouwer en Dr Postma stelden ook enkele fraaie mikrofoto's ter beschikking. De firma's Wild (Zwitserland), Leitz (Wetzlar), Upjohn (U.S.A.), Cooke

(Engeland), Baker (Engeland) en Bleeker (Utrecht) stelden òf cliché's ter beschikking òf ze gaven vergunning tot reproductie. Deze allen wil de schrijver hier van harte bedanken. Het aantal oefeningen werd met 10 uitgebreid die met a of b genummerd zijn, zodat de vijfde druk op een schoolpraktikum naast de zesde gebruikt kan worden. Het aantal figuren steeg tot 127. Het spreekt wel vanzelf, dat de schrijver aansprakelijk blijft voor eventueel nog aanwezige fouten.

Dat het boek, ook in deze vorm, ertoe moge bijdragen de mikroskopie in ruimere zin populariteit te verschaffen is de oprechte wens van de schrijver, die zelf veel genoten heeft van zijn ontdekkingen (d.w.z. meest herontdekkingen!) met het mikroskoop.

's-Gravenhage, 18 december 1961

INHOUD

Voorbericht	5
Hoofdstuk I. <i>Bouw en gebruik van een mikroskoop</i>	9
§ 1. Inrichting van een mikroskoop, geschiedenis, numerische apertuur, oplossend vermogen, theorie van Abbe, fasen-mikroskoop van Zernike, interferentie-mikroskoop	9
§ 2. Bepaling van de vergroting en het oplossend vermogen, teken-apparaat	30
§ 3. Wenken voor 't werken bij kunstlicht, methode van Köhler	35
§ 4. Donkerveldbelichting, contrastfilters, reliëfbelichting, fluorescentie	37
§ 5. Gesteente-onderzoek	42
§ 6. Wenken bij 't mikroskopiseren, mikrofotografie	42
Hoofdstuk II. <i>Plantkundige preparaten</i>	55
§ 1. Eenvoudige preparaten	55
Pollenonderzoek	69
§ 2. Bouw van stengel, wortel, blad, hout	70
Aanhangsel I. Onderzoek van papier	94
Aanhangsel II. Onderzoek van poeders	95
Aanhangsel III. Universele kleuring (planten)	96
Hoofdstuk III. <i>Dierkundige preparaten</i>	97
§ 1. Eenvoudige preparaten (o.a. Insecten)	97
§ 2. Oefeningen voor meer gevorderden	111
Ontwikkelingsgeschiedenis	114
Histologie	117
Hoofdstuk IV. <i>Kristallen en Mikrochemische reacties</i>	119
Hoofdstuk V. <i>Planktonstudie</i>	130
Hoofdstuk VI. <i>Het onderzoeken en kweken van lagere organismen</i>	152
Hoofdstuk VII. <i>Bloed en Bacteriën</i>	167
Hoofdstuk VIII. <i>Blijvende preparaten, Kleuringen</i>	182
§ 1. Bewaren der preparaten	182
§ 2. Kleuren der preparaten	188
§ 3. Mikromanipulator	195
§ 4. Mikrotoom	196
§ 5. Broedstoof (thermostaat)	199
§ 6. Gekleurde prep. uit de handel	200
Register, Reagentiën, Instrumenten	208

BOUW EN GEBRUIK VAN EEN MIKROSKOOP

§ 1. *Inrichting van een mikroskoop*¹⁾

Het mikroskoop bestaat uit een statief en verschillende onderdelen. Het statief is meest voorzien van een *voet* (fig. 1, v). Grotere statieven zijn omklapbaar, goedkopere niet. De *tubus* (tub., buis) wordt òf op en neer geschoven, (iets, wat vooral op den duur niet aan te raden is, hoewel bij een matig gebruik zulk een instrument toch vrij lang behoorlijk blijft voldoen; uiteraard komt deze inrichting alleen bij goedkopere statieven voor en is thans vrijwel verlaten), of er is een schroefbeweging voor de grovere instelling (g. s.). De meeste, ook goedkopere, soorten hebben een *mikro-*

¹⁾ Beginners moeten deze paragrafen goed doorlezen en dan vooral § 5 (de wenken bij het mikroskopiseren) bestuderen en later als zij enige bedrevenheid hebben de eerste paragrafen nog eens doornemen.

De oude naam voor het mikroskoop is *micro-scopium* en in verband daarmee is het zeker niet logisch van de mikroskoop te spreken. Vroeger werd mikroskoop altijd, thans vaak, onzijdig gebruikt.

Het staat vast, dat Galileï in 1610 een Engelsman door een mikroskoop heeft laten zien naar het samengestelde oog van een insect. Ook staat vast, dat Cornelis Drebbel in 1619 aan Boreel, toen gezant in Engeland, een drievoet-mikroskoop heeft laten zien, aan de aartshertog van Oostenrijk geschenken door Zacharias Janssen uit Middelburg, terwijl in het *Dagboek van Isaac Beeckman uit Middelburg*, ca. 1625 (het dagboek loopt van 1612—1635), een tekening voorkomt van een drievoet-mikroskoop. Zacharias Janssen moet in 1588 geboren zijn te 's-Gravenhage, als zoon van een Middelburgse brillenmaker, Hans Martens. Hij huwde 6 november 1610 en kreeg 25 september een zoon Johannes. Hij moet 17 april 1632 zijn overleden. Het is duidelijk dat Zacharias niet in 1590 het mikroskoop kan hebben uitgevonden (gewoonlijk geeft men nog aan: tesamen met zijn zoon Johannes!).

De naam *telescopium* is waarschijnlijk bedacht door de Griek Giovanni Demisiani op 14 april 1611, terwijl de naam *microscopium* afkomstig moet zijn van de Duitser Johannes Faber (1574—1629), die hetzelfde feest van de *Accademia dei Lincei* bijwoonde.

De eerste geschiedenis van ons instrument is in feite onbekend. Het instrument van Galileï was geheel anders gebouwd dan dat uit Holland. Galileï geeft zelf toe dat hij het denkbeeld voor zijn telescoop aan anderen ontleend heeft.

meterschroef (m.s.), die veroorlooft fijn in te stellen, b.v. bij een gehele slag van de schroef 0,5 mm. Is de mikrometerkop in onderdelen verdeeld, b.v. in 50 delen, dan kan men ook de dikte van een voorwerp meten, door eerst bovenop en dan onderaan in te stellen. Vroeger werd de mikrometerschroef van Winkel gekozen, met één schroefkop, die bijna altijd bovenaan achter zit. Bij de duurdere statieven is tegenwoordig een mikrometerschroef van Berger met twee schroefkoppen of die van Meyer in gebruik.

N.B. Men mag nooit een mikroskoop beetpakken en optillen bij de tubus of bij de tubusdrager, maar wel bij de voet of het handvat! Bij de modernste mikroskopen wordt de tafel bewogen en blijft de tubus stilstaan. Bij de huidige duurdere mikroskopen is het oculair (of de oculairen bij een binoculair mikroskoop) met een hoek op de tubus gemonteerd. Zulk een schuine inblik mikroskoop heeft natuurlijk vele voordelen.

Aan het statief is een *tafel (ta.)*, die bij de duurdere mikroskopen groot, draaibaar en centreerbaar is, of voorzien van een *kruistafel* (Kreuztisch), die twee bewegingen loodrecht op elkaar veroorlooft, en die soms op de tafel of aan het statief kunnen worden gemonteerd. Hierbij is tevens een verdeling in onderdelen van millimeters aangebracht, zodat men noteren kan bij welke stand een bepaald preparaat het best een bepaald verschijnsel vertoont.

Onder de tafel is een *spiegel (sp.)*. 't Licht valt hierop en wordt door het mikroskoop geworpen. Eerste eis is dus: goed licht opvangen. Dus: *tafel van zich af, spiegel naar 't venster*. Bij daglicht *de platte spiegel*, bij kunstlicht *de holle* (bij oude Winkel mikrosk. soms *de bolle*). Overdag bij zeer sterke vergrotingen ook de holle spiegel! Gebruikt men een condensor dan altijd de vlakke spiegel.

Tussen spiegel en tafel is bij de duurdere mikroskopen een *condensor* van Abbe (*co*), waardoor men 't licht beter benutten kan (b.v. even laten zakken om de lastige afbeeldingen van een venster kwijt te raken). Vaak is het goed een druppel water te brengen tussen condensor en voorwerpglas, dan is de numer. aper. van een 2-lenzige condensor 1,2; van een drielenzige zelfs 1,4 (zie aanstonds).

N.B. Het helpt niets als men een dure condensor gebruikt met

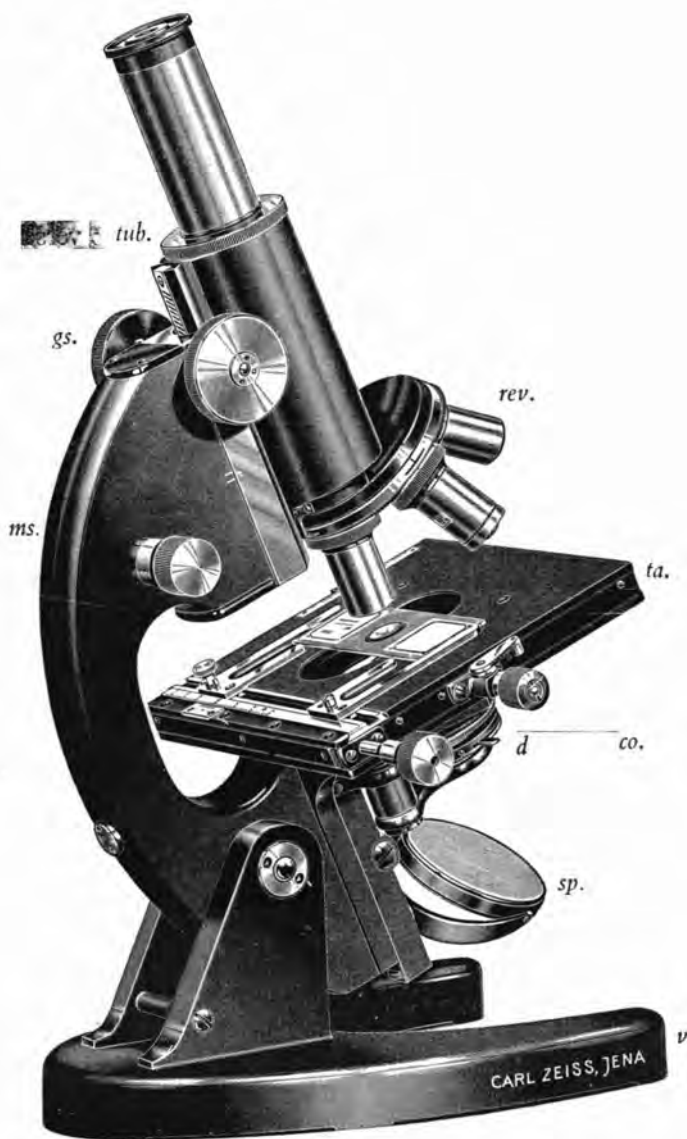


Fig. 1. Groot model van een Zeissmikroskoop op circa $\frac{1}{2}$ nat. grootte. Voor verklaring der letters, zie tekst.
n. Zeiss, Catal. Mikro 400, p. 24.

NA 1,40, als men niet een beetje Cederolie aanbrengt tussen de condensor en het objektglas.

De meeste mikroskopen, ook de goedkopere, hebben tussen spiegel en tafel een *diafragma* (*d*), waardoor het licht geregeld kan worden. Bij *kleiner diafragma* (dus minder licht!) worden de details *meest veel duidelijker*. Dit dus altijd proberen! Mooi is een iris-diafragma. Bij mikroskopen zonder diafragma (b.v. Tami) kan men zich behelpen door een schermpje of de hand op verschillenden afstand van het mikroskoop te plaatsen. Door de vingers wat meer of minder uit te spreiden is het licht zo uitstekend te regelen. Tami is een zgn. *pankratisch* mikroskoop, waarbij de verschillende vergrotingen tot stand komen door verschillende tubuslengten (zie Harting, Het Mikroskoop deel I p. 265; 1848). Voor zover mij bekend wordt de Tami niet meer in de handel gebracht.

Vaak is onder de condensor een ring om een blauw glas op te leggen voor het werken bij (geel) kunstlicht.

In de tubus behoren twee lenzenstelsels: de bovenste heten *oculaires*, de onderste *objektiven*. Op de voorgeschreven *mechanische tubuslengte* (fig. 2 To-Tu) — bij Zeiss 160 mm, bij anderen vaak 170 mm en heel vroeger 250 mm of 10 inches — krijgt men de beste resultaten!

De optische tubuslengte is de afstand tussen het bovenste brandvlak van het objektief en het onderste brandvlak van het oculair (F 1—F 2).

Een zwak oculair is lang, een sterker kort. Vroeger nummerde men de oculairen meest 1, 2, 3, etc., waarbij 1 het zwakst is. Tegenwoordig geeft men vaak de vergroting direkt aan, b.v. 5 $\times$, 10 $\times$. Men moet nooit een te sterk oculair nemen: dit geeft geen details méér, doch vergroot alleen het beeld, dat door het objektief ontworpen wordt (verg. een foto die vergroot wordt, en dan vaak *wazig* is!).

Er bestaat ook een zgn. Ramsden oculair, dit is een positief oculair, samengesteld uit 2 plan-convexe lenzen, met de convexe vlakken naar elkaar gekeerd. Er vormt zich dan een reëel beeld onder de onderste lens. Bij de beste soorten gebruikt men achromatische lenzen. Vaak gebruikt men een Ramsden-oculair voor oculair-mikrometers.

Het Huygens-oculair is een negatief oculair. Het bestaat uit twee plan-convexe lenzen, beide met de convexe zijde naar beneden. Het diafragma is ongeveer in het brandpunt van de ooglenzen geplaatst.

Het *objektief* bestaat uit verschillende lenzen (tot 10 toe!), die elkaars fouten (zo goed mogelijk!) opheffen. Deze fouten zijn:

- a. de *beeldkromming*: een in een plat vlak gelegen voorwerp geeft een beeld dat in een gebogen vlak ligt, zodat de randen en het midden niet tegelijk scherp zijn,
- b. de *kleurschifting* of *chromatische afwijking*, die berust op het feit dat stralen van één spectraalkleur meer gebroken worden dan die van een andere kleur, zodat om de beelden een gekleurd randje verschijnt (meest blauw), daar de brandpunten voor de verschillende kleuren op verschillende plaatsen liggen,
- c. de *bolvormige* of *sferische aberratie* (= afwijking), die ontstaat doordat het beeld gevormd door de stralen die door de rand van de lens gaan dichter bij de lens hun brandpunt hebben, dan de stralen die door het centrale gedeelte van de lens gaan,
- a. het *astigmatische*, d.w.z. het verschijnsel dat punten die buiten de optische as liggen in het beeld niet als punten worden weergegeven, maar als streepjes, terwijl ook lijnen in horizontale en verticale richtingen van het object niet tegelijk in één vlak scherp kunnen worden afgebeeld. Het astigmatische maakt de randen onscherp,
- e. *coma* noemt men de sferische aberratie der scheef invallende bundels, dus het niet in één brandpunt komen der rand- en middenstralen, die scheef door de lens vallen. Het resultaat is ook een onscherpe rand.

Sferische aberratie en *coma* kan men verminderen door het diafragma van de condensor te gebruiken.

De duurdere *achromatische* objectieven zijn gejusteerd voor twee kleuren, de zeer kostbare *apochromaten* zelfs voor drie.

Een uitnemend nieuw objektief is de *Plan-achromat* van Zeiss (1940), die tot de randen toe een scherp beeld geeft.

Om een zgn. oculair-aanwijzer te maken, neme men een Huygens' oculair en schroeft hiervan de bovenste lens af. Op de bovenrand van het diafragma in het oculair lijmt men, bv. met een klein druppeltje Canada-balsem, een borstelhaar, dat in het midden van de opening eindigt.

Het is absoluut ongeoorloofd een zgn. Compensatie-oculair te gebruiken anders dan in verbinding met een apochromaat, waarvoor het gekonstrueerd is.

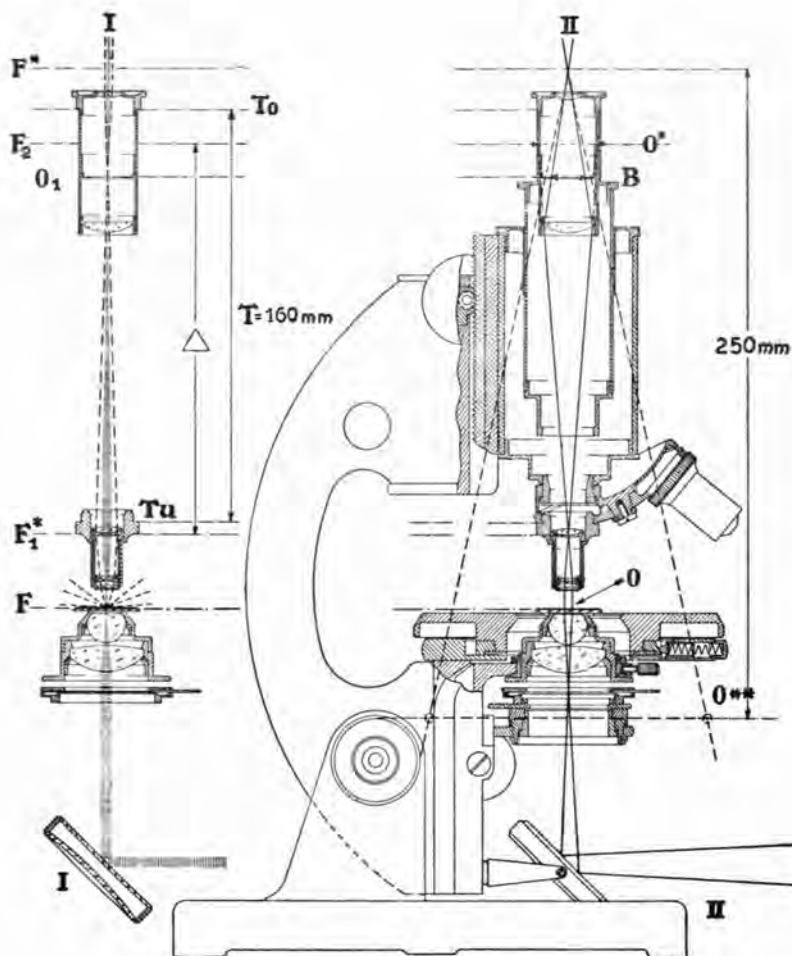


Fig. 2.

- II. Stralengang voor de begrenzing van het gezichtsveld.
 F_1^* . Achterste brandvlak van het objectief.
 F_2 . Voorste brandvlak van het oculair = O^* .
 F^* . Achterste brandvlak van het gehele mikroskoop, uittreepupil.
 F_2, F_1^* . Optische tubuslengte.
 T_0-T_u . Mechanische tubuslengte (Zeiss 160 mm).
 O . Voorwerp in het voorste brandvlak F van het gehele mikroskoop.
 O^* . Vlak waarin het beeld ontworpen door het objectief alleen, zonder oculair, zou ontstaan = F_2 .
 O^{**} . Projectie van het mikrosk. beeld op de afstand van duidelijk zien (250 mm).
 B . Oculair diafragma en plaats van het reële tussenbeeld = O_1 .
 O_1 . Plaats van het reële tussenbeeld = B .

Men nummert de objectieven vaak *A, B, C, D*, of ook 1, 2, 3, etc. De zwakste zijn de *A* en de 1. Tegenwoordig geeft men vaak de eigen-vergroting, die men vermenigvuldigen moet met die van het oculair. *Een sterk objectief is lang, een zwak objectief is kort!* Bij eenvoudige (en vele oude!) mikroskopen is er vaak een *A, B, C* objectief. Dit is het sterkst als men alle drie lenzen (in die volgorde!) onder elkaar heeft, 't zwakst als men alleen *A* gebruikt (*B* en *C* afschroeven)! Ook bij de duurdere mikroskopen kan men van het zwakke objectief de frontlens wel verwijderen en verkrijgt dan een nog kleinere vergroting. Dit is echter niet aan te raden. Het *preparaat* ligt op een glas, het voorwerpglas of *objektglas*, droog of in water, glycerol of iets dergelijks, en is weer bedekt met een *dekglas*.

Hoe sterker de lens gekromd is (dus ook hoe kleiner de lens is!), des te sterker de vergroting. Hoe kleiner de opening, des te minder licht. Bekend is het beeld van een stok, die half in het water is gestoken. De stok ziet er *gebroken* uit. Dit is ook het geval met een lichtstraal, die in het water valt; het deel in 't water nadert dan tot de verticale lijn. Het omgekeerde treedt op als een lichtstraal uit glas of water in de lucht overgaat. Vele stralen zullen dus afgebogen worden, als ze uit het dekglas

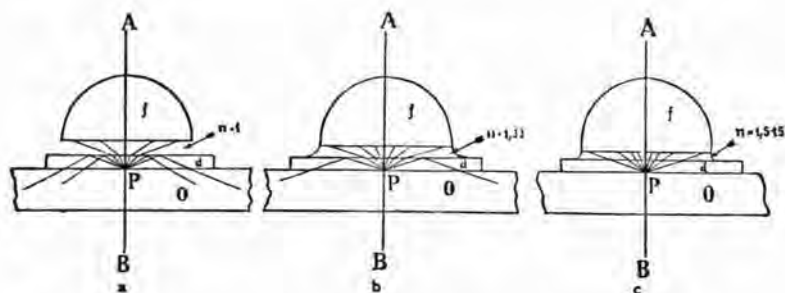


Fig. 3. Stralengang tussen preparaat en frontlens van het objectief:

- a. droogsysteem. $n = 1$ (lucht).
- b. immersiesysteem. $n = 1,33$ (water).
- c. homogeen-imm. $n = 1,515$ (cederolie).
- f. = frontlens, d = dekglas, O = objektglas, P = punt uit het preparaat.

n. Günther, *Das Mikroskop*, p. 32.

in de lucht komen (a), vooral als bij een sterke vergroting het preparaat zeer dicht bij het objektief is. Ze nemen dan geen deel aan de beeldvorming, door de totale reflexie (zie fig. 3a). Daarom heeft men stelsels gemaakt, waarbij *tussen deklas en objektief een druppel water of olie is* (b en c). Men noemt dit *water- of olie-immersiesystemen*. Men vangt dan meer licht op (verg. fig. 3c).

Men noemt de *openingshoek*: de hoek tussen de uiterste stralen die van het voorwerp uitgaan en de frontlens bereiken. Abbe voerde het begrip: *numerische apertuur* in, d.i. de brekingsindex (n) van de stof tussen deklas en de lens vermenigvuldigd met de sinus van de halve openingshoek ($\sin u$), dus $\text{num. apert.} = n \sin u$. Hoewel de theorie van Abbe thans in vele opzichten achterhaald is, wordt voorlopig in dit boek hiervan uitgegaan (de moderne inzichten staan op blz. 28).

n is bij lucht = 1; bij water 1,33; bij ceder-olie 1,515.

In vele gevallen kan men even goed *vloeibare paraffine* nemen. Tegenwoordig gebruikt men veel Shell-immersie-paraffine-olie, die de lenskit niet oplost terwijl de brekingsindex ook zeer hoog is.

De techniek is er nog niet in geslaagd een grotere openingshoek te maken dan 140° . De halve hoek is dus 70° , de sinus van 70° is 0,94. De Num. apert. wordt dus hoogstens, voor 't geval zich lucht tussen preparaat en de lens bevindt: $1 \times 0,94 = 0,94$; voor water $0,94 \times 1,33 = 1,25$ en voor olie $0,94 \times 1,515 = 1,43$.

Tegenwoordig zijn de lenzen zo uitmuntend, dat men vaak $1000 \times$ de numerische apertuur mag nemen. Vroeger nam men meestal $400\text{--}500 \times$ aan (verg. blz. 19).

Veel gebruikt men thans: $\text{O.I.} = \frac{\text{NA} \times 1000}{\text{vergr. objektief}}$ dit heet de *Optical Index van Nelson*.

Gaat men van deze formule uit, dan kan men de lenzen zo goed mogelijk uitkiezen, zonder een „loos” vermogen te gebruiken en zonder teveel te eisen van de beschikbare stelsels (verg. blz. 26).

J. H. Wredden (*The Microscope, its Theory and Applications*, London 1947) geeft o.a. volgende tabel:

Brandpunt-				
Lens	afstand	vergr.	NA.	O.I.
A	16 mm	10	0,28	28
B	„	10	0,25	25
C	„	15	0,25	16,6
Zeiss Apoch.	24 mm	10	0,3	30
„	12 mm	21	0,65	21
„ 1/8 Olieimm.		83	1,4	17
„ 1/50 Waterimm.		550	1,1	2,0

De laatste lens heeft dus een groot „loos vermogen”, al kan dit zijn nut hebben bij het tekenen (verg. blz. 30). Men kan dus zien, voor welk bedrag

men de hoogste O.I. koopt en dit is meer waard dan de hoogste eigenvergroting: stel bv. dat er twee objektieven zijn, die even duur zijn, één met NA 0,8, eigenvergr. 60 en OI = 13, de tweede met NA 0,9, eigenvergr. 40 en dus OI 22, dan verdient de laatste de voorkeur.

Men kan verder als regel nemen, dat de OI wel 26 moet zijn voor een oculair dat $10\times$ vergroot.

Daar de Numerische Apertuur zo uiterst belangrijk is, moet hier nog even over gesproken worden.

$NA = n \sin a$, dus zou $NA = 1$ zijn in de lucht, als de tophoek 180° zou zijn en a dus 90° ($\sin 90^\circ = 1$). Daar de stralen in water minder worden afgebogen komt een openingshoek van 97° van een Waterimmersie

overeen met één van 180° in de lucht ($\sin \frac{97^\circ}{2} \times 1,33 = 1$). Voor een

openingshoek van 180° in water zou $NA = 1,33$ zijn. Een homogene immersie met een openingshoek van 82° heeft een $NA = 1$ (want voor een openingshoek van 180° zou de NA hier 1,525 zijn bij $n = 1,525$; $\sin$

$\frac{82^\circ}{2} \times 1,52 = 1$). Indien men lenzen kiest van glas met $n = 1,65$ en een

Immersieolie met $n = 1,64$, zou NA dus 1,64 kunnen worden.

Het *oplossend vermogen* is recht evenredig met NA.

De *helderheid* is evenredig met NA^2 en omgekeerd evenredig met vergroting.

De *scherptediepte* is omgekeerd evenredig met NA en met vergroting en neemt snel af, als beide toenemen.

De *afstand van het objekt* neemt zeer snel af met vergroting en met NA.

De *middellijn van het gezichtsveld* neemt af als de vergroting toeneemt, doch dit komt wel voor een groot gedeelte door de eigenschappen van het oculair.

Volgens H. Osterberg 1950 kan men bij goede achromaten ook rustig een vergroting van $1000\times NA$ gebruiken.

Om enig idee te geven van de genoemde eigenschappen het volgende tabelletje.

Eigenschappen van een objektief, bij 160 mm tubuslengte:

Vergr.	focus mm inch	NA achrom.	NA Apochromaat
5 $\times$	32 ($1\frac{1}{3}$ ")	0,10	—
7 $\times$	24 (1")	0,15	—
10 $\times$	16 ($\frac{2}{3}$ ")	0,28	0,30
20 $\times$	8 ($\frac{1}{3}$ ")	0,50	0,65
40 $\times$	4 ($\frac{1}{6}$ ")	0,85	0,95
60 $\times$	3 ($\frac{1}{8}$ ")	—	0,95—1,30
90 $\times$	2 ($\frac{1}{12}$ ")	1,25	1,40

NA	Diepte van brandpunt in lucht in mm	idem in ander medium met $n = 1,5$ in mm
0,25	0,0079	0,0122
0,50	0,0008	0,0030
0,75	0,0008	0,0012
1,—	—	0,0007
1,25	—	0,0004

NA	Interval in μ dat opgelost kan worden	Aantal lijnen per inch	idem per mm
0,1	2,75	9.200	$\pm$ 390
0,2	1,37	19.200	700
0,3	0,92	28.000	1000
0,4	0,69	37.000	1450
0,5	0,55	46.000	1800
0,6	0,46	55.000	2165
0,7	0,39	65.000	2559
0,8	0,34	75.000	2953
0,9	0,31	82.000	3250
1,0	0,275	92.000	3650
1,1	0,25	102.000	4000
1,2	0,23	110.000	4331
1,3	0,21	120.000	4720
1,4	0,20	127.000	5000
1,5	0,18	140.000	5512

Naar Olliver 1947.

Men zoekt nu uit welk interval men nog wil oplossen, neemt het minstens daarbij behorende objektief (een sterker is beter!) en houdt zich liefst aan de regel, dat bij achromaten de sterkste vergroting hoogstens 4—500 $\times$ de numerische apertuur mag bedragen en bij olie-immersie en apochromaten hoogstens 1000 $\times$.

E. Schild (1947) geeft enigszins andere waarden voor het oplossend vermogen, nl.:

Num. Apr.	Kleinste deel in μ		Num. Apr.	Kleinste deel in μ
0,05	11,0		0,40	1,4
0,10	5,5		0,45	1,2
0,15	3,7		0,50	1,1
0,20	2,8		0,55	1,0
0,25	2,2		0,60	0,92
0,30	1,8		0,65	0,85
0,35	1,6		0,70	0,79

Num. Apr.	Kleinste deel in μ		Num. Apr.	Kleinste deel in μ
0,75	0,73		1,10	0,50
0,80	0,69		1,20	0,48
0,85	0,65		1,15	0,46
0,90	0,61		1,25	0,44
0,95	0,58		1,30	0,42
1,00	0,55		1,35	0,41
1,05	0,52		1,40	0,39

Voor een gewone „droge” mikroskoop is de max. Num. Apert. ongeveer 0,95, voor een Waterimmersie 1,33 (maar in de praktijk slechts 1,20), bij een Olie-imm. theoretisch 1,515, praktisch echter 1,42.

E. Schild raadt ook aan zich aan de $1000\times$ regel te houden, dus nooit te trachten verder te gaan dan $1000\times$ de Num. Apert. en bij minder goede lenzen niet verder dan $500\times$ de Num. Apert. voor de sterkste vergroting (verg. blz. 18).

Men weet dan welk objectief vereist en ook welk obj. nog toelaatbaar is. Zo zal volgens Olliver voor een strukturelement van $0,4\mu$ een vergroting van $250\times$ nodig zijn om te komen tot de grens van de zichtbaarheid $= 100\mu$. Men neme dus een objectief met een Num. apert. van 0,7, maar beter van 0,85 en hierbij een oculair, dat $20\times$ vergroot.

Volgens Schild zou men een objectief met een Num. Apert. van 1,35 tot 1,40 moeten nemen. Hij stelt dus veel hogere eisen!

Men kan nu de NA als volgt schatten (R. M. Allen, *The Microscope*, 1947). De goede firma's geven de NA nauwkeurig op!

Neem een objectief met bekende NA en stel hiermee scherp in. Zorg dat het beeld van de lichtbron, door condensor ontworpen, tevens scherp te zien is.

Verwijder nu het oculair en kijk naar de achterste lens van het objectief. Sluit nu het irisdiaphragma van de condensor langzaam, tot de grens hiervan juist zichtbaar wordt in de omtrek van de achterste lens van het objectief. Meet nu zo zorgvuldig mogelijk de opening van het diafragma.

Herhaal dit voor alle objectieven met bekende NA en maak hiervan een lijstje.

Onderzoek nu een onbekend objectief en zoek hiervan de plaats op het lijstje. Gebruik hierbij steeds hetzelfde object en hetzelfde objectglas en houd de afstand tot de lichtbron konstant!

Het hoogste wat een mikroskoop kan presteren is ook afhankelijk van de golflengte van het gebruikte licht $d = \frac{\lambda}{2 n \sin a}$. Indien men dus met blauw licht werkt en men neemt niet $\frac{1}{2} \lambda$, maar $0,61 \lambda$ wat feitelijk te hoog is, dan is het maximum wat men kan verwachten, voor $NA = 1,40$: $R = \frac{1,40}{0,61 \times 0,49} \mu = 0,20 \mu$ of $200 m\mu$ en voor Ultra-violet licht circa 100μ .

Zoals uiteengezet is de uiterst bereikbare grens in de praktijk $1000 \times \text{NA}$, maar in de praktijk doet men beter $500 \times \text{NA}$ te nemen, vooral bij eenvoudige mikroskopen.

Men kan ook aldus redeneren: Met 't blote oog ziet men streepjes die op 0,1 mm (dus 100μ) afstand van elkaar staan nog juist van elkaar gescheiden. Heeft men nu een vergroting van $500 \times$, dan mag de afstand dus zijn

$\frac{100}{500} \mu = 0,2 \mu$. Neemt men een vergroting van $1000 \times$, dan zou de

theoretische grens dus liggen bij $0,1 \mu = 100 \mu$. De streepjes zouden dan nog juist gescheiden zijn, maar in de praktijk moet men zeker $3 \times$ het bedrag nemen!

De *dieptescherpte* van een mikroskoop is niet groot en neemt sterk af als de vergroting groter wordt: b.v. bij numer. aper. 0,35 (vergroting pl.m. $175 \times$) ongeveer 0,03 mm, bij numer. apert. 1,00 (vergroting pl.m. $500 \times$) slechts 0,002 mm = 2μ . *Men ziet dus feitelijk steeds een (optische) doorsnede door het objekt.*

Met een immersiesysteem kan men deeltjes van 250μ (= millimikron; 1 mikron = $1 \mu = 0,001$ mm) nog goed zien, en deeltjes van 100μ nog aantonen; met een ultra-mikroskoop, waarbij de deeltjes als het ware zelf lichtend worden gemaakt (verg. de zonnestofjes) zelfs van $\pm 5 \mu$. Dit nadert dus de grens van een eiwitmolekuul ($\pm 3 \mu$)! Men ziet dan niet meer de juiste vorm en toont dus alleen 't bestaan der deeltjes aan. Bij zeer sterke vergrotingen ontstaan buigingsbeelden, die men gemakkelijk met „echte” beelden kan verwarren. Zoals C. van Duyn Jr. mij schreef, ontstaan alle mikroskopische beelden door buiging en interferentie; beeldvervalsing treedt op door interferentie als men het condensordiafragma te ver open houdt.

De gezichtshoek waaronder men een voorwerp ziet, moet minstens $1'$ zijn. Teken een aantal zwarte blokjes van 1 mm^2 op 1 mm afstand en bezie die reeks op 4 m afstand. Dit komt ongeveer met deze gezichtshoek overeen. Voor de meer fysische theorie van het ontstaan der beelden moge verwezen worden naar de grondige onderzoeken van Abbe (1873). Zijn „buigingstheorie” voert hier echter te ver. De hoofdzaak is, dat het primaire beeld (van het objektief) bestaat uit een ongekleurd maximum in het midden en terzijde hiervan 2 reeksen spectra, die des te verder van elkaar staan, naarmate de lijnen van het voorwerp dichter bij elkaar zijn. Door interferentie van al deze spectra ontstaat het secundaire beeld, dat met het oculair, dat hierbij als loupe wordt gebruikt, wordt bekeken. Dit beeld zal des te beter overeenstemmen met het voorwerp, naarmate meer spectra hebben meegewerkt aan het tot stand komen.

Een ongekleurd prep. is te vergelijken met een glasplaatje, waarin men ondiepe lijnen heeft geëtst. We zien met het mikroskoop niet veel hiervan. Toch gebeurt er iets, want het licht moet door glas van verschillende dikte gaan en wordt dus meer of minder vertraagd. Het is een faserooster,

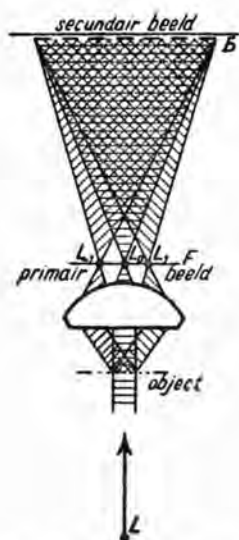


Fig. 4. Verkl., zie tekst.

gelukkig ontstaat ook een goed beeld, als een groot deel der buigingsbundels samenwerken.

Men kan zich ook een beetje een voorstelling vormen van de beeldvorming volgens Abbe:

Leg onder het mikroskoop een Diatomeeënpreparaat, b.v. van Pleurosigma. Stel zeer scherp in en verwijder het oculair. Zie naar de achterste lens van het objektief, dan ziet men bij juiste verlichting (kunstlicht!) een centrale lichtvlek en daarom heen een aantal spectra, vooral bij de uiterste randen van de lens. Het violette deel is naar de as gekeerd, het rode naar buiten. Hoe fijner het objekt is, des te verder staan deze spectra uit elkaar.

Om een goed beeld te krijgen moeten deze spectra weer verenigd worden tot één beeld (als men een ringetje metaal of donker papier op de achterlens legt ziet het beeld er struktuurloos uit, als men het oculair weer inschakelt). Alleen als de NA van het objektief groot is, kunnen deze spectra van zeer fijne objekten gevormd worden en daarom is het oplossend vermogen van lenzen met kleine NA niet groot genoeg voor zulke fijne strukturen. Bij scheve belichting kan het gelukken enkele spectra, aan één zijde, op te nemen, die anders buiten de lens zouden vallen, en hierdoor is het mogelijk soms met scheve belichting nog iets van de struktuur waar te nemen.

waarmee Zernike bedoelt, dat het licht dat een dunner deel van het glas passeert in een andere fase is van de golfbeweging, die wij aan het licht toekennen, dan licht dat een dikker gedeelte van het glas heeft doorlopen (dit is dus een „interferentie“!).

Behalve door een dikker gedeelte van dezelfde stof, zoals hier glas, kan men dit ook bereiken met behulp van een optisch dichtere stof, dus één met een grotere brekingsindex (zie Hoofdstuk VIII).

Het is hierom, dat we bv. Diatomeeën moeten insluiten in stoffen, met een brekingsindex, die liefst sterk afwijkt van die der Diatomeeën zelf. Laten we nu licht gaan door een rooster, dat zelf geen licht uitstraalt, dan ontstaan in het brandvlak van het objektief buigingsbeelden (L_0 - L_1), die opgevat mogen worden als nieuwe trillingscentra. Door de samenwerking hiervan ontstaat het beeld van het rooster (b) (fig. no. 4). Abbe wees erop, dat men alleen dan een volkomen zuivere afbeelding zal kunnen krijgen, als alle buigingsbundels, die van het objekt uitgaan, meewerken aan de tot standkoming van het beeld. Dit is nooit het geval, maar

Elektronenmikroskoop

Een zeer interessante methode om de λ te verkleinen (en dus het oplossend vermogen te vergroten) vindt men toegepast in het elektronenmikroskoop van Maston, dat van Siemens en Halske, dat van Ruska en Borries en dat van Prof. Dorgelo en Ir Le Poole te Delft. Philips brengt het „Delftse” elektronenmikroskoop in de handel, maar voor een amateur is dit uiteraard te duur.

Het elektronenmikroskoop is zeker geen instrument voor „beginners”, maar daar men er veel over leest, mogen enkele opmerkingen hierover hier een plaatsje vinden. Voorzover mij bekend, kwam het eerste elektronenmikroskoop in 1931 tot stand. Daar de golflengte (λ) ca. $100.000 \times$ kleiner is dan van de lichtgolven, zou men theoretisch een oplossend vermogen kunnen verwachten dat ook 100.000 kleiner is dan van het lichtmikroskoop, maar het lichtmikroskoop heeft er 300 jaren over gedaan om de grens te bereiken en men kan dus niet verwachten dat het elektronenmikroskoop in enkele decennien de uiterste grens zal be-

reiken. Zoals op blz. 19 is uiteengezet is de grens van het optisch mikroskoop $100\text{--}200\text{ m}\mu$ en die van het elektronenmikroskoop ligt thans tussen $1\text{--}2,5\text{ m}\mu$.

Von Ardenne berekende de grootste vergroting op $500.000 \times$. In de praktijk ligt de grens van het oplossend vermogen thans bij $1,4\text{ m}\mu$ ($0,0000014\text{ mm}$). Het oplossend vermogen is thans $\pm 100 \times$ die van het lichtmikroskoop. Hierbij kan men de juiste vorm waarnemen dezer deeltjes!

Een bezwaar was, dat de door-dringingsscherpte zeer gering was, en dat bv. een dekglas al te dik was. Men moest werken met dode objecten in het luchtledige, wat voor biologische objecten zeker geen ideale omstandigheden zijn. Thans is echter in Toulouse een elektronenmikroskoop gekonstrueerd, dat met zulk een hoog voltage werkt dat men goed door een dekglas kan dringen, zodat een object in vivo (dus levend) kan worden bestudeerd. Het kan dus zijn, dat ons nog grote ver-



Fig. 5. Structuur van een chloroplast, gezien door een elektronenmikroskoop. Uit *The Cell* van de firma Upjohn, Kalamazoo, Michigan, U.S.A. Vergroting $\pm 13.000 \times$.

rassingen te wacht ontstaan. Om te laten zien hoever men reeds is doorgedrongen, is een elektronenmikroskopische opname van een chlorofylkorrel (chloroplast) opgenomen (zie fig. 5).

Literatuur:

- Das Uebermikroskop als Forschungsmittel*, Siemens en Halske, Berlin 1941.
Elektronenmikroskopie, A. E. G. Berlin, Ramsauer 1942, 2e heft.
 G. Parr, *The Electron Microscope*, 1944.
 D. C. Pease, *Histology, Techniques for Electron Microscopy*, New York, 1960.

Zeer fraaie mikrofoto's opgenomen met het elektronenmikroskoop vindt men in de genoemde boeken, in de brochure *The Cell* van de firma Upjohn en in *Scientific American*, sept. 1961: *The living cell*. Hierin ook veel moderne literatuur.

Overzicht van het scheidend vermogen van:

Oog	0,1 mm = 100 μ	1×10^{-2} cm
Loupe	10 μ	1×10^{-3} cm
Mikroskoop	0,5 μ = 500 m μ	5×10^{-5} cm
Mikroskoop met immersie	0,25 μ = 250 m μ	
Ultra-violet mikroskoop	0,10 μ = 100 m μ	1×10^{-5} cm
Elektronenmikroskoop	$\pm 2-5$ m μ	2×10^{-7} cm

Leeuwenhoek's mikroskopen gingen tot 1 μ !

Fase-contrast-mikroskoop van Zernike

Hiervoor zijn enkele hulpmiddelen nodig:

1e. *fase-rooster* van Zernike (1935).

Gewoonlijk moet men een objekt niet vergelijken met een rooster, dat volkomen donkere strepen naast volkomen heldere bevat, maar het komt meer overeen met een rooster, dat uit strepen bestaat, die wat meer en wat minder licht doorlaten. De amplitudo van het licht, door een donkere band doorgelaten is dan iets minder dan die van het licht, dat door een helderder band is gegaan. Daarom spreekt Zernike in dit geval van een amplitudo-rooster.

Nu dient men twee lichtbundels te onderscheiden:

1. de egale verlichting tot stand gekomen door de lichtbundel, die het diafragma van de condensor is gepasseerd en die een afbeelding hiervan vormt in het brandvlak van het objektief. Dit is een centrale lichtvlek, die zeer lichtsterk is.
2. Een aantal buigingsvlekken, ook in het brandvlak, ontstaan door het rooster, die zeer lichtzwak zijn. De middelste vlek valt samen met de sub 1 genoemde centrale lichtvlek.

We zien dus wel een roosterstructuur, maar met zeer weinig contrast. Zouden we de centrale lichtvlek in intensiteit kunnen verminderen, dan zouden we het rooster beter kunnen waarnemen.

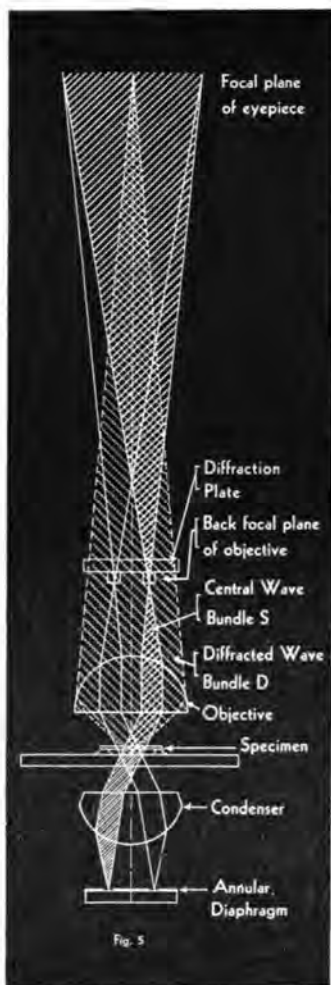


Fig. 6. Fase-contrast.
Verklaring, zie tekst.

Zernike breidde deze gedachten nu uit tot een fase-rooster: brengt men in het brandvlak van het objectief een glazen plaatje aan, waarin op de plaats van de centrale lichtvlek een uitholling is getst, die maakt dat de fase van die centrale lichtvlek met $\frac{1}{4}$ is gewijzigd, dan zal het moeilijk waarneembare fase-rooster duidelijk zichtbaar worden! Maakt men het fase-verschil $\frac{3}{4}$ dan zal een negatief fase-contrast optreden (fig. 6).

Door deze geniale vinding van Zernike is het mogelijk zonder kleuringen bv. chromosomen waar te nemen, dus bij levende objecten.

Men heeft bij deze methode nog twee hulpmiddelen nodig:

1. Objectieven waarin tussen de lenzen het fase-rooster is aangebracht. Het beste is dit ringvormig te maken en slechts zwak absorberend.
2. Een speciale condensor, met een ringvormig diafragma, dat door centreerschroeven zijdelings verstelbaar is. Het beeld van dit diafragma moet zeer nauwkeurig vallen op de fase-ring van het objectief. Daarom is vaak een derde hulpmiddel vereist, nl. een hulpmikroskoop om dit samenvallen te controleren.

Alle grote firma's, die mikroskopen in de handel brengen, hebben zich toegelegd op het maken van fase-contrast-mikroskopen, deze Nederlandse vinding is direct over de gehele wereld aanvaard. Men kan zonder overdrijving zeggen, dat na Abbe dit de grootste vooruitgang is van het mikroskoop. Een, niet door mij gecontroleerde, methode om een fase-mikroskoop te maken door het beroeten van enige lenzen met een kaars, vindt men in Nature, blz. 1739. Men kan met zulk een fase-mikroskoop b.v. de chromosomen zonder kleuring zien!

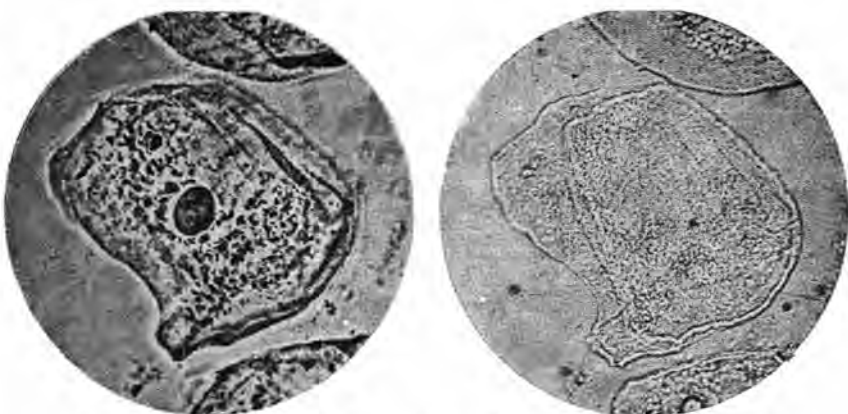


Fig. 7. Zelfde epitheelcel met en zonder faserooster van Zernike naar v. Cittert.

De half verzilverde objekt- en dekgleden van Frederikse

Indien men het objekt- en het dekglas half verzilverd, zal er een interferentie ontstaan tussen de lichtstralen, die direkt doorgaan en die welke $2\times$ teruggekaatst zijn. Door deze interferentie zal dus een bepaalde kleuring ontstaan van het gezichtsveld. Een tussenliggend preparaat verandert deze kleur en kleine veranderingen in brekingsindex zijn zichtbaar als vrij grote kleurverschillen. Een bezwaar is, dat de methode veel licht verbruikt, zodat het beeld lichtzwak is.

Interferentie-mikroskoop

Zoals bekend kan men het licht opvatten als een golfbeweging: komen nu op een bepaald punt en een bepaald ogenblik een golfdal en een golfhoogte bij elkaar dan heffen die golfbewegingen elkaar op (uit licht + licht ontstaat dan donker!). Verdeelt men een lichtstraal nu door een dubbelbrekende plaat in 2 gedeelten, met tegengesteld faseverschil dan laat men deze stralen door een objekt gaan (waarbij de lichtstralen vertraagd worden en van fase veranderen), terwijl men daarna deze lichtstralen weer verenigt, dan worden zeer geringe fase-verschillen zichtbaar; daar de verschillende kleuren veroorzaakt worden door licht van verschillende golflengten, kan het zijn dat één kleur wordt uitgedoofd en een ander juist versterkt (als 2 golfhoogten op hetzelfde tijdstip op een bepaald punt aankomen). Op dit principe (maar dan heel wat ingewikkelder dan hier is voorgesteld!) berust het interferentie-mikroskoop (Firma P. C. Baker, Londen). Men kan op deze wijze zelfs fase-verschillen van $\frac{1}{300}$ van

- A Swing-out polariser. The rotation of this element controls the intensity relationship between the double-refracted beams, permitting the out-of-focus image to be extinguished for normal transmitted-light conditions.
- B Double-refracting plano-concave lens.
- C The double-refracted rays entering the Abbe condenser.
- D Double-refracting plate cemented to the front lens of the condenser rendering it bi-focal.
- E Double-refracting plate rendering the objective bi-focal.
- F The re-combined double-refracted rays.
- G Quarter-wave plate.
- H The re-combined rays circularly polarised in opposite directions by the quarter-wave plate.
- J Rotatable analyser, with swing-out section, calibrated in degrees.
- K The phase relationship between the circularly polarised rays is adjusted by the analyser.
- L Final image exhibiting interference between the in-focus image of the object super-imposed upon the out-of-focus image.

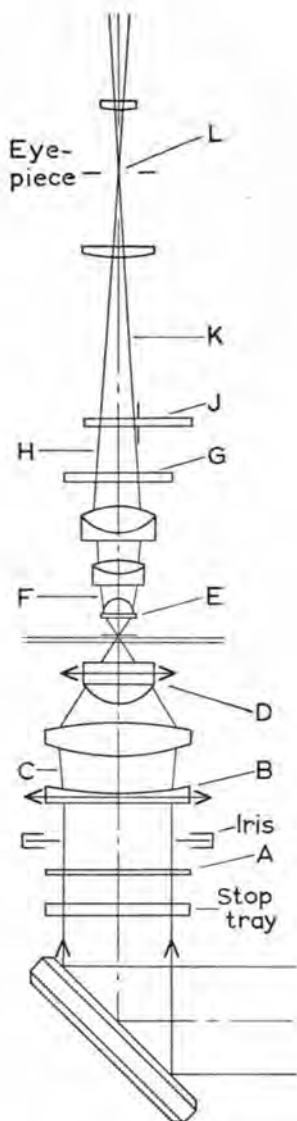


Fig. 8. Stralengang in het interferentiemikroskoop van Baker.

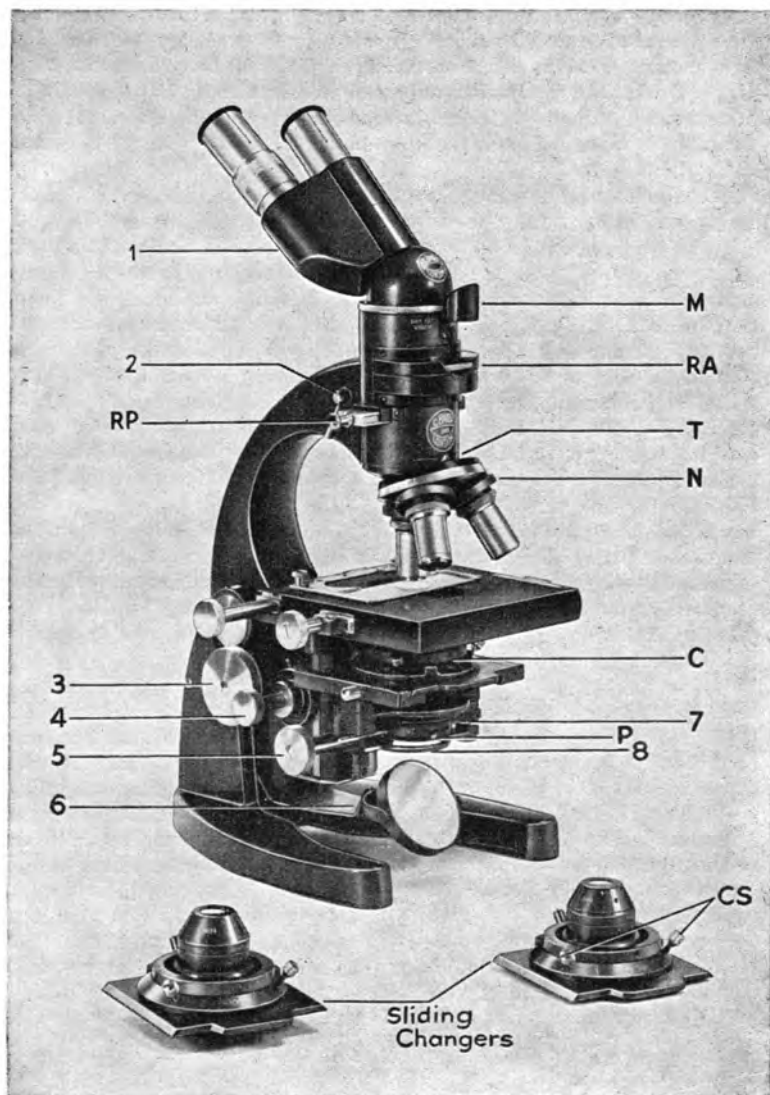


Fig. 9. Het interferentiemikroskoop van Baker, uitgevonden door F. H. Smith.

de golflengte van het gebruikte licht vaststellen, en o.a. de brekingsindex, het watergehalte, het eiwitgehalte (tot 0,01 % nauwkeurig!) van verschillende bestanddelen van een cel bepalen (Verg. C. van Duyn in Focus, 1956, nr. 19; Dr. L. Otto: Durchlicht-mikroskopie, Berlin 1959; Dr. J. v. Zuylen, Microwereld, 1956, p. 57). Er is alle reden om te vermoeden, dat deze uitvinding van de heer F. H. Smith in de toekomst van groot belang zal zijn!

De wetenschap gaat meestal eerst van een „model” uit, dat in vele opzichten vereenvoudigd is, later leert men de nodige correcties aanbrengen.

In Abbe's theorie is een voorwerp een volkomen vlak iets met absoluut zwarte en witte lijnen. Bovendien is de lichtbron gedacht als ideale puntvormige bron en de lensfouten zijn niet in aanmerking genomen. Deze veronderstellingen gelden echter niet en de moderne theorieën houden rekening met deze afwijkingen. Het waren Zernike, Osterberg, Hopkins & Barham en wat de fysiologie van het menselijk oog betreft vooral Hartridge die hier vooruitgang hebben gebracht.

Osterberg (1950) berekende dat voor zelf-lichtende voorwerpen de grens van het scheidend vermogen 22 % kleiner is dan volgens de klassieke theorie en als er 2 zelf-niet-lichtgevende voorwerpen zijn is de limiet nog kleiner.

Zernike kwam reeds tot een scheidend vermogen van een fase-contrast-mikroskoop dat tot 40 % hoger ligt, dan dat van een gewoon mikroskoop, maar men becijferde dat voor een interferentie-mikroskoop, de grens voor een licht voorwerp tegen een donkere achtergrond ligt bij 0,05-0,02 μ (dus een geheel andere grootte dan de 250 m μ , die volgens de theorie van Abbe de grens zou vormen! (verg. blz. 20: 250 m μ).

De voornaamste bron van fouten ligt in het feit, dat Abbe geen rekening heeft gehouden met de verschillen in de fysiologie van het oog. Abbe's regel geldt slechts voor 1 % van de bevolking en hierop is de uitspraak gebaseerd dat men nooit hoger moet gaan dan 1000—1100 $\times$ de N.A. Het is gebleken dat voor het merendeel der bevolking de maximum-vergroting wel 2200 $\times$ N.A. mag (moet) bedragen: bij fase-contrast- en interferentiesystemen, donkerveldbelichting en fluorescentie-mikroskopen beginnen de fysiologische eigenschappen van het ook een steeds belangrijker rol te spelen, zodat (indien het scheidend vermogen van het oog $\frac{1}{4}$ is van de optimale grootte) een 4 $\times$ grotere vergroting is vereist! Voor sommige ogen zou dus een vergroting van 4000 $\times$ N.A. pas de grens vormen en niet 1000 $\times$ N.A. De zgn. „lege” vergroting van Abbe is dus volgens deze theorie fundamenteel fout: volgens Hartridge (1950-1954) is de 1000 $\times$ N.A. geen maximum, maar eerder een minimum!

Literatuur:

In ons land heeft C. van Duijn Jr. zich zeer intensief met deze zaken beziggehouden en een reeks artikelen gepubliceerd in het Engelse tijdschrift *The Microscope* (een volledige opgave van de betreffende artikelen

lopende van blz. 196 Vol. 11-303 VI. 12 staat in Vol. 12, no. 11, Nov.-Dec. 1960), Wallington Surrey).

Alva Bennett, Helen Jupnik, Harold Osterberg & Oscar W. Richards: „Phase Microscopy". Wiley, New York, 1951. \$ 7.50.

Maurice Françon: „Le microscope à contraste de phase et le microscope interférentiel". Editions du C.N.R.S., Paris.

C. Baker: „The Baker interference microscope. London. 1954.

H. H. Pfeiffer: *Einrichtung und Gebrauch des Dyson-Interferometer-mikroskops*. *Mikroskopie* 9, 318-323, 1954.

Cooke, Troughton & Simms: *Prospectus CM 2595* (Dyson-interferentie-mikroskoop).

M. Françon, *Progress in Microscopy*, 1961.

Revolver

Bij de duurdere mikroskopen is onder aan de tubus een revolver (rev, fig. 1) voor drie of vier objektieven. Als men de tubuslengte goed heeft, zijn deze goed gejusteerd, d.w.z. men kan onmiddellijk van de zwakke op de sterke vergroting overgaan en het preparaat blijft scherp ingesteld. (Een methode om zelf een (houten!) revolver te maken is beschreven in *Microwereld* blz. 1761 (P. A. Leeflang).)

Heeft men de tubuslengte niet goed, dan kan men ringetjes tussenschroeven, doch dit is niet aan te raden, vooral niet als men sterke vergrotingen gebruikt, het is feitelijk een barbaarse methode maar bij zwakkere hindert het niet veel. Het instrument is tenslotte uitgerekend op de aangegeven tubuslengte. Daarbij haalt men het maximum uit het optisch systeem!

Ieder stel lenzen kan op een bepaalde plaats een beeld vormen van een objekt, maar bij iedere afstand van het objekt behoort een eigen plaats van het beeld. Zulk een „paar" noemt men „geconjugeerde foci". Nu is ieder lenzenstelsel alleen gekorrigeerd voor één speciaal paar geconjugeerde foci (en op een dekglasdikte van 0,17—0,18 mm) en dit beeld moet beken worden door het oculair, dat zich op de hiervoor berekende afstand moet bevinden (hierdoor wordt de tubuslengte bepaald). Door het tussen brengen van ringetjes wordt dus de gehele, zeer nauwkeurig uitgerekende, konstruktie gewijzigd!

Uitmuntende mikroskopen leveren de firma's Hensoldt, Cooke, Spencer = A.O., Leitz, Nachet, Reichert, Zeiss, Baker, Bausch and Lomb, Beck, Swift, Watson & Sons, Wild. Thans worden ook in Nederland zeer goede mikroskopen gemaakt: „De Oude Delft" en Dr. Bleeker N.V. Zeist.

Een vrij eenvoudig instrument (50-150 $\times$) is de Britex Naturalist Microscope, met ingebouwde verlichting. Prijs $\pm$ f 60,—.

Men zij echter gewaarschuwd tegen overname van een niet door een deskundige gecontroleerde mikroskoop.

Een uitmuntend mikroskoop is het K-mikroskoop van de firma Bleeker, waarbij een zeer uitvoerige handleiding voor het gebruik wordt verstrekt. Wie zelf ook nog de lenzen slijpen wil, zij verwezen naar L. E. W. van Albada, *Optische Stelsels en het slijpen van Lenzen*, Bloemendaal 1944.

§ 2. *Bepaling van de vergroting en het oplossend vermogen, en het tekenen van een mikroskopisch objekt.*

Hiervoor is nodig een *objekt-mikrometer*, d.w.z. een maatlat, die verkleind gefotografeerd is, zodat b.v. de deelstrepen 0,01 mm van elkaar verwijderd zijn.

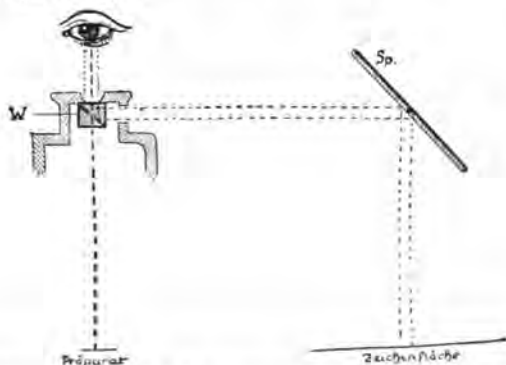


Fig. 10. Schema van het tekenapparaat van Abbe. De straal komend van het preparaat door het mikroskoop en de straal komend van het tekenpapier (Zeichenfläche), komen tegelijk in het oog. *sp* = spiegel.

n. Günther, Das Mikroskop, p. 83.

Boven op het mikroskoop zet men een tekenprisma of (wat beter is!) een *tekenapparaat*. Hierdoor kan men zowel het preparaat zien als het vel tekenpapier. Er zit n.l. een spiegel in met een kleine opening of een prisma (fig. 10w).

Nu kan men het voorwerp dus tekenen en de vergroting nameten. Het is aan te raden om eerst de omtrek van het gezichtsveld te tekenen en dan steeds de kontroleren, dat deze omtrek samenvalt met de tekening ervan en niet verschoven is. Het beste is eerst met hard potlood (bijv. 7 H) gedeelten te tekenen en dan later alles netjes op te werken.

Bij een tekenprisma wordt het mikroskopische beeld in één rich-

ting uitgerekt, tenzij men het tekenblad of het mikroskoop (dit laatste is het eenvoudigstel) een kleine helling geeft.

Een vrij goede tekenmethode is nog de volgende: Men zet het mikroskoop in een kniebocht van 45° en doet de spiegel weg. Loodrecht op de richting van het mikroskoop zet men een tekenbord, met hierop een vel millimeterpapier. Nu laat men de condensor van Abbe een beetje zakken, dan krijgt men tegelijk het preparaat en het vel tekenpapier te zien. Als men het mikroskoop op een verhoging zet, heeft men wat speling met de vergroting. Tot ongeveer $180\times$ gelukt deze methode, beter is echter niet hoger te gaan dan tot $100\times$. Men moet zorgen dat het mikroskoopbeeld en de tekening $\pm$ evengoed verlicht zijn en daartoe bijv. rookglasjes inzetten.

Er zijn ook *oculairmikrometers*, die echter eerst geijkt moeten worden met behulp van een objektmikrometer: dus nagaan met hoeveel streepjes van de objektmikrometer een streep van de oculairmikrometer (bij een bepaalde vergroting!) overeenkomt. (Er bestaan ook telplaatjes, die in zeer kleine vierkantjes verdeeld zijn). Ga een objektmikrometer met behulp van een tekenprisma tekenen. Stel 1 mm wordt nu (in de tekening) 15,5 cm, dan is de vergroting (lineair) $155\times$. De afstand tussen 2 streepjes is op deze wijze ook na te gaan. Zulk een oculairmikrometer legt men op het diafragma van het oculair, na de ooglenzen te hebben afgeschroefd.

Men kan maatlatjes maken en hiermee later ieder detail meten (als men een tekenprisma of tekenapparaat heeft). Heeft men dit niet dan moet men, als men een objektmikrometer + tekenprisma geleend heeft, noteren van iedere combinatie: de vergroting en de middellijn van het gezichtsveld, aldus:

Mikroskoop van Leitz, Reichert, Zeiss enz.

<i>Oculair</i>		2	4	enz.
<i>Objektief</i>	A	 $\times$ <i>mid.</i>	 $\times$ <i>mid.</i>	
	D	 $\times$ <i>mid.</i>	 $\times$ <i>mid.</i>	
	enz.			

Men kan zich ook behelpen door een voorwerp te nemen, dat b.v. 1 mm groot is en hiervan nagaan hoe vaak het begrepen is op de middellijn.

Met de sterkere vergroting neemt de middellijn van het gezichtsveld af. Met behulp van die middellijn kan men de grootte van een voorwerp schatten: b.v. middellijn is 0,8 mm. Voorwerp geschat op $1/5$ midd. is dus $1/5 \times 0,8 \text{ mm} = 0,16 \text{ mm} = 160 \mu$. De bepaling van de numerische apertuur is niet zo eenvoudig, wel kan men enige eisen aangeven waaraan een mikroskoop moet voldoen, dus welk oplossend vermogen met een bepaalde vergroting gejaard moet gaan.

Voor het keuren van de objektieven is een prachtig hulpmiddel de zgn. *Testplatte* van Abbe, waarmee men de sferische en chromatische aberratie kan nagaan, en als dit gebeurd is, ook de dekglasdikte kan vaststellen. (De sferische aberratie betekent het kromtrekken van rechte lijnen; de chromatische, dat om de randen der objecten gekleurde randen komen). De bepaling van de numerische apertuur geschiedt het beste met de apertometerschijf van Volkmann. (Zie Metzner p. 308). Een uitstekende methode voor het bepalen van de numerische apertuur vindt men in de uitgave van Wild (Heerburg): *Ist das ein gutes Objektiv?* Zie echter ook blz. 19 en 34.

Voor het keuren van een mikroskoop zie men verder: *Vakblad voor Biologen*, VII Jaarg. p. 5; Meningus, *Wie prüft man ein Mikroskop* (Frankh'sche Verl. Stuttgart); H. Günther, *Mikrosk. für Jedermann* (ook aldaar), en uitvoeriger Behrens, *Hilfsbuch etc.*, van 1883.

Zie verder: Drew and Wright, *The Microscope*, London; Mayer, *Mikroskop. Ratgeber*, Stuttgart; P. Metzner, *Das Mikroskop*, 1928 Leipzig; S. H. Gage, *The Microscope*, 17th Ed. 1943, New York; J. H. Wredden, *The microscope. Its theory and applications*, Londen 1947; C. W. Olliver, *The intelligent use of the microscope*, Londen 1947; K. Michel, *Die Grundlagen der Theorie des Mikroskops*, 1950.

Een goed boek over de geschiedenis der mikroskopen is: O. M. Disney a.o., *Origin and Development of Microscopes*, 1928. Zie ook Ensie IV.

V. Patzelt, *Das Mikroskop und seine Nebenapparate im Dienst der Naturwissenschaften und Technik*. Wien 1950 (met 32 blz. over polarisatie door F. Raaz).

A. J. Vickers (Editor). *Modern Methods of Microscopy*, London 1956. *The Encyclopedia of Microscopy*. Ed. G. L. Clarke, London 1961 (groot duur handboek).

Een uitstekend boekje is: Dr. P. H. v. Cittert, *Het Mikroskoop* (Noorduyn's Wetensch. Reeks. 8. 1943). Hierin wordt de theorie der mikroskopen helder uiteengezet en tevens een overzicht gegeven van de geschiedenis van dit instrument.

M. Rooseboom: *Microscopium*, Leiden 1956 (geschiedenis). Verder zij verwezen naar: *Catalogus van vergrootglas tot oog der wetenschap* (Museum Leiden 1954); P. v. Star, *Descriptive Catalogue of the simple Microscopes* (Museum Leiden 1953).

Ed. Frison, *l'Evolution de la partie Optique du Cours de XIXme Siècle* (Museum Leiden 1954, met veel gegevens over Testobjekten).

Een methode om zelf een binoculair opzetstuk te maken vindt men in *Mikrokosmos* 31. 1937, p. 99 vlg. Men ziet hiermee alleen gemakkelijker, daar men niet één oog vermoeit (blz. 49).

Men moet echter wel een zeer goed knutselaar zijn! Zie ook blz. 54.

Een vrij eenvoudig keuringsmiddel voor 't *oplossend vermogen* is 't volgende (N.B. steeds met klein diafragma werken!):

- I. *Kalkplaatjes van zeekomkommers*. Ankertjes moeten bij $10-50\times$ vergroting zichtbaar zijn met duidelijke rand, de omtrekken der plaatjes met gaatjes zijn veel teerder. Er mogen geen blauwe randen zijn!
- II. *Middelsoort schubben van Hipparchia janira* (een vlindertje). Bij $100\times$ alleen lengtestrepen, bij $200\times$ ook dwarsstreepjes.
- III. *Speeksellichaampjes*. Slijm v. d. binnenkant van de wang, dekglas hierop. Plaat-epitheelcellen, en kleine ronde speeksellichaampjes. Hierin korreltjes in beweging van Brown (bij $300\times$).

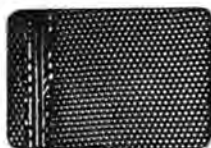


Fig. 11. *Pleurosigma angulatum*. Deel van de schaal „opgelost” door een immersiesysteem.

n. Kolkwitz,
Pflanzenphysiologie,
p. 105.

- IV. *Pleurosigma angulatum* een diatomee (uitvoeriger is J. D. Moller: *Typenplatte*) Eerst alleen omtrek en middellijn (pl.m. $150\times$), zowel bij centrale als scheve belichting. Bij 200 à $250\times$ komt er enige tekening. Bij pl.m. $300\times$ drie systemen van strepen, doch alleen die haaks op (scheef) invallend licht zijn duidelijk, 400 tot $450\times$ deze lijnen-systemen ook bij centraal invallend licht. Dan ziet men tevens kleine zeshoekjes, doch alleen bij centraal licht en op een klein scherp ingesteld plekje. Bij $900\times$

wordt dit netwerk over 't gehele oppervlak zichtbaar. De randen van de zeshoekjes moeten scherp zijn, de zeshoekjes zelf kleurloos.

Bij onderzoek met het elektronenmikroskoop bleken de „gaatjes” kleine kamertjes te zijn, van boven met een spleet afgesloten en onder met een zeer dunne kiezelmembraan met vele rijen zeer kleine gaatjes!

Metzner (1928) geeft de volgende tabel voor proefobjecten ter bepaling van het oplossend vermogen (n. Zimmermann).

Naam van de Diatomee.	Afstand strepen in μ	N. A. nodig ter „oplossing”		
		nauwe stralen kegel	idem wijd	zeer scheve belichting
<i>Navicula nobilis</i>	1,90	0,19	0,15	
<i>Navicula viridis</i>	1,33	0,30	0,20	
<i>Nitzschia brelinsonii</i>	1,00	0,45	0,30	
<i>Synedra pulchella</i>	0,83	0,56	0,35	
<i>Stauroneis phoenicentron</i>	0,70	0,70	0,45	0,40
<i>Pleurosigma balticum</i>	0,70	0,70	0,45	0,40
<i>Grammatophora marina</i>	0,62	0,80	0,55	0,45
<i>Pleurosigma attenuatum</i>	0,62	0,80	0,55	0,45
<i>Grammatophora serpentina</i>	0,55	0,90	0,65	0,50
<i>Pleurosigma angulatum</i> grof	0,52	0,95	0,70	0,55
idem fijn	0,48	1,05	0,80	0,60
<i>Grammatophora oceanica</i>	0,46	1,10	0,85	0,65
<i>Nitzschia paradoxa</i>	0,46	1,10	0,85	0,65
<i>Surirella gemma</i>	0,41		1,00	0,70
<i>Nitzschia sigmoidea</i>	0,38		1,10	0,80
<i>Nitzschia obtusa</i>	0,36		1,20	0,85
<i>Nitzschia linearis</i>	0,33		1,30	0,90
<i>Navicula rhomboides</i>	0,33		1,30	0,90
<i>Nitzschia tenuis</i>	0,31		1,40	0,95
<i>Nitzschia pallea</i>	0,29			1,—
<i>Navicula rhomb. var. saxonia</i>	0,28			1,05
<i>Grammatophora subtilissima</i>	0,26			1,10
<i>Amphipleura pellucida</i>	0,25			1,15
<i>Amphipleura pellucida</i> klein	0,24			1,25

Men kan de scheve belichting krijgen met behulp van een condensor van Abbe, door het irisdiafragma te verschuiven; heeft men een kleiner belichtingsapparaat, dan moet men met de spiegel werken.

Als men deze spiegel ten dele afdekt met zwart papier en slechts

één randgedeelte onbedekt laat, kan men ook scheve belichting krijgen, al verspeelt men dan ook vrij wat licht.

Het zien met één oog vermoeit vooral in het begin nogal (verg. blz. 50), ook verder heeft een binoculair mikroskoop veel voor, hoewel men geen diepte ziet in 't preparaat. Tegenwoordig leveren vele firma's opzetstukken op de gewone mikroskopen, waardoor deze tot binoculaire worden gemaakt, zelfs bij 't gebruik van sterke vergrotingen. Een geheel nieuw type van een Universal-Mikroskoop was in 1934 Reicherts „MEF”.

§ 3. *Wenken voor 't werken bij kunstlicht.*

1. Gebruik de holle spiegel (bij enkele mikroskopen de bolle).
2. De lichtbron moet vrij sterk zijn, dus of een sterke lamp, die wat veraf is, of een zwakker lampje dichterbij.

Er zijn in de handel vrij veel mikroskopeerlampen. Een nieuwe lamp is die van Zeiss: Mikroskopierglühlampe.

Een heel goede opstelling is een bureaulamp voor elektrisch licht. Het beste is een „verspiegelde lamp” die een gematteerde ballon heeft, waarbij er aan gedacht moet worden om bij zwakke objektieven de frontlens af te schroeven. Bij sterkere objektieven moet de condensor iets verhoogd of verlaagd worden (C. van Duijn). Afstand lamp tot spiegel van het mikroskoop ongeveer 30—60 cm. Ongeveer op de helft een glazen bol (b.v. een kookkolf) met een middellijn van pl.m. 10—15 cm, gevuld met water. Hierdoor kan men het licht concentreren op de spiegel en tegelijk de warmtestralen tegenhouden. Onder de condensor een blauw glas inleggen, of de bol niet met water vullen doch met koperoxydeammoniak (koper-sulfaat in water oplossen en sterke ammoniak toevoegen tot het neerslag, dat zich eerst vormt, opgelost is) of met een oplossing van pl.m. 0,5 % methyleenblauwoplossing. De gele stralen worden zo tegengehouden en daardoor wordt het kunstlicht meer gelijkend gemaakt op daglicht. Nogmaals wordt er aan herinnerd, dat bij het sterke licht de details niet zo duidelijk zijn, *gebruik dus bij deze opstelling het diafragma veel!* Voor en terzijde van de bol (of de kookkolf) een scherm om het overtollige licht weg te nemen! Opstelling aldus;

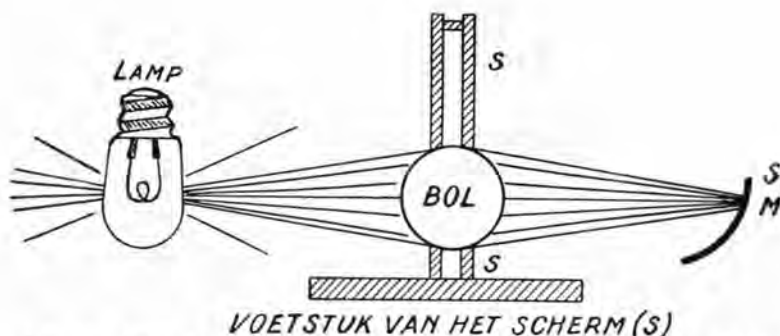


Fig. 12. Spiegel van het mikroskoop (*sm*) bij gebruik van kunstlicht.

(Uiteraard gebruikt men thans een gloeilamp met een kleine gespiraliseerde gloeidraad!)

Philips brengt een lamp in de handel $8\frac{1}{2}$ A, 12 V, die zeer geschikt voor dit doel is, maar men moet dan wel een „warmte filter” gebruiken.

De beste wijze om bij grotere mikroskopen de condensor te gebruiken is *de methode van Köhler*. Hierbij gebruikt men een platte spiegel.

De mikroskopeerlamp wordt gezet op circa 20 cm afstand en wel zo, dat de lens van deze lamp, de collectorlens, eventueel gesteund door een collectordiafragma (= Leuchtfeldblende), een scherp beeld ontwerpt van de lichtbron in de opening van het Irisdiafragma van de condensor. Men kan dit beeld b.v. eerst even opvangen op een stuk papier om dit te controleren. Ontbreekt aan de collectorlens van de lamp een diafragma, dan zet men voor die collectorlens b.v. een lucifer of een fijne potloodpunt en stelt hierop scherp in, d.w.z. men laat het beeld hiervan samenvallen met het mikroskopische beeld, door met de condensor te werken. Men neemt nu het oculair uit het mikroskoop en ziet of de achterlens van het objektief zo gelijkmatig mogelijk en geheel verlicht is. Het irisdiafragma van de condensor geheel open! Nu stelt men met een zwak objektief in, op een helder preparaat (met het oculair weer ter plaatse). Het beeld moet zeer scherp zijn. Men verandert nu niets aan de scherpstelling, maar beweegt het irisdiafragma, de spiegel en de gehele condensor tot het beeld van het irisdiafragma geheel scherp is (dit beeld heet „Leuchtfeldblendenbild van Köhler”); dit geschiedt met zoveel mogelijk gesloten irisdiafragma. Dit is een lichtpunt en moet zuiver gecentreerd zijn. Nu opent men het irisdiafragma, tot het gezichtsveld zo precies mogelijk geheel verlicht is; men moet nl. nooit teveel belichten en niet te weinig! Men kan zien of het lichtbeeld goed gecentreerd is, door het irisdiafragma enige malen te openen en te sluiten; de randen van het gezichtsveld moeten dan overal gelijktijdig bereikt worden.

Nadat dit is geschied regelt men de opening van het irisdiafragma zo, dat

een mooi beeld ontstaat. Hiervoor is geen regel te geven, maar men kan onderscheiden: 1. een gekleurd preparaat, dat een absorptiebeeld geeft en 2. een niet-gekleurd, dat dus alleen een verschil in lichtbreking laat zien, een diffractiebeeld (zie Zernike). Een diffractiebeeld is het best te zien bij een kleinere opening van het diafragma. In het algemeen kan men aldus handelen: neem het oculair eruit en zie naar de achterlens van het objektief: het beeld van het irisdiafragma moet circa $\frac{2}{3}$ van de opening vullen: is dit beeld groter dan verdrinken de details in een zee van licht, is het te klein dan ontstaan diffractiezoompjes om de fijnste details. Laat dus tijdens het werken de condensor en de spiegel met rust en regel de lichthoeveelheid lste met het irisdiafragma en nog beter (2de) door het inleggen van blauwe en matglasfilters. Dit laatste verdient verre de voorkeur. Bij het begin regelt men de opening van het irisdiafragma voor de gebruikte mikroskopeerlamp en late dan deze opening met rust! Deze methode is alleen met kunstlicht goed toe te passen en de modernste instrumenten zijn dan ook alleen hiervoor ingericht.

Een zeer goede belichtingslamp is: Baker's Intense Lamp for Köhler-Illumination. (Baker Ltd. London). Een andere zeer goede is de lamp van Bausch & Lomb.

Bij een Tami of een ander eenvoudig mikroskoop kan men een kistje maken met een opstaande rand waaromheen de ring (van de spiegel) past. In het kistje een zakbatterij met lampje.

In het laboratorium voor plantkunde heeft Prof. Dr. E. Reinders te Wageningen ingevoerd dat de studenten werkten bij het licht van zulke zwakstroomlampjes, die op de plaats van de spiegel werden gezet. Boven de lampjes is een iets blauwe matglasplaat om het lichtveld gelijkmatig te maken. Boven het lampje is een plat-bolle lens, zodat het licht evenwijdig uittreedt. Dit voldoet uitmuntend!

Dr. H. E. de Mol gaf in *Microwereld IV* (12 dec. 1949) aan hoe men de super-hogedruk-kwiklamp als verlichtingsbron kon gebruiken. Daar de golflengte van dit licht klein is, biedt dit zeker voordelen (verg. blz. 19). Vele (dure) mikroskopen zijn tegenwoordig voorzien van een ingebouwde verlichting, die men dan altijd (dus ook als er daglicht is) gebruikt, maar C. van Duijn Jr. waarschuwt tegen het gebruik van hogedruk-kwiklampen!

§ 4. *Donkerveldbelichting en Kontrastfilters*

Het principe is om het gezichtsveld donker te houden, terwijl de voorwerpen hier helder wit tegen afsteken.

Er zijn hiertoe vrij dure instrumenten in de handel.

Men kan het doen door het licht van terzijde te laten invallen (Spaltnmikroskop van Siedentopf), doch dit is vrij moeilijk met eenvoudige hulpmiddelen te bereiken.

Gemakkelijker is de opstelling met het belichtings- en het waarnemingssysteem in één as.

Het allereenvoudigst is het om een *centraal diafragma* te maken, dat onder de condensor gelegd wordt (in de ring voor 't blauwe



Fig. 13.

glas) b.v. van de vorm van fig. 13, en van zwart papier. Tussen immersieparaffine en preparaat een beetje *cederolie*¹⁾ (of beter immersie-paraffine!). Deze cederolie later goed afvegen, b.v. met een lapje, dat met *xyleen* bevochtigd is (snel afvegen en daarna goed afwrijven). Vooral met een zwakke vergroting geeft dit al goede beelden, in hoofdzaak bij kunstlicht. Beter is de *spiegelcondensor*, waarbij alleen de randstralen het voor-

werp kunnen treffen. Voor 't werken met een olie-immersie wordt dan een huls bijgevoegd, die men in dit stelsel moet zetten.

Voor ieder objektief is een apart „donkerveld plaatje” nodig. Er is voor donkerveld-belichting veel licht nodig, bijv. 100 W laag-volt-lamp. Zie Microwereld blz. 1733 voor een zelfvervaardigde inrichting. Zie ook blz. 1361 vlg.

Kontrastfilters

Zeer fraaie resultaten bereikt men met de zgn. *Mikro-polychromar-filter* van Zeiss (1934) en de *Vereinfachte Zeiss-Mikropolychromar* 1940 en de *Opticolor-condensor* van Reichert (alle berustend op de gedachte van Rheinberg 1896, Roy. Microsc. Soc.).

Men kan zich zeer goed zelf één maken, die alleen het nadeel heeft niet verstelbaar te zijn, zodat men voor verschillende diafragma-openingen (verschillende vergrotingen) ook verschillende filters

¹⁾ Deze is afkomstig van de Ceder van de Libanon (*Cedrus libani*), maar ook van *Juniperus virginiana* uit Florida.

moet maken. Zij berusten op de contrastkleuren, die men krijgt door de centrale lichtstralen van een andere kleur te laten zijn dan de randstralen.

Men gaat te werk alsof men een centraal-diafragma maakt (fig. 14) van een goede, nog heldere, film zoals men ze in de fotografie gebruikt (eventueel eerst „afzwakken“!). Men beziet eerst een prep. met zwakke vergroting en schermt het licht af met het diafragma, tot alle details goed duidelijk zijn en trekt nu op de film met inkt een cirkel die met deze opening van het diafragma overeenkomt (meet circa 3 mm). Het binnen deze cirkel gelegen

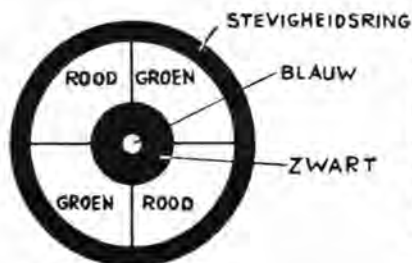


Fig. 14.

de kleuren scheidt, kan men ook zwarte papierringetjes maken, doch dit verdient geen aanbeveling. Ook kan men uit gedeelten van gebruikte kleurenfilms de contrastkleuren uitzoeken. Middenstuk rood, buiten groen is ook zeer goed. Een groen filter uit de kleurenfotografie voldoet uitstekend, men moet dan in 't midden een gaatje laten maken. In 't algemeen zijn deze filters alleen bij zwakkere vergrotingen bruikbaar. Men kan een klein tafeltje maken onder de mikroskooptafel, met een gat, en hierin de filters leggen als er geen ring onder het mikroskoop is.

Nog fraaier wordt zulk een kleurenfilter (fig. 14), als men het middenstuk blauw maakt en de 4 kwadranten afwisselend groen en rood.

Enkele fraaie voorbeelden staan o.a. in *Endeavour* (I.C.I.) nr. 71, juli 1959.

Relief-belichting. Men legt de donkerveld-ring (fig. 13) onder de condensor en zorgt eerst zo goed mogelijk donkerveldbelichting te krijgen. Hierop laat men het irisdiafragma van de condensor sterk zijwaarts gaan (dus als voor scheve belichting). Op een gegeven ogenblik ontstaat een verrassende reliefwerking. Men moet dan gaan zoeken naar de gunstigste plaats van de condensor en het irisdiafragma. Het is gewenst herhaaldelijk over te gaan van donkerveldbelichting naar reliëfbelichting en omgekeerd. Dit is dus feitelijk alleen mogelijk bij die condensoren, die een irisdiafragma hebben dat zijwaarts verplaatsbaar is. Zie o.a. Schild, *Prakt. Mikroskopie*, 1947.

Een nieuwere methode is ook de *Fluorescentie-mikroskopie*. Men brengt (meest plantaardige) weefsels tot fluorescentie door ze te bestralen met ultraviolet licht, of men doordrenkt ze eerst met een stof en brengt deze tot fluorescentie. (Fluorochromen van Haitinger). Eosine behoort hiertoe en als men over ultraviolet licht beschikt (hoogtezon) kan men dit eens proberen. Daar men over kwartscondensors beschikken moet, die voor ultraviolet licht doorlaatbaar zijn, zal dit voor liefhebbers meest te ver voeren en te bezwaarlijk zijn.

De firma Reichert bracht een Fluorescentie-inrichting „Lux Uv.” in de handel. Voor hen die deze methode willen proberen volgen hier enkele aanwijzingen.

Fluorochroom:	Objekt, dat er bij past. De opgegeven kleur is die van de secundaire fluorescentie:
Auramine 1	Bacteriën (geel).
Berberinesulfaat	Celkern (goudgeel), protoplasma (grijsgeel), bacteriën (geel).
{ Coriphosphine O.	Alleen: celkern (roodgeel), vet (blauwgroen), slijm (geelrood), kraakbeentussenstof (rood), elastische vezels (groen), witte bloedlichaampjes (geelrood). Samen met Fuchsine: celkern (geel), protoplasma (geel). Bij nabehandeling met Congorood: celkern (geel), protoplasma (rood).
{ Fuchsine	
{ Congorood	
{ Thioflavine S	Alleen: mergscheden (blauw), vet (donkerblauw), virus (blauwwit); indien eerst voorbehandeld met methylgroen: eiwit (blauw), steunweefsel (geel), parenchym (blauw).
{ Methylgroen	
Akridine-oranje	1 : 10.000 wordt als vitaalkleuring gebruikt en tevens als fluorescentie-middel.

Gepolariseerd licht trilt in één richting en als men dus de Nicolse prisma's (of andere polarisatoren) loodrecht op elkaar laat trillen (|||| en ≡) is het veld donker, tenzij er een objekt tussen is gebracht dat de trillingsrichting wijzigt. Het zou het raam van dit boekje verre overschrijden als dit gebied uitvoeriger werd besproken.

Men moet er voor zorgdragen, dat geen ultraviolet licht het oog treft!

F. Bräutigom und A. Grabner. *Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie*, Wien 1949.

S. Stugger, *Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie* Hannover 1949.

Ook uitmuntend is de plaatcondensor (Plattencondensor) en de *Universaalcondensor* (zie b.v. *Handb. d. Mikrosk. Techn.; Apparate und Arbeitsmethoden der Ultramikroskopie und Dunkelfeldbeleuchtung* O. Heimstadt. Uitg. Mikrokosmos, Frankh'sche Verl. Stuttgart, 1915).

Vergroting afstand tussen objektief en objekt

De afstand tussen objekt en objektief is altijd, behalve bij kleine vergrotingen zeer gering en dit geeft vaak moeilijkheden, als men het preparaat „hanteren” wil. Er zijn nu „Long Working Distance Objectives” in de handel gebracht door de firma Cooke, Troughton & Simms), die uitstekend voldoen, mits zij passen op de objektieven die men gebruikt (wat lang niet altijd het geval is). Zij zijn zelfs te gebruiken bij fasekontrast-mikroskopen (fig. 15). De afstand wordt dan $\pm 12,8$ mm.

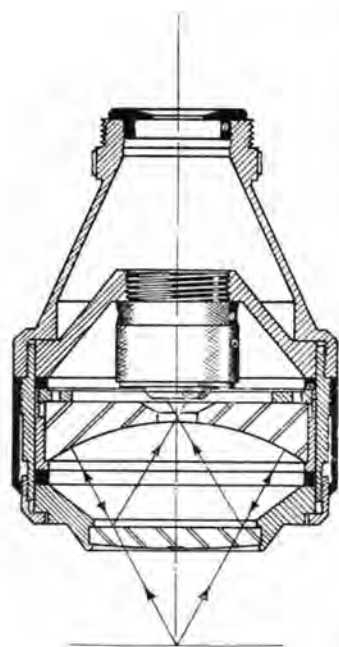


Fig. 15. „Long Working Distance Objectives” naar Cooke, $\pm$ natuurlijke grootte.

§ 5. Gesteente-onderzoek

Voor gesteente-onderzoek (gepolariseerd licht) is een gewoon mikroskoop niet geschikt, tenzij men 2 Nicolse prisma's koopt, of de Zeiss-Filter-Polarisatoren volgens Bernauer, die zeer goed vol-doen en op ieder mikroskoop kunnen worden aangebracht (hera-pathit, polaroïd, 1936). Het beste is dan tevens een gipsplaatje 1e orde rood aan te schaffen, waardoor de kleurcontrasten nog fraaier worden. Uitstekend zijn ook de filters van Polaroid van Polaroid Corporation Cambridge, Mass. U.S.A. 1940.

Literatuur:

Verg. Donau, *Die Arbeitsmethoden der Mikrochemie* (ten dele herkennen van de samenstellende stoffen naar de kristalvorm).

Leisz und Schneiderhörn, *Apparate u. Arbeitsmethoden z. mikrosk. Untersuchungen kristall. Körper*.

Sandkühler, *Einführung in die mikrosk. Gesteinsuntersuchung*.

Alle drie bij Frankh'sche Verl. Stuttgart (Eenvoudig).

A. Harker, *Petrology for students*.

I. E. W. Rhodes, *Micro-petrology for beginners*.

Dünnschliffe van gesteenten zijn in de handel.

Uitvoerig over gesteenten is: Weinschenk, *Grundzüge der Gesteinskunde*.

Theoretisch, heel beknopt en goed is: W. J. Schmidt, *Anleitung zu polarisationsmikroskopischen Untersuchungen für Biologen*. Bonn. 1924.

Zie ook *Mikrokosmos* XXV Heft 5; 1928/29. *Microwereld* 1949, door J. J. Lobenstein.

Polarisatiemikroskopie:

C. Burri: *Das Polarisationsmikroskop*. Birkhäuser Verlag, Basel 1950.

N. H. Harthshorne & A. Stuart: *Crystals and the polarising microscope*. 3rd. Ed. London, 1960.

A. F. Hallimond: *The polarising microscope*. Cooke Troughton & Simms, York.

§ 6. Wenken bij 't mikroskopiseren

Als hulpmiddelen gebruikt men bij het mikroskopiseren bijna geregeld:

1. Twee bakjes met water. N.B. één steeds schoon houden, 't andere mag tijdens het gebruik vuil worden.
2. Kleine filtreerpapiertjes (N.B. vooraf knippen!).
3. Enige naalden in houders.



Fig. 16. Mikrofotografisch apparaat, tevens mikroprojectie-inrichting en tekentoeistel, vervaardigd door de heer K. H. Meijer. Zie volg. blz.

4. Een goed zakmes.
5. Een goed scheermes (zie blz. 46).
6. Een vaste scheerriem om het mes aan te zetten.
7. Enige druppelbuisjes met gummidop (N.B. goed schoonhouden).
8. Enige horlogeglazen.
9. Een goede, niet te grove schaar.
10. Een karton, voor de helft beplakt met wit, voor de andere helft met zwart papier (N.B. hierop komen de preparaten goed uit!)
Beter is een onderlegglas dat voor de helft wit en voor de andere helft zwart is.
11. Een goed knijpend pincet.
12. Een 50-tal objektglazen, deze moeten *behoorlijk gereinigd* worden, b.v. met een (gips)krijtje en daarna zo nodig met alcohol of met water. Nog beter is het een glas schoon te maken met een watje gedrenkt in een druppel 20 % natronloog; daarna afspoelen met water, dan met alcohol en tenslotte drogen. Een druppel gedistilleerd water moet er op willen uitspreiden. Afdrogen met een doek, die niet pluist! Of in de lucht droog laten worden.
13. Een 50-tal dekglasjes. Deze moeten ook uitstekend schoon gehouden worden, b.v. door ze met een zacht linnen doekje tussen duim en wijsvinger precies even hard aan beide zijden te wrijven met wat ethanol, terwijl men ze met de andere hand bij de randen vasthoudt.

Zeer eenvoudige mikrofotografie

Fig. 16. In een kistje (b.v. een sigarenkistje) bevestigt men een elektrische lamp van ongeveer 200 kaars (melkglas). Onder en opzij van de lamp plaatst men spiegels, die het licht werpen naar de opening, waarboven het mikroskoop staat. Als „condensor” bevindt zich onder de opening een lens uit een zaklantaarn met de bolle zijde naar boven. Hierboven bevindt zich een blauw glaasje (geel filter).

Het deksel is verder aan de binnenzijde beslagen met zink om de warmte zoveel mogelijk af te leiden. Hiervoor dienen ook een paar „schoorstenen”, om de warmte tussen zink en deksel af te voeren. Het deksel steunt alleen op de hoeken, zodat een spleet is vrijgelaten. De randen van het deksel steken wat verder uit, om geen licht door te laten, maar wel de warme lucht te laten ontwijken.

Op het deksel is een ring aangebracht, waarom het mikroskoop past.

Als statief dient een vierkante lat, in een open klamp onwrikbaar vast te zetten. Het afdrukraam kan langs het statief bewogen worden.

In het drukraampje bevindt zich een matglas, waarop ingesteld wordt met een loupe. Daarna wordt (bij rood licht) het masglas verwisseld tegen glanzend, fijn korrelig afdrukpapier of een negatief.

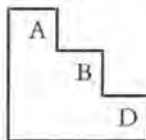
De belichtingstijd wisselt en moet door een proef gevonden worden.

Het kastje moet goed lichtdicht zijn, en het licht moet alleen door het mikroskoop kunnen gaan. Daarom wordt een hulsje van zwart papier om de voet van het mikroskoop gebracht. Het toestel wordt dofzwart gemaakt (zwartsel met dextrine in warm water oplossen).

Boven het afdrukraampje zijn in fig. 16 nog te zien een paar draaibare en verstelbare spiegels. De eerste spiegel dient om op een muur te projekteren, de tweede dient om dit projektiebeeld te kunnen werpen op de tafel, zodat men dan over een prachtig tekenapparaat beschikt.

Met andere eenvoudige mikroskopen kan men op een dergelijke wijze werken.

14. In het begin is aan te raden om na de eerste goede instelling ongeveer de afstand te meten en dan een papiertje te knippen in deze vorm (doch kleiner!):



Men weet dan later onmiddellijk hoe hoog de frontlens ongeveer boven het voorwerp moet zijn en spaart heel wat zoeken uit. Bij een Tami kan men b.v. met potlood op de tubus kleine streepjes zetten, die als kenmerk dienst doen.

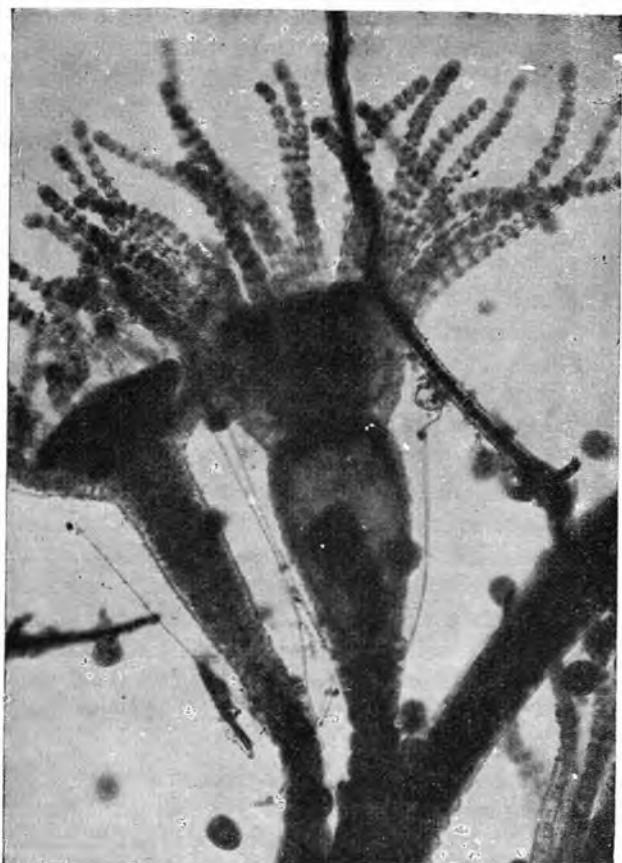


Fig. 17 is een mikrofoto van een hydroid-poliep, met geheel zelfvervaardigde hulpmiddelen door de heer K. H. Meijer opgenomen. Let op de netelbatterijen aan de tentakels.

15. Zachte wollen en fijne linnen lapjes.
16. Verschillende reagentiën, zie hiervoor bij de oefeningen en het register.
17. Om kleine diertjes in water te vangen gebruikt men soms een „haar-lusje” (Schuurman-Stekhoven). Men maakt dit door een lusje van een haar met wat paraffine te bevestigen

in een fijn uitgetrokken glazen buisje. Uit de oppervlakte-laag kan men dan een watervliesje tillen met dit „oogje”.

18. Men kan ook een *haarspatel* maken door een dik paardehaar in zulk een glazen buisje te bevestigen en het einde wat te platten tussen de sterk-verhitte punten van een pincet.
19. Een 2-zijdige vaste aanzetriad.
20. Een scalpelnaald (platte, 3-hoekige, snijdende naald).
21. Een omrandingsspatel (zie fig. 119).
- [22. Een handmikrotoom (zie fig. 123). Niet strikt nodig, alleen gemakkelijk.]

Men dient alle bevindingen dadelijk in een „werkboek” te noteren. Wil men blijvende prep. maken dan moeten er nog meer „utensibiën” zijn (verg. blz. 182 vlg.).

Het *snijden met een scheermes* vereist nogal wat oefening. Het scheermes moet steeds goed scherp gehouden worden en dit moet men trachten te bereiken door het mes aan te zetten op een *vaste riem*. (De losse riem maakt de snede rond en bederft het mes!). Op deze riemen zijn twee substanties aangebracht (die soms vernieuwd moeten worden). Eerst aanzetten op de rode kant (Parijs' rood, Fe_2O_3), dan goed afvegen, vervolgens op de zwarte zijde (zeer fijne kool) en dan weer goed afvegen! Steeds over de rug omkeren. Het mes na ieder gebruik afvegen en dicht wegleggen, en de riem in het foudraal opdat er geen scherpe deeltjes op komen.

Het *slijpen van het scheermes*. Het scheermes mag niet te hol geslepen zijn en moet wat zwaar zijn. Feitelijk dient men met het aanzetten van het mes dit steeds in een goede konditie te houden (en meestal gelukt dit ook wel als men het zorgvuldig gebruikt). Het slijpen dient te geschieden op een zeer goede oliesteen, waarop men enkele druppels slaolie aanbrengt. Men schuift dan het mes, met de scherpe zijde vooraan, onder een lichte druk over de oliesteen, waarbij men het mes een zodanige hoek met de richting van beweging laat maken, dat de gehele snede geslepen wordt. Men keert aan het einde van de oliesteen het mes over de rug om (dus als het stil staat). Men herhaalt dit zo vaak tot het mes geheel scherp is en de snede onder het mikroskoop geen hakkeltjes of zaagtandjes meer vertoont. Men houdt het mes onder het

slijpen vast met de rechterhand en drukt zacht met de vingers van de linkerhand op het uiteinde van het mes, om de druk gelijkmatig te maken. Bij de in U.S.A. meest gebruikte 8-stroke draait men het mes gedurende het laatste gedeelte, terwijl het nog beweegt, om en beweegt het dan dus nog een korte tijd met de rug naar voren over de steen. Men krijgt hierbij zeer gemakkelijk braampjes en daarom is deze methode voor beginners niet aan te raden.

Voor het goed slijpen van een mikrotoommes zijn er „hulpstukken” in de handel (niet nodig voor een dubbel hol mes).

Is het mes goed en 't voorwerp met een goed scherp zakmes vlak gemaakt, dan brengt men *op 't voorwerp en op 't mes of water of ethanol*, alnaarmate men een levend voorwerp snijdt of één dat in ethanol geconserveerd is.

Men houdt het mes goed vast, zoals is aangegeven in figuur 18 (enigszins als een strijkstok van een viool) en snijdt met zachte druk langzaam naar zich toe en iets naar rechts.

Een andere methode is om het heft een rechte hoek te laten maken met het mes. Men zet dan de duim naast de snede, de wijsvinger erboven, de middenvinger aan de bovenzijde achter het heft en de ringvinger op het uitstekende achterste gedeelte van het mes.



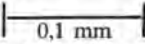
Fig. 18. Hoe men het scheermes in de hand moet houden.

n. Günther, Mikrosk. f. Jedermann, p. 86, fig. 75.

Vaak is het gemakkelijk om het mes te laten glijden over het tweede en derde lid van de wijsvinger, terwijl het object (event. het vliermerg met het object, zie fig. 42) door de duim in de bocht hiervan gedrukt wordt.

Men moet zich aanwennen om ieder preparaat, dat men bestudeert, uit te tekenen en te beschrijven.

Het *tekenen* geschiedt het snelst en het nauwkeurigst met behulp van een tekenprisma of een tekenapparaat, doch ook als men dit niet heeft, moet men trachten het geziene in een schets vast te leggen.

Men behoort zich hierbij tot gewoonte te maken om naast de figuur de vergroting op te geven, b.v. $500\times$. Nog beter is het om naast een figuur een maatje te tekenen, b.v. 

Deze schaal blijft ook bestaan, indien de figuur b.v. langs fotografische weg wordt verkleind. Daar het oplossend vermogen van de verschillende vergrotingen verschillend is, is het goed om op te geven b.v. Zeiss ocul. 4; obj. D; of ocul. $10\times$; obj. $40\times$. Er zijn bepaalde projectie-oculairen.

Bij het *beschrijven* moet men nauwkeurig uit elkaar houden wat men werkelijk gezien heeft en hoe men denkt het geziene te moeten opvatten. Ook moet men niet in zijn eigen beschrijving zetten wat men uit andere boeken over het onderwerp heeft gehaald, zonder duidelijk aan te geven wat op eigen waarneming en wat op literatuurstudie berust!

Mikrofotografie

Vele firma's brengen tegenwoordig opzet- of aanzetstukken met een fototoestel in de handel (meest kleinbeeldcamera's). Dr. C. Postma, die het prachtige boek *Mozaiek van de Plant* uitgaf, Amsterdam 1960 (maar tegelijk verschenen in Engeland en Amerika, Italië, Zweden, Duitsland!) met bijkans onnavolgbare mikrofoto's, schreef mij, dat hij alleen een „in lengte en hoogte variabele vertikaal-kamera gebruikt, die bovendien draaibaar is bevestigd voor de instelling.” Hij raadt kleinbeeld-kamera's af en hij geeft de voorkeur aan een platenkamera 6×9 of 9×12 (de juiste techniek is beschreven in het bovengenoemde boek). Een beetje handig knutselaar kan een behoorlijk bruikbaar mikrofotografisch apparaat gemakkelijk in elkaar zetten, maar een Köhlerlamp (zie blz. 36) is wel vereist. Het fototoestel behoeft geen lens te bezitten. Het oordeel van Dr. Postma, die zulke schitterende mikrofoto's

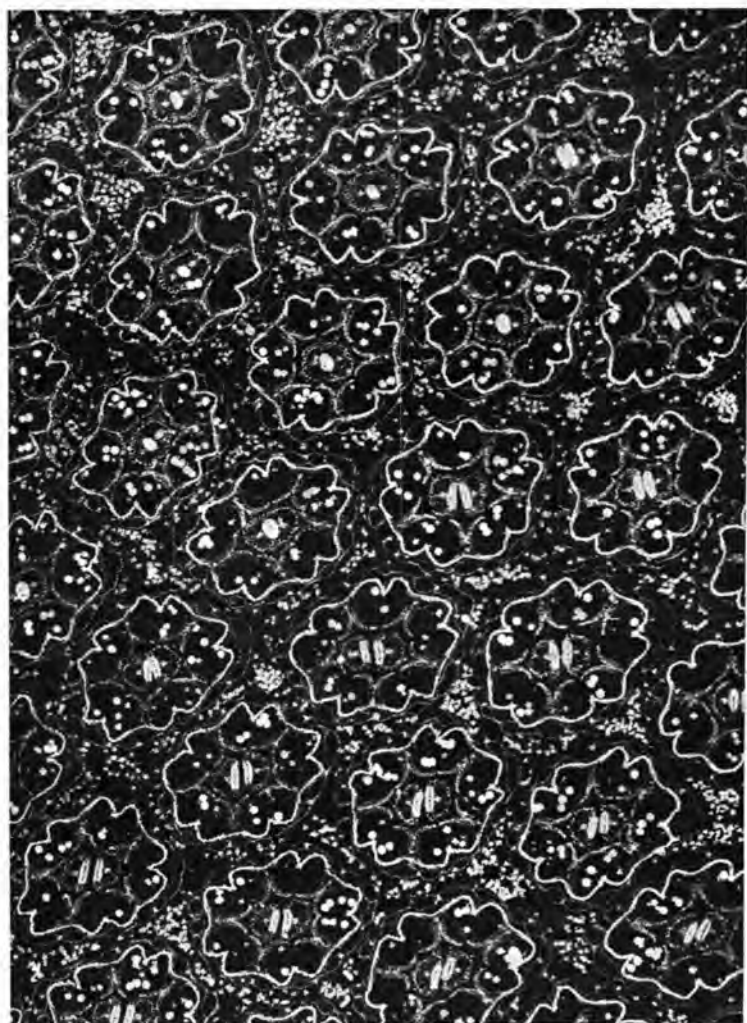


Fig. 19. Dwarssnede bloemknop Paardebloem, opgenomen met het makrofotografisch objectief van Leitz „Milar” 30 mm, zonder oculair. Gebruikt werd de kontrastrijk werkende plaat van Gevaert „Replica”, vergroot op extrahardwerkend bromidepapier. Primaire vergroting $16\times$ navergroot $3,2\times$, dus totale vergroting plm. $50\times$. Ter verhoging van het aesthetisch effect werd echter eerst van het negatief een diapositief gemaakt en eerst dit diapositief belande in de vergrotingskoker.

(Dr. C. Postma). Zie blz. 92.

maakte, die in de wereldpers zulk een goede naam verwierven, moet m.i. wel zeer zwaar tellen! Verg. fig. 19 en fig. 114, 115. Uit de bijgaande figuur blijkt hoe de heer Meijer met zeer bescheiden middelen en met behulp van een *Tami* zeer gunstige resultaten verkregen heeft. (Zie fig. 16 en 17). Zulke resultaten zijn dus met eenvoudige middelen te bereiken. Er zijn tegenwoordig „opzetkamera's", soms zelfs met automatische instelling.

Hier moge verder verwezen worden naar C. Kaiserling, *Die Mikrophot. Apparate und ihre Handhabung*, Franckh'sche Verl. Stuttgart.

E. Schild, *Praktische Mikroskopie*, Wien 1947. Zie ook de boeken van blz. 32.

K. H. Idema, C. van Duijn Jr. en E. Schadek: *Mikrofotografie in theorie en praktijk*, Bloemendaal 2e druk 1953.

C. v. Duijn Jr. *Inleiding tot de mikroskopische techniek*, Deventer, 1950.

H. Haug, *Leitfaden der mikroskopischen Technik*, Stuttgart, 1959.

Instellen

Bij het instellen altijd met een zwakke vergroting beginnen, eerst later sterker verrgoten! Vooral bij sterke vergrotingen de lens eerst bijna vlak op het dekglas brengen en dan langzaam hoger schuiven of schroeven! Als de frontlens vuil is, direkt schoonmaken met wollen lapje of met een van oud linnen.

Beginners hebben veel last van het accommoderen. *Bij het mikroskopiseren moet het oog ingesteld zijn op de verte (eerst uit raam kijken!) (Bij het tekenen niet!). Het beste is beide ogen open te houden. Eerst de holle hand voor het linkeroog en het rechteroog vlak boven het oculair van het mikroskoop. Dan langzamerhand proberen of men de linkerhand al weg kan laten. Dit went meest spoedig. Ook aldus wennen met het andere oog. Zo nu en dan moet men even ophouden en doen of men in een diepe put wil kijken, of men kijkt even naar buiten en beginne dan weer.*

Natuurlijk is het gemakkelijker met een binoculair mikroskoop te werken.

Als men met een tekenprisma of tekenapparaat werkt, moet men nauwkeurig opletten of bij zijdelingse bewegingen van het oog de potloodpunt en het deel van het voorwerp goed blijven samen-vallen!

Bij sterk licht ziet men de details lang niet zo scherp als bij zwakker licht. Werk daarom steeds met het diafragma en als dit ontbreekt, regel dan de lichthoeveelheid b.v. door de spiegel wat af te wenden of door een hand of een schermpje op enige afstand te plaatsen en probeer wat de beste belichting is. De condensor heeft in principe slechts één functie nl. de regeling van de N.A. van de verlichtingskegel en daarmee het oplossend vermogen en de diepte-scherpte en ook het contour-kontrast.

Kleurreacties komen bij helder licht vaak beter uit!

Dat doorzichtige voorwerpen in de praktijk meest wel gezien kunnen worden, in tegenstelling met wat de theorie leert, komt omdat men dan ongemerkt iets onscherp instelt. Er ontstaan dan kleine fase-verschillen, die maken dat men toch een en ander ziet.

Het voordeel van een *mikrochemische reactie* is niet alleen, dat men b.v. kleine hoeveelheden zetmeel kan aantonen, doch 't is vooral te doen om de *plaats te bepalen!* Dit resultaat dus ook vooral in de beschrijving laten uitkomen!

De volgende oefeningen zijn gerangschikt in verschillende hoofdstukjes. De eerste oefeningen van hoofdstuk III (dieren) en IV (kristallen en reacties) zijn even eenvoudig van techniek als de eerstgenoemden van hoofdstuk II (planten).

D. Birchon: *Optical microscope technique*. Georg Newness Ltd. London (1960-61).

Ruth McClung Jones: *McClung's Handbook of microscopical technique*. 3rd Ed. 1950, Reprinted 1961. Hafner Publ. Co. Ltd., London.

Schoonmaken van de lenzen

De frontlens van het objectief reinigen met een zacht zeemleer lapje, na gebruik van een immersiesysteem dit lapje drenken in *xyleen*¹⁾ (vlug afwassen en dan met een zacht wollen lapje afvegen).

De bovenlens van het oculair met een zacht wollen lapje reinigen. Mocht er vuil komen aan de andere lenzen, dan naziën waar dit zit: draait het mee met het oculair? Dan dit reinigen, ooglens

¹⁾ Men moet *xyleen* zeggen, daar het geen alcohol is, waarvoor de uitgang -ol is gereserveerd (C₈H₁₀), vroeger zei men xylol.

afschroeven. 't Beste met een zachtpenseel, zodat het stofdeeltje van de lens naar beneden in het penseel vallen kan. Evenzo bij het objektief.

Zorg zo goed mogelijk, dat geen stof of vuil in het mikroskoop kan binnendringen! Berg het instrument steeds goed op! Moet het op de werktafel blijven staan, zet er dan een stofkap over. Er zijn mooie glazen — of plastic — klokken hiervoor in de handel.

Bewaren van preparaten

Plat bewaren in kartonnen dozen met iets opgebogen deksels met b.v. 20 plaatsen voor een objektglas (de maat hiervan is 76×26 mm. Engels formaat). Men kan geslepen objektglazen krijgen en ook „weiss unbekantet“, deze zijn even goed en veel goedkoper! Preparaten in canadabalsem (zie later) bewaart men in dozen met houten randen waarin de prep. loodrecht staan, b.v. in één doos 100 prep. Ook zijn er mappen in de handel voor 20 liggende preparaten. De zgn. Sigmund prep. (verg. blz. 200) liggen in 2 kartonnetjes met holten voor elke 5 prep., die in een omranding worden geschoven en dan als een boek dichtgeklapt kunnen worden. Een handig knutselaar kan deze mapjes ook zelf maken.

Oef. 1. In de preparaten komen vaak *luchtbellen* voor, die meest, doch lang niet altijd, ronde omtrekken hebben. 't Midden is helder wit, de randen zijn zwart, door de totale reflectie van het van beneden komende licht (verg. de randstralen in fig. 3)! Bij hoger instellen wordt de zwarte rand dunner. Bij *oliedruppels* is er eerst geen zwarte rand, maar wel bij hogere instelling. Luchtbellen behoren niet in het preparaat voor te komen, men kan ze vermijden door als volgt te handelen: Men steunt één zijde van het dekglas tegen een naald op het objektglas en laat nu de andere zijde langzaam zakken, b.v. met behulp van een tweede naald.

Oef. 2. In de preparaten komen ook nogal eens vezels voor van de doeken waarmee men de glaasjes heeft schoongemaakt. *Begin met een preparaat te maken van deze vezels, teken en beschrijf de vezels en teken de luchtbellen!*

Herkennen van vezels, die wel eens in een prep. terecht komen.

katoen. dunwandig, hol, meest plat en bandvormig, vaak kurketrekkigvormig gewonden.

linnen. dikwandig, kleine holte, meest niet gewonden, doch vaak met dwarsstreepjes.

hennep. als vlas (linnen), minder hol, uiteinde vaak vertakt, vaak in groepjes van 3 of 4, houtstofreactie.

wol. veel dikker dan de andere, met gekronkelde, netvormig verbonden, dwarsstrepen door kleine schubjes. Geen cellulosereactie (zie blz. 54).

zijde. geen structuur, niet hol, steeds 2 draden van 8—16 μ (2 spinbuisjes!) in een hulsel dat niet verwijdt is.

kunstzijde. op oppervlakte meest lengtestrepen, onregelmatige doorsneden. Vaak hol. Soms enige spiraalvormig opgerolde vezels om elkaar. Geen celafscheidingen.

Nylon en Perlon kan men als volgt onderscheiden:

- a. 3,8 gram chloralhydraat opgelost in 2 cm³ water.
Nylon lost snel op, perlon zeer langzaam.
- b. 2,5 gram chloralhydraat, opgelost in 2 cm³ water.
Nylon lost niet op, maar zwelt sterk, perlon lost langzaam op.
- c. 10 gram fenol, 10 gram melkzuur 75 %, 20 gram glycerol, 22 gram water en bij dit mengsel zoveel Siriusblauw of katoenblauw dat de oplossing verzadigd is. De vezels hierin inbedden, dekglas erop; na 30—45 sec. spoelen met water (als in fig. 19).
Nylon verandert niet, perlon is sterk gezwollen en blauw gekleurd.

A. B. Wildman: *The microscopy of animal textile fibres*. London, 1955.
Mikrokosmos brengt preparaat-series in de handel (Franckh'sche Verl. Stuttgart):

- a. plantenvezels.
- b. dierlijke vezels (haren, wol; zie Mikrokosmos XXIV, p. 77).
- c. kunstzijde.
- d. papier (zie oef. 53).

Zeer uitvoerig:

J. v. Wiesner. *Die Rohstoffe des Pflanzenreichs*.

Tegenwoordig bedt men de te onderzoeken vezels voor de helft in, in R.O.X. Vergelijk hierover:

J. Monhy, *An improved method for revealing the scale structure of wool and hair*. Journ. Micr. Soc. 53, 9—12, 1933.

Reutmith, Kling, Schwerdtner. *Das R.O.X. Verfahren usw. Kunstseide und Zellwolle*. No. 7, 1937.

Oef. 3. Breng op het objektglas geconcentreerde zoutoplossingen en bestudeer de kristallen. Zij treden vaak op in de preparaten (zie hoofdstuk IV en blz. 41: polarisatieverschijnselen).

Literatuur:

Kraester, *Mikroskopie im Alltag* 3 Aufl. 1961.

Stehli, *Mikroskopie für Jedermann*, 69—71, Tausend 1961.

C. van Duijn Jr., *Een wereld door het mikroskoop onthuld*, Wageningen 1949.

G. Deflandre, *Microscopie pratique* (avec 154 planches, 2000 fig.) 2 Ed. 1947 Paris.

D. Birchon, *Optical Microscope Technique*, London 1961.

C. L. Daddington, *Practical Microscopy*, London 1960.

PLANTKUNDIGE PREPARATEN

§ 1. *Eenvoudige preparaten*

Vaak is het nodig teneinde verschillende onderdelen goed te zien en na te gaan uit welke bestanddelen een celinhoud of een celwand bestaat, om chemische reagentiën toe te voegen. Voor universele kleuring zie blz. 96 en 204.

De meest gebruikelijke voor botanisch onderzoek zijn (verg. oef. 49, 53, 55):

1. *joodkalium*, d.w.z. $\frac{1}{2}$ % jodium opgelost in $1\frac{1}{3}$ % joodkalium in water. Kleurt *zetmeel blauw*.

1a. Soms is nog beter *joodfenol* (enkele jodiumkristallen oplossen in weinig, niet te sterke fenol-oplossing).

2. *joodjoodkalium*, dit wat laten inwerken en dan laten afdruipeu of afvloeien met een klein filtreerpapiertje. Vervolgens *zwavelzuur 66 %*. Dit is de *cellulosekleuring (blauw)*.

2a. Inplaats van joodjoodkalium en zwavelzuur 66 %, gebruikt men voor *cellulose-kleuring* ook wel *chloorzinkjodium*. Dit wordt het beste bereid door 20 dln chloorzink, 6,5 dln joodkalium en 1,3 dln jodium op te lossen in 10,5 dln water. De oplossing in het donker bewaren!

3. *floroglucine* (1 deel in 125 volumina ethanol 96 %). Dit laten inwerken en afvloeien. Vervolgens *zoutzuur* (sterk, gezuiverd). Dit is de *houtstofreactie (rood)*.

Bij kleurreacties het diafragma open!

N.B. deze reagentia het best in druppelflesjes van pl.m. 20 cc. Verder voor botanische onderzoeken nodig:

4. *ethanol* (ethyl-alcohol) 96 %, dit drijft de lucht uit. Het beste in een flesje met kurk, waarin onderaan een glasstaafje.

5. *glycerol*, op dezelfde wijze te bewaren (100 ccm is wel voldoende).

Een preparaat in water droogt gauw op, glycerol verdampt eigenlijk niet.

Een goede methode om een bestaand preparaat onder het dekglas over te brengen in een andere vloeistof (meest is 't beter een nieuw prep. te maken!) is als volgt (fig. 19). Men brengt aan de ene zijde de drup van de nieuwe vloeistof, aan de andere een vloeipapiertje en herhaalt dit enige malen.



Fig. 19. Zie tekst.

6. Methode om *kieselzuur* aan te tonen is: prep. eerst in druppel sterk zwavelzuur en daarna in 20 % chroomzuur (of dikke doorsneden in grotere hoeveelheden van die vloeistoffen).

Een goede reactie op kiesel is nog: maak een dun prep., breng hierbij een druppel zwavelzuur (langzaam toevloeien!), herhaal dit nog eens. Was het prep. met water uit, breng het prep. op een dekglas, leg dit op platinablik en verhit tot het prep. goed wit is. Voeg water en wat zoutzuur toe, op het objektglas. Heel mooie kiezelskeletten.

Nog eenvoudiger is om het objekt te onderzoeken in een vloeistof, waarvan de brekingsindex vrij veel afwijkt van die van kieselzuur, b.v. monobroomnaftaline, fenol, benzeen, chloralhydraat. Verdere reacties bij de oefeningen.

Oef. 4. a. Aardappelzetmeel. Een weinig brengen op het objektglas in water. Hierop het dekglas.

Tekenen, Beschrijven.

b. Maïzena, idem. Vergelijk de grootte en de vorm der zetmeelkorrels.

c. Verschillende soorten zetmeel b.v. *Tarwe*, bekijken, tekenen en beschrijven.

Mooi *zetmeel* is dat van tapioca; haltervormig zijn de korrels bij vele *Euphorbia*-(wolfsmelk)soorten.

In water zijn de lagen duidelijk, anders een beetje loog toevoegen (op de duur opzwellend!). *Haver* heeft veel kleinere korrels, die ook nog samengesteld zijn.

De concentrische lagen danken hun ontstaan òf aan een iets verschillende chemische samenstelling òf aan hun verschillend watergehalte.

d. Kook wat zetmeel (op een objektglas). Men ziet dan de stijfselvorming.

e. Aardig is deze oefening (a-c) te herhalen met zetmeelkorrels uit ontkiemde zaden, b.v. gerst. Laten kiemen tot kiemwortel goed ontwikkeld is, dan deze afbreken. Inhoud van de korrel wrijven in water. Drup hiervan onder het mikroskoop.

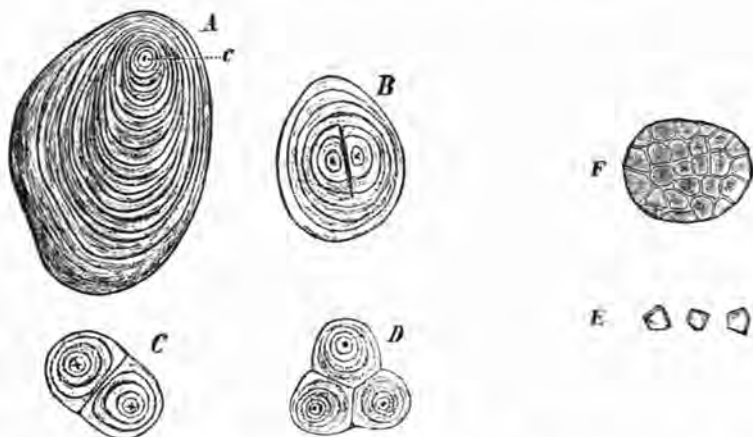


Fig. 20. A—D Enkelvoudige en samengestelde zetmeelkorrels van een aardappel. c. kernvlekje. $\times 540$.

E—F zetmeelkorrels van de haver, samengestelde en losse korrels. $\times 540$.
n. Strasburger, *Das botanische Praktikum*.

Oef. 5. a. Bij Compositen treft men vaak *inuline* aan, inplaats van zetmeel (daarom voor suikerzieken geschikt).

Maak een doorsnede door de knol van een dahlia of van een

aardpeer (*Helianthus tuberosus*). Leg de doorsnede in absolute ethanol, dan ontstaat een neerslag. Voegt men water toe en verwarmt men dit, dan gaat de inuline weer in oplossing.

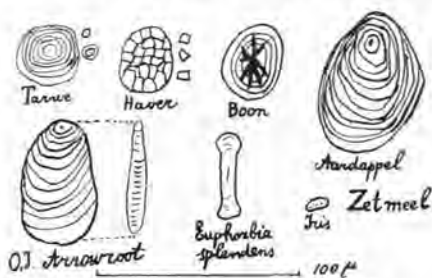


Fig. 21. Enige andere zetmeelkorrels.

- b. Leg delen van zulk een knol minstens een week in ethanol 50 %. Inuline kristalliseert dan uit als half- tot heel-bolvormige kristallen (sferokristallen).
- c. Toon inuline aan door op een snede van oef. a een drup 15—20 % naphtholopl. te brengen, en daarna 2—3 druppelen gec. zwavelz. Ze worden dan violet.

N.B. niet er mee verwarren moet men de sferokristallen calciumfosfaat, die in salpeterzuur oplossen.

Oef. 6. *Sporangia van varens* (verg. oef. 163).

De sporendoosjes van de varens bevinden zich op de achterzijde van de varenbladeren. Krab met een naald een weinig van het bruine stof van de bladeren en onderzoek dit (fig. 22).

Ga na, waaruit de celwand bestaat (let vooral op de ring van dikke cellen die 't openspringen bewerken van het sporangium) door de sporangia te onderzoeken in:

- a. joodjoodkalium en zwavelzuur 66 %;
- b. floroglucine en zoutzuur.



Fig. 22. Dwarsdoorsnede door een varenblad. Men ziet het indusium (ind.), waaronder zich een groot aantal sporangia bevinden. Aan de steeltjes hiervan enkele klieren. De ring (R) is duidelijk. Bij sommige sporangia zijn de sporen bezig eruit te vallen.

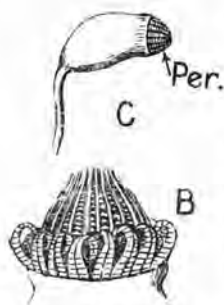


Fig. 23. B en C. Moskapsel (sporogonium) met mondbeslag (peristoom). Bij B dit laatste alleen, sterker vergroot.

Oef. 7. Het *mondbeslag* van de zgn. mosvruchtjes (sporogonia). Deze staan bij de bladmossen op steeltjes. Aan de top (soms nog bedekt door het hulkje (de calyptra) opent het sporogonium met een mondbeslag, het peristoom. Dit is bij verschillende mossoorten zeer verschillend. Door de openingen tussen de tanden van het mondbeslag worden de sporen als uit een peperstrooier uitgeschud. (Fig. 23, B, C). New Biology 22.

Oef. 8. Neem een vruchtbare stengel van een *paardestaart* (Equisetum). De sporenbladeren hebben de vorm van kleine tafeltjes, waaronder de sporenzakjes hangen.

De sporen hebben lange elateren (fig. 24 E).

die bij vochtigheid om de sporen heen slaan en bij droogte zich uitspreiden.

Maak een prep. van deze sporen, leg er geen dekglas op en adem zachtjes over de sporen! (zie ook oef. 36).

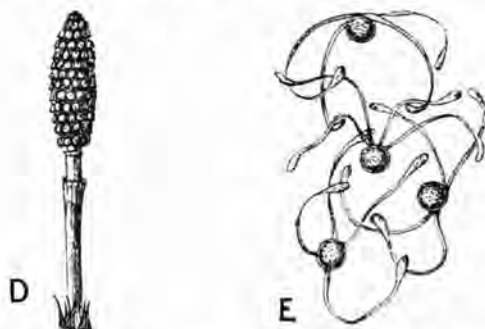


Fig. 24. D. Sporenzakken van een paardestaart. E. Sporen in droge toestand, elateren uitgespreid. n. Strasburger.

Oef. 9. *Schubben van de duindoorn* (Hippophaes) of van de olijfwilg (Eleagnus). Prachtige parapluievormige schubben aan de onderzijde der bladeren. Afschrappen met een naald. Onderzoek

de celwandstof: prep. in joodjoodkalium en zwavelzuur 66 % en één in floroglucine en zoutzuur.

Oef. 10a. b. Brandharen van de brandnetel, haren van de dovenetel. Neem met een scheermes een klein stukje opperhuid van de stengel of het blad van een brandnetel. Onderzoek het brandhaar in glycerol, een ander prep. in water. Men ziet soms heel mooi de protoplasmastroming. Let er op of de top niet afgebroken is, maak anders een nieuw preparaat! Teken beide haarsoorten bij dezelfde vergroting! De topwand is wat verkiezeld bij het brandhaar (zie blz. 56).

Oef. 11. Onderzoek de prachtig vertakte haren van de toorts en van violieren, op de wijze aangegeven bij Oef. 9. Idem de verkiezelde sterharen op de loof- en bloembladeren van *Deutzia scabra* (zie blz. 56, Oef. 6).

N.B. maak het preparaat door de stengel (of het blad) over de wijsvinger van de linkerhand te krullen en snijd met een scheermes voorzichtig van de bovenopperhuid een klein stukje weg.

Oef. 12. Onderzoek de klimharen van het Kleefkruid.

Een aardig overzicht van verschillende plantenharen vindt men in *Microwereld* 1949 en 1950 door G. F. J. A. Walther.

Oef. 13. Neem een blad van de Zonnedaauw (*Drosera*). Snijd één der tentakels boven van het blad af. Onderzoek in glycerol. Het preparaat is soms te dik om doorheen te zien, voeg dan een weinig kaliloog (5 gr. kalium-hydroxyd in 100 gr. water) toe (of

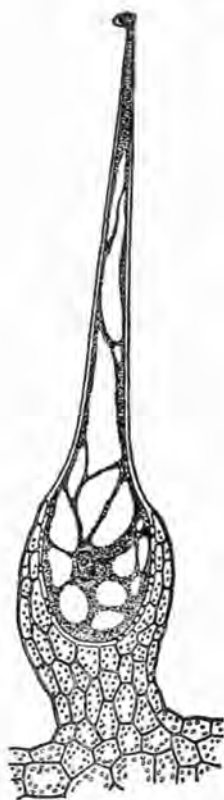


Fig. 25. Brandhaar van de brandnetel. n. Günther, *Mikrosk. Joderm.*, fig. 108, p. 115

Eau de Javelle, zie oef. 86). Men ziet in de cellen van dit prep. ook heel mooi de zgn. moleculairbeweging van Brown (verg. blz. 33).

Oef. 14. Bloemblad van het viooltje. De opperhuidcellen zijn uitgegroeid tot prachtige papillen. Onderzoek tevens de haren bij de ingang van de kroon en die in 't midden van het onderste kroonblad, bij de ingang van de bloembuis. Tracht de functie hiervan te vinden.

Oef. 15. Onderzoek het vruchtpluis der composieten. Pas de cellulose-reaktie toe en de houtstofreaktie (voor de bloemen zie fig. 19).

Oef. 16. Blad van het veenmos (*Sphagnum*). Het blad is slechts één cellaag dik. Het bestaat afwisselend uit kleinere levende cellen met bladgroen, en grotere dode cellen met versterkingsbanden en kleine openingen. Door deze inrichting werken deze watercellen als capillaire buisjes (hoogveenvorming!).

Onderzoek als bij oef. 9. Teken en beschrijf!

(Zie uitvoerig Dr. W. Beyerinck, *Sphagnum* en *Sphagnetum*. 1934. Met determineertabel!).

Oef. 17. Vliermerg. Met een scheermes (naar zich toe snijden, droog of onder ethanol!) dwarse doorsneden maken (om de lucht uit te drijven als men 't preparaat drooggesneden heeft, eerst wat ethanol op de doorsnede!). De doorsneden in een horlogeglas met ethanol op een stuk glas met donkere en lichte ondergrond. Alleen de dunne doorsneden gebruiken, de dikke vernietigen.

a. glycerol;

b. joodjoodkalium en zwavelzuur 66 % (cellulose).

c. floroglucine en zoutzuur (houtstof).

N.B. deze cellen noemt men *parenchym*.

N.B. let op de stippels. Dit zijn dunne delen van de celwand. (Zie fig. 37). Teken, beschrijven!

Oef. 18. Aardappel. Met een scheermes snijdt men een dun prep. uit het binnendeel (en als de tijd het toelaat ook uit de kurklaag) in:

- a. glycerol;
 - b. joodjoodkalium (zetmeel, de cellulose niet blauw);
 - c. joodjoodkalium en zwavelzuur 66 % (de cellulose ook blauw).
- Tekenen, beschrijven!

Ter herinnering (!):

Na het gebruik het scheermes goed afvegen! Daarna steeds weer aanzetten op een *vaste* riem (op een losse riem wordt de snede rond) en wel eerst op de rode kant, dan afvegen, dan op de zwarte kant en weer afvegen. Plat op de riem houden en over de rug omdraaien! Steeds dicht wegleggen!

Oef. 19. Schil een erwt. Snijd dwars op de zaadlobben. Snijd onder glycerol (niet in water!) of droog, en breng dan de doorsnede, met een zacht penseeltje, over in de glycerol.

Let op de celkern, zetmeelkorrels (vrij groot) en zeer kleine aleuronkorrels.

Heel mooi is de kleuring met waterige methylgroen-oplossing met wat fuchsine (totdat de oplossing violet wordt): celkern en celwanden worden blauw, aleuronkorrel en protoplasma rood.

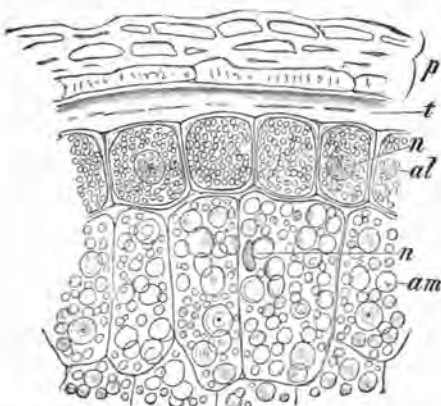


Fig. 26. Dwarse doorsnede door een tarwekorrel. *p* vruchtwand, *t* zaadhuid, *n* kern, *al* aleuronkorrels, *am* zetmeel, $\times 240$.

n. Strasburger.

Men kan bijv. de erwt vastzetten in een soort tangetje of pincet, voor men de doorsneden maakt.

Oef. 20. Neem uit de vrucht van de Ribes (aalbes, rode ribes) een beetje vruchtvlees. Druk dit in water, onder een dekglas, wat uit elkaar. Vrij veel sklerenchymvezels, in groepjes bijeen (blz. 71).

Oef. 21. Maak een dwarse doorsnede door

een tarwekorrel. Zaadhuid en vruchtwand zijn vergroeid. Vlak onder de zaadhuid een laag cellen met aleuronkorrels (eiwit), eerst daaronder de cellen met zetmeel. Snijden onder glycerol (fig. 26).

Oef. 22. Dwarse doorsnede door een geschildte wonderboon (*Ricinus*). Onderzoek in nagelolie of in olijfolie en in water. In de doorsnede in water ziet men zeer duidelijk de aleuron-korrels, waarbinnen zich bevindt

- a. een eiwitkristal,
- b. een globoïd (d.w.z. een hard lichaampje uit kalk, magnesium en fosforus bestaande). Verg. fig. 27 *A B*. Zie ook oef. 19!

In iedere cel ziet men tussen de aleuronkorrels veel olie. Deze lost op in absolute ethanol, in chloroform en in ether. Het vet kleurt zich rood met *Sudan III* ($\frac{1}{2}\%$ Sudan III in mengsel van gelijke delen ethanol 96 % en glycerol).

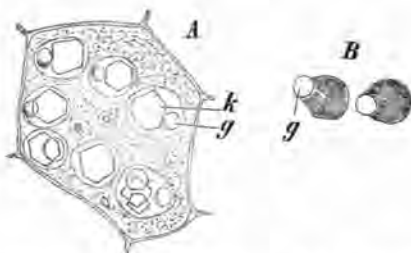


Fig. 27. *A* en *B*. Cel uit het kiemwit (endosperm) van een wonderboon (*Ricinus*) in water, *k* eiwitkristal, *g* globoïd. $\times 540$.

n. Strasburger.

Oef. 23. Dwarse doorsnede door een peen. Carotine-kristallen, bijna niet oplosbaar in ethanol, zeer goed in benzine, benzeen, petroleum-aether.

Oef. 24. *Plasmolyse* van de cellen in een uieschil (of van een groenwier of van de cellen van het vruchtvlees van een ligusterbes of van de epidermis van de bladeren van de roodgekleurde *Tradescantia*). Een cel bestaat uit een celwand, het wandstandig protoplasma, waarin de kern ligt en een vacuole.

Het protoplasma laat moeilijk de zouten en gemakkelijk water door (semipermeabele membraan = half doorlatend vlies). In de vacuole is een celvocht met zouten en suikers. Brengt men de cel in water, dan gaat veel water naar binnen, de vacuole zwelt en

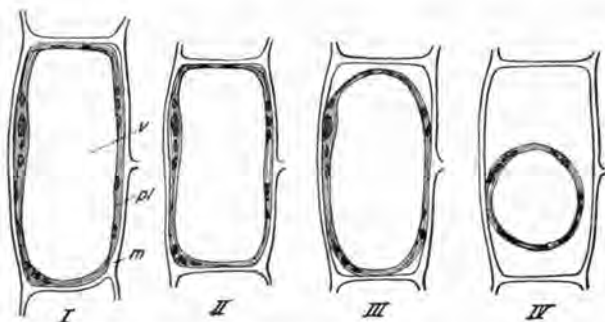


Fig. 28. Plasmolyse. (parenchymcel uit de stengel van *Cephalaria leucantha*). *v* vacuole, *pl* wandstandig protoplasma, *m* celwand. in water, II in 4 % kalisalp. oplossing, III in 6 % kalisalp. oplossing, IV in 10 % kalisalp. oplossing.

n. de Vries uit Strasburger.

drukt het protoplasma tegen de celwand, die dus gespannen wordt (*turgor*, verdwijnt bij het verwelken).

Brengt men de cel in een zoutoplossing, die sterker is dan de oplossing binnen, dan gaat het water uit de cel door het wandstandig protoplasma; het wordt afgestaan door de vacuole die dus kleiner wordt, het protoplasma laat los van de celwand = plasmolyse (fig. 28). Dit proces is reversibel zolang het protoplasma leeft.

Hierdoor kan men zien hoe sterk de oplossing, en *hoe groot de druk in de cel is*.

Verklaring voor hen, die schei- en natuurkunde kennen:

De osmotische druk van een oplossing is gelijk aan de gasdruk. Het moleculair gewicht in grammen van een stof (= één mol) in gasvorm, neemt bij 0° en 1 atmosfeer druk een volume in van ruim 22 liter.

Evenzo moet een mol van een zout opgelost worden in 22 l water om een osmotische druk van 1 atm. te krijgen.

Molec. gewicht kaliumnitraat = 101 (100 gerekend).

10 % Kal. nitraat betekent 10 gr. kal. nit. in 100 cc. water of 2200 gr. kal. nit. in 22.000 cc. (22 l) water. Er moet 100 gr. Kal. nit. opgelost zijn in 22 l voor een druk van 1 atm., hier is dus eigenlijk $22 \times$ te veel. Voor gassen geldt de wet van Boyle: $P \times V = C$ (dus druk $\times$ volume is constant) en van 't Hoff toonde ons dat deze ook voor verdunde oplossingen geldt. Hier is het volume dus slechts $1/22$, dus wordt de druk $22 \times$

groter en is dus 22 atm. Van een 5 % Kal. nit. oplossing dus 11 atm.
 Molec. gewicht van keukenzout is 58, dus heeft een 5,8 % keukenzout-oplossing (1/10 mol) eenzelfde osm. druk van 22 atm.
 Molec. gewicht rietsuiker is pl.m. 340, dus heeft een 34 % suikeropl. ook een osm. druk van 22 atm.

Men voegt aan de kaliumnitraatoplossing wat *eosine* toe. Sterft het protoplasma, dan kleurt het zich zeer snel rose, *levend protoplasma blijft ongekleurd!*

Bepaal bij welke kaliumnitraatoplossing de plasmolyse begint, b.v. bij 2,5 % nog niet, bij 3 % wel. Dan is in de cel een osm. druk van pl.m. $22 : 4 = 5,5$ atm. (Dit is al heel gewoon, vaak veel meer!).
 B.v. Blad aardappel 5,5; venkel (jonge stengel) 9—12 atm.

N.B. De boven opgegeven getallen zijn in de meeste gevallen niet juist. Men moet nl. ook rekening houden met de zgn. *isotonische coëfficiënten*. De theorie zou juist zijn, als de moleculen als zodanig in de oplossing voorkwamen bij 0° C. Nu is de temperatuur hoger, en bovendien zijn de moleculen van vele stoffen in ionen gesplitst.

Zie hierover de meer uitvoerige plantkundeboeken (na oef. 52).

Als voorbeeld:

Kaliumnitraat	= 3	gesteld, dan is de isotonische coëfficiënt van
Suiker, oxaalzuur	= 2	
Keukenzout	= 3	
Kaliumsulfaat	= 4	
Kaliumcitraat	= 5	

n. De Vries.

Voor rietsuiker geeft men ook hogere getallen op dan men volgens de theorie zou verwachten:

concentr. in mol.	osm. druk in atm.
0,1	2,6
0,2	5,29
0,3	8,13
0,4	11,11
0,6	17,78
0,9	30

n. Kratzman (1932).

Oef. 25. Breek één der rokken van een uiebol af, er blijft een dun vliesje over. Knip dit er af, brengt het in kaliumnitraat 10 %, 5 % enz., totdat men gevonden heeft bij welke concentratie de plasmolyse juist begint.

Oef. 26. Huidmondjes. Scheur van een blad van een *Tradescantia* met rode bladeren (*Tr. discolor*) scheef door. Er blijven kleine stukjes opperhuid aan de randen te zien. Ook kan men eerst enige kleinere insnijdingen maken en dan de opperhuid aftrekken. Nog beter is het, dunne opperhuidstukjes van de middelnerf af te snijden. Behandel deze als in oef. 25 en fig. 39, 40.

Oef. 27. (moeilijker!) Onderzoek vele verschillende soorten van plantencellen, zowel van drogere standplaats! (b.v. uit de duinen) als van vochtiger, op hun osmotische druk. Idem planten uit de schaduw en de zon. Onderzoek evenzo planten uit zoet- en zoutwater! Land- en waterbladeren van één plant!

Oef. 28. Protoplasmaströming. Zeer fraai in meeldraadharren van *Tradescantia virginica* (Blauwe eendagsbloem), in de cellen aan de basis van *Vallisneria*, in de cellen van de jongere bladeren van de *Waterpest* (fig. 30), in de lange cellen van het kranswier *Nitella*, in veel stuifmeelbuizen.

N.B. even wacht, tot 30—40 minuten, als men eerst niets ziet! De wondprikkels zetten vaak de beweging aan; prep. in water, soms met 3 % suiker. Meet de snelheid van de stroming, bijv. met een geijkte oculair-mikrometer, maar men moet wel in aanmerking nemen dat de snelheid van de korreltjes niet geheel overeenstemt met die van het protoplasma.

Oef. 29. Stuifmeelontkieming. Het best in een hangende druppel in een vochtige kamer. Neem een stuk karton (of geslepen glas) met een ronde opening. Houd het karton goed vochtig of bevestig het geslepen glas met vaseline op het objektglas. Zie ook Hoofdstuk VIII § 1 over een zelf te maken vochtige kamer (blz. 182). Breng de stuifmeelkorrels in wat vocht op het dekglas en leg het dekglas zo boven de opening, dat de drup in het midden vrij naar beneden hangt (fig. 29 d).



Fig. 29. Hangende drup in een vochtige kamer van Selenka. In het objektglas is een ringvormig gootje met water. Indien men de plaat *a* van karton neemt is dit overbodig.

n. Strasburger.

Voor dit vocht kieze men bij de grote witte lelies het stempelvocht! Dit gaat zeer gemakkelijk.

Meestal neemt men suikerwater (met 1,5 % gelatine op 100 gr. water). Dit eerst steriliseren en vlug werken, anders komt er schimmel! Het is aan te bevelen een stukje stempel toe te voegen, dan gaat de ontkieming beter (en de stuifmeelbuizen groeien er vaak naar toe).

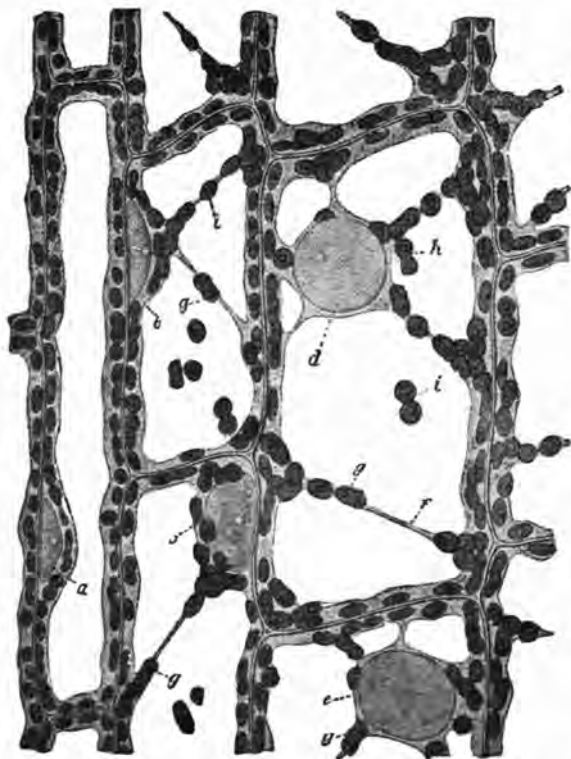


Fig. 30. Bovenzijde van het blad van de waterpest. $\pm 300 \times$. *a* kern in een lange cel (boven de middennerf); *b-c* kernen, *g-i* = chlorofyl korrels, *i* in deling; *f* protoplasma streng.

n. Kolkwitz.

voor	suiker %	voor	suiker %
uien	3	Reseda	1
tulp	1—3	Lilium martagon	20
Narcissen pl.m.	3	Plantago media	20
lelietjes d. dalen	5—20	Sambusus nigra	20
Iris germanica	30—40	Sedum acre	20
Gloxinia	3—10	Viola odorata	± 35—55
Papaver	1	Colchicum autum.	40—50
Lathyrus	15	Draba verna	35
Viooltjes	30	Lamium maculata	20
		Medicago sativa	35

Een aardig overzicht van de vormen van verschillende pollenkorrels (met tekeningen) vindt men in *Microwereld* 1949 door B. Brouwer.

Een nieuwe kleuring voor *exine* (buitenwand), *intine* (binnenwand) en celkernen volgens A. S. Heilman (1949) in *Microwereld* juni 1950.

Een mooi artikel over stuifmeelkorrels in honig (een centrifuge is vereist!) vindt men in *Microwereld* 1950 (K. Poel).

Een zeer goed stuk over de ontkieming van pollenkorrels staat in *Microwereld* 1957, p. 257 vlg. (Jhr. W. F. Alewijn).

Kleur de buitenwand (exine) met Sudan III. Kern en kleuren met methylgroen-azijnzuur, dit is azijnzuur 1—2 %, waarin zoveel methylgroen is opgelost, dat de oplossing donkergroen wordt.

Oef. 30. Onderzoek ook de stuifmeelkorrels van de dennen: ze hebben prachtige luchtblazen, zodat ze goed kunnen zweven (fig. 31). Verder de stuifmeelkorrels van andere planten, o.a. van

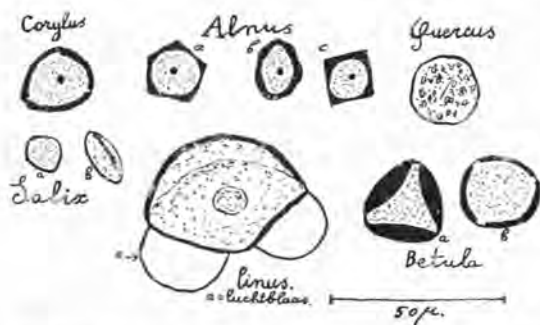


Fig. 31. Stuifmeelkorrels van Hazelaar, Els, Eik, Wilg, Pijn, Berk. Alle bij dezelfde vergroting.

pompoen, paardebloem; die van lang- en kortstelige *Primula's*. Zeer fraai is het stuifmeel van *Hibiscus*, *Oenothera*, *Fumaria officinalis*, *Arenaria serpyllifolia*, *Tragopogon pratense*, *Melandrium album* en *M. rubrum*.

Een vrij uitvoerig stuk staat in *Microwereld*, blz. 1688 vlg., een ander op blz. 1767 vlg.

Fraai zijn de stuifmeelkorrels van *Ericaceën* (heideachtigen), nl. tetraden (dus met 4 tegelijk); van *Acacia* (polyaden), *Empetrum* (kraaiheide) diaden, zie: Foegri and Iversen, *Textbook of Modern Pollenanalysis*, 1950.

Oef. 31. Pollenonderzoek. Een zeer interessante uitbreiding kan men deze oef. geven, door een *pollenonderzoek* te doen van de *oudere veenlagen*. Dit is alleen aan te raden aan hen, die reeds veel gemikroskopiseerd hebben! Deze studie heet thans *Palynologie*. Het onderzoek gaat als volgt (volgens Erdman, 1922). Men neemt 1 à 2 cm³ veen en kookt dit met 10 % kaliloog, roert flink en zeeft daarna door een nauw-mazige zeef. Laat het filtraat bezinken (nog beter is centrifugeren). Vermeng het bezinksel met wat glycerol. Tel de stuifmeelkorrels b.v. tot 100 of 200 en bereken de % van de verschillende soorten. Meest vindt men in de opvolgende lagen:

Prae-boreaal. (koud; 10.000—8000 v. Chr.): grove den; berk (o.a. *Betula nana*), wilg en een beetje els en hazelaar. Dit is nog *palaeolithisch*, wat de menselijke kultuur betreft. *Ancylustijd*. Het Doggersbankgebied verdrinkt.

Boreaal. (droger en wat warmer; 8000—5500 v. Chr.). Vooral hazelaar, met wat linde, eik, iep. *Mesolithische kultuur*. *Ancylustijd*.

Atlantisch. (vochtig en warm; 5500—3000 v. Chr.). Vooral eik, linde, iep. Toen was hier ook de watersnood, *neolithische kultuur*; *Littorinatijd*.

Subboreaal. (droger en wat koeler; 3000—500 v. Chr.). Vooral beuk en haagbeuk; zgn. grens-horizon van Weber in het veen. Eerst nog *neolithische kultuur* en *hunnebedden* tot ± 1500, daarna tot ± 500 v. Chr. het *bronzen tijdvak*. *Limnaea-tijd*.

Subatlantisch. (koeler en natter, van 500 vóór tot 1000 n. Chr.).
Ongeveer als tegenwoordig, doch veel meer wou-
den. *Mya-tijd*.

De namen der *kultuurperioden* en der meest voorkomende *Molluskenschelpen* zijn in het bovenstaande opgenomen, omdat zij in de verhandelingen vrij menigvuldig worden genoemd, zonder dat het verband steeds blijkt.

Oef. 32. Bezie de veervormige stempel van een gras. Let op de prachtige vertakking. Zoek naar stuifmeelkorrels! Onderzoek eveneens de stempelpapillen van lang- en kortstijlige *Primula*'s.

Veel oefeningen staan in: W. Schoenichen, *Mikroskopische Prakticum der Blütenbiologie*. Leipzig 1922.

Mooie overzichten staan in *Vakblad voor biologen*:

F. Florschütz, *Resultaten der Pollenanalyse*, 1940.

H. Tj. Waterbolk, *Archaeologie en Palynologie*, 1950.

N. Hacquaerd in *Natuurw. Tijdschrift* 43 (Gent 1960) met veel mikro-
foto's van de „subfossiele” pollenkorrels.

In Nederland verder: de publikaties van W. Zagwijn.

§ 2. *Bouw van stengel, wortel, blad, hout.*

A. Primaire stengel. Tweezaadlobbigen.

Het beste is om het materiaal te haden in ethanol 96 %, alvorens het te snijden!

In het midden van een stengel vindt men vaak merg. Dit bestaat veelal uit dunwandige cellen, die ongeveer even grote afmetingen in alle richtingen hebben. Dit weefsel noemt men *parenchym*. Om het merg liggen bij de tweezaadlobbigen en naaktzadigen de vaatbundels in een kring gerangschikt.

Iedere vaatbundel bestaat uit een *xyleemstreng* en één of meer *floëemstrengen*.

De eerste bestaan uit houtvaten (in de wand houtstof, rood door floroglucine-zoutzuur). Het zijn *ring*-, *spiraal*-, *net*- of *gestippelde vaten*. In zeer jonge gedeelten zijn er alleen ringvaten. De verhoude ringen liggen in de jeugd vlak op elkaar en schuiven later ver uit elkaar. Zo'n vat wordt dan buiten gebruik gesteld (vasaalprimanen, verg. fig. 36r). Later ontstaan de andere vaten in de genoemde volgorde. Door de xyleemvaten gaat het vervoer van water en

zouten van de wortels naar de bladeren. Het xyleem ligt meer naar binnen. Het *floëem* bestaat uit (niet verhoude) zeefvaten. Naast ieder *zeefvat* vindt men een *zuster*cel, die even lang is (geleidende cel).

Ligt het *floëem* alleen aan één zijde, dan is de vaatbundel collateraal, vindt men ook aan de binnenkant *floëem*, dan is de vaatbundel bicollateraal (b.v. pompoen, Cucurbita).

Om een vaatbundel ligt vaak een ring van *sklerenchym*, dit is een weefsel bestaande uit zeer dikwandige verhoude cellen (dus ook roodkleuring met floroglucine-zoutzuur). Zo'n vaatbundel met een gehele of gedeeltelijke *sklerenchymring* heet een *fibrovasaalstreng*. Buiten de vaatbundels is vaak een *parenchymweefsel*, daarbuiten vaak weer *sklerenchym*. Om deze *sklerenchymring* loopt vaak één rij afwijkende cellen, de *endodermis*. In de jonge stengel is dit meestal een *zetmeelschede* met grote zetmeelkorrels (joodjood-

kaliumzwavelzuur 66 %).

Het gedeelte van de stengel buiten de *zetmeelschede* heet *schors*. Vaak vindt men hierin: *parenchym*, bundels *sklerenchymvezels* en *collenchym*, dit is een weefsel bestaande uit cellen, waarvan de celwanden in de hoeken verdikt zijn (cellulose; lijkt op een plaat, waaruit munten geslagen zijn). De stevigheidsbundels liggen dus ver naar buiten (tegen buigweerstand, verg. de fietsbuisen), zie fig. 33.

Buiten de *schors* ligt een vaak iets afwijkende cel-laag, de *epidermis* (oppervlakte), dikwijls met haren etc. bezet.

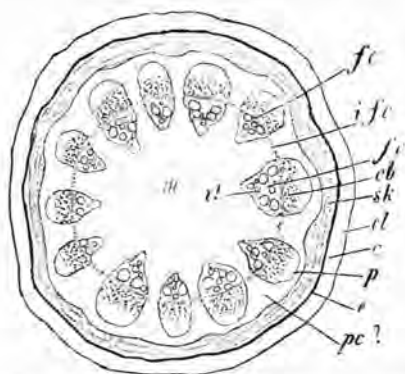


Fig. 32. Doorsnede van een tak van *Aristolochia* van 5 mm dikte. *m* = merg, *fv* = vaatbundel, *vl* = xyleem, *cb* = floëem, *fc* = fasciculair-, *ifc* = interfasciculair cambium. *pc* = pericykel, *ck* = sklerenchymring, *e* = zetmeelschede, *c* = groene schors, *cl* = collenchym.

n. Strasburger.

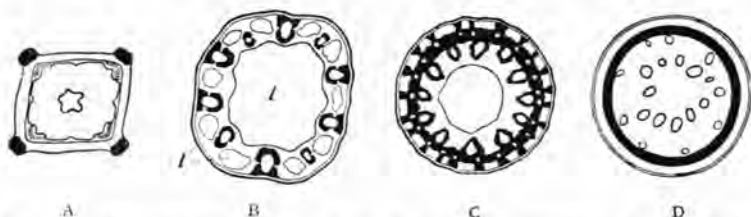


Fig. 33. Stengelskelet (zwart) van *A* een Lipbloemige, *B* een Bies, *C* het Pijpestrootje = *Molinea*, *D* de Graslelie = *Anthericum*.
l = luchtholten, n. Warming.

Uit Koningsberger, deel 1.

Tussen xyleem en floeem van de vaatbundels, vindt men bij stengels, die diktegroei vertonen, een kring van *jonge cellen*, het *cambium* (zie § 2E, blz. 48, hout fig. 32). De parenchymdelen tussen de vaatbundels noemt men *mergverbindingen*, ook hierin zet zich het cambium voort. Onder de epidermis vindt men in de schors vaak een *kurk-cambium* (fig. 47).

Oef. 33. Maak doorsneden door een stengel van één bepaalde tweezaadlobbige plant [b.v. van de moffepijp (*Aristolochia*), van de zonnebloem of van het fluitekruid].

Deze doorsneden moeten zijn *dwaars* (d.w.z. loodrecht op de lengterichting) *radiaal* (d.w.z. volgens de straal, in de lengterichting) en *tangentiaal* (d.w.z. loodrecht op de straal, in de lengterichting). Op de dwarse doorsnede ziet men de vaten als ronde openingen, op de lengte doorsneden als lange buizen (fig. 36 en 50). Voor mikroscoop zie blz. 197.

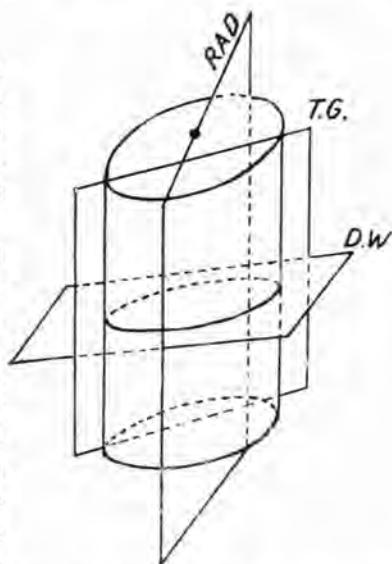


Fig. 34. Voor verklaring zie tekst.

Van elk van deze doorsneden minstens één goed preparaat in:

- a. glycerol.
- b. joodjoodkalium (zetmeel blauw).
- c. joodjoodkalium en zwavelzuur 66 % (cellulose blauw).
- d. floroglucine en zoutzuur (houtstof van xyleem en sklerenchym rood).
- e. Sudan III (vetlaag van de cuticula rood, ook het kurk).

Als de doorsnede wat dik is kan men deze ophelderen in *kaliloog* (20—50 % in water; 25 cc. in een flesje met kurk waarin glasstaafje) of door ze te koken op het objektglas in *chloralhydraat* (8 dln. in 5 dln. water, b.v. 25 cc. in een druppelflesje).

In sommige plantencellen zit *looïstof*. Dit is aan te tonen door enige druppels liquor ferri aceti te brengen in een horlogeglas met water. Van dit mengsel enige druppels op de doorsnede (zwart kleuring).

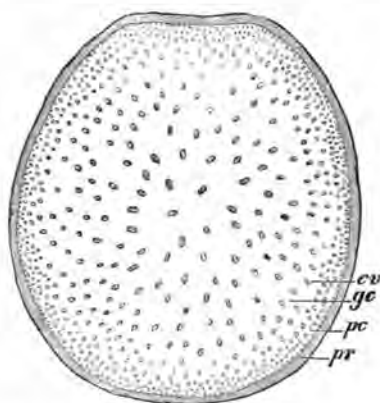


Fig. 35. Stengel van een Eenzaadlobbige plant, dwars doorgesneden.
gc = grondweefsel, pc en cv = vaatbundels, pr = schors (vaak een sklerenschytring).
n. Strasburger.

De beste reactie op *looïzuur* is die van Moll. Men zet de plantendelen eerst 8—14 dagen in geconc. koperacetaat oplossing en daarna in ferri-acetaat.

Men vindt zeer veel looïstof in de wortelstok van *Polygonum*

amphibium (21,75 %); in de bast van elzen en wilgen (tot 20 %), in theebladen.

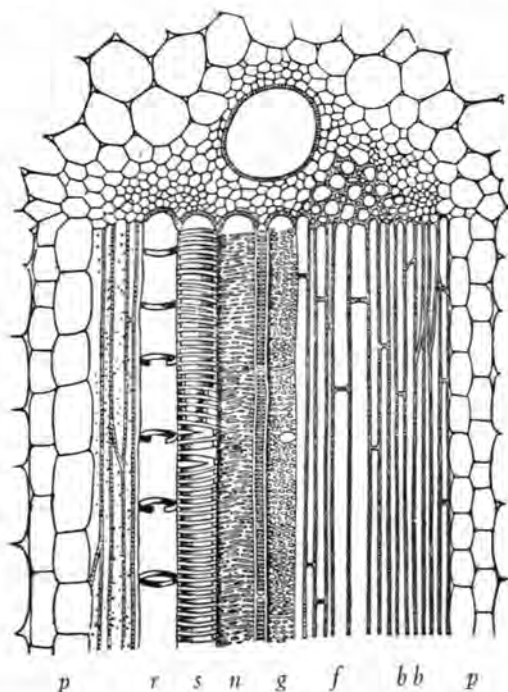


Fig. 36. Overlangse doorsnede van de vaatbundel van *Zea Mais*, aan de bovenzijde is ten behoeve der oriëntering de halve dwarse doorsnede er bij getekend; *r*, *s*, *n*, *g* vaten van het xyleem en *r* ring-, *s* spiraal-, *n* net- en *g* gestippeld vat; *f* floëem; *b*, *b* bastvezels van de vaatbundelschede; *p*, *p* parenchym.

n. Oudemans en de Vries.

In verschillende stengels en bladeren vindt men ook kristallen van calciumoxalaat. Soms tot mooie bundels verenigd (raphiden, fig. 43). Dit calciumoxalaat lost niet op in azijnzuur, wel in zoutzuur. Bij toevoeging van zwavelzuur ziet men gipsnaalden uitschieten (verg. oef. 47 en 103). De betekenis van deze naalden is waar-

schijnlijk een bescherming tegen vraat van dieren (speciaal slakken). Fig. 43.

Tracht uit al de verspreide gegevens van de verschillende doorsneden, met de verschillende reagentia behandeld, een samenhangende beschrijving samen te stellen. Teken de verschillende doorsneden bij zwakke vergroting (florogl.-zoutz. prep. zijn meestal 't duidelijkst) en teken de bijzondere cellen bij sterkere vergroting.

B. Primaire stengel van een Eenzaadlobbige plant.

De vaatbundels zijn niet in een kring gerangschikt, doch lopen vanuit de bladeren eerst even naar 't midden en buigen dan langzaam naar buiten en beneden. Men vindt in 't midden dus enkele dikkere en buiten vele dunnere vaatbundels. Een cambium ontbreekt, de vaatbundels zijn gesloten (fig. 36).

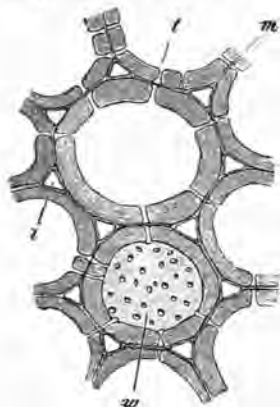


Fig. 37. Cellen met stipfels (w); bij *t* doorsneden.
i = intercellulair,
m = middenlamel.
n. Strasburger.

Oef. 34. Onderzoek op dezelfde wijze als aangegeven bij oef. 33 de stengel van een éénzaadlobbige plant, b.v. van mais (*Zea mais*). Voor kiezelskeletjes, zie blz. 56).

Oef. 35. Planten in een slijkbodem hebben meest zeer grote intercellulaire ruimten (ruimten tussen de cellen, verg. fig. 37*i*). Dit heet *aërenchym*.

Deze kanalen dienen voor de luchtwisseling en maken het mogelijk, dat een wortel ademhaalt. Ook wordt het drijfvermogen hierdoor zeer vergroot (drijftillen!).

Onderzoek de *bladsteel* van een *waterlelie*, of een *bies*. (Let op de stervormige cellen).

Oef. 36. Ga nadat ge enkele stengels zeer uitvoerig hebt onderzocht, beschreven en getekend, stengels van andere planten uit uw

omgeving na, b.v. van Wolfsmelk (*Euphorbia*), schorseneer (melksapvaten!).

Onderzoek of er verschil is in de bouw van gewone stengel en een bladsteel, en zie hoe een bloemsteel verandert in een vruchtsteel. Onderzoek b.v. de stengel van een paardebloem. Eerst in ethanol conserveren. Het melksap stolt dan en is in (dikkere) lengtesneden als bruine strengen te zien.

Zeer afwijkend zijn de stengel van een varen en die van een paardestaart, maar beide zijn zeer de moeite waard om te onderzoeken (bij paardestaart ook kiezel, blz. 56).

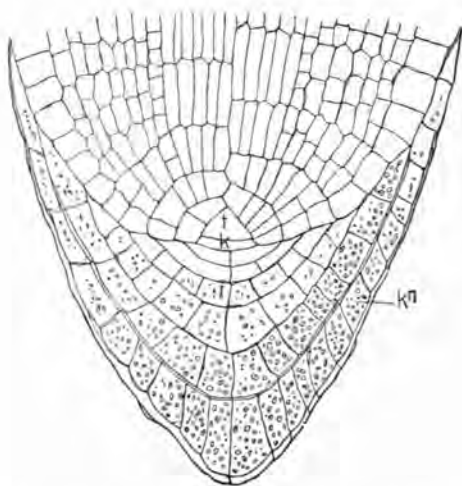


Fig. 38. Worteltop van een varen (*Pteris*). *t* = topcel, *kn* = wortelmutsje met zetmeelkorrels.

n. Sachs.

Aan de top van een stengel vindt men meestal een jong gedeelte, het *meristeem*; bij eenzaadlobbigen heeft men intercalare groei, d.w.z. onder aan een stengelgedeelte blijft een meristeem. Bij tweezaadlobbigen blijft vaak een deel van het meristeem over en maakt b.v., dat een blad of een knop wat langs de stengel op kan schuiven. Verg. b.v. de Zwarte nachtschade!

C. Wortels.

De bouw van een wortel is in hoofdzaak gelijk aan die van een stengel, maar de xylemvaten liggen in strengen naast de floeemvaten. Er kan echter wel een cambium ontstaan.

De zetmeelschede ontbreekt, maar dikwijls is er een *kernschede*, die bestaat uit cellen, waaromheen een kurkbandje loopt (Sudan III, oef. 22). Te zien op de dwarse en de radiale wanden. In het wortelmutsje vindt men veel zetmeel (joodjoodkalium) zo nodig ophelderen met chloralhydraat!).

Oef. 37. Onderzoek (als oef. 33) de wortel van een boon.

Oef. 38. Interessant is het de haarworteltjes na te gaan, bij planten gekweekt in een voedingsoplossing. In het water oplossen (per liter water 1 gr. van dit mengsel):

- 20 gr. kaliumnitraat (KNO_3)
- 7 gr. calciumsulfaat (CaSO_4)
- 5 gr. zuur kaliumphosfaat (K_2HPO_4)
- 3 gr. magnesiumsulfaat (MgSO_4)
- 0,1 gr. ferrichloride (FeCl_3)

Kleur de kernen met methylgroen-azijnzuur en let op de ligging. Verg. oef. 29 en 200.

Oef. 39. Onderzoek verschillende wortels, b.v. van hyacinten, uien, mais, een varen, tuinkers, een orchidee b.v. *Epipactis*. Indien de wortels uit de grond gehaald worden, eerst goed reinigen!

D. Blad.

Het blad bestaat uit een boven- en een onderepidermis, die vaak met haren voorzien zijn (verg. oef. 9—14).

Onder de bovenepidermis vindt men een laag *palissadenparenchym*, dit zijn langgestrekte cellen, die zeer dicht aaneensluiten.

Hieronder volgen cellen met zeer grote intercellulairen, die het *sponsparenchym* vormen. Vooral in de onderepidermis vindt men de huidmondjes. Deze liggen soms wat dieper weggezonden, soms geheel aan het oppervlak. Om ieder huidmondje liggen twee *sluitcellen*, die direkt opvallen door het chlorofylkorrels en hun zetmeel (joodjoodkalium). Zijn de vacuolen in de sluitcellen groot,

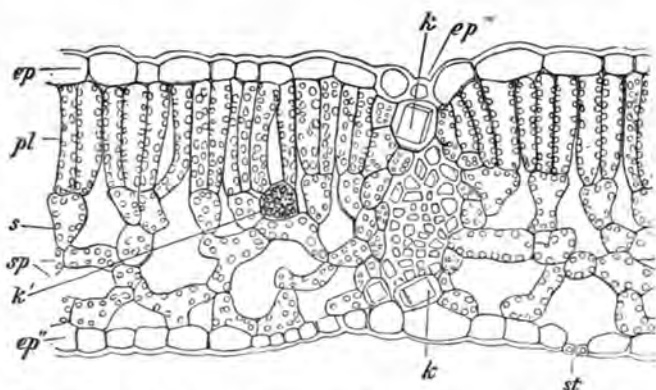


Fig. 39. Beukenblad dwars doorsneden. *ep* = epidermis, *pl* = palisadenparenchym, *sp* = sponsparenchym, *k* = kristalcel, *k'* = kristalster, *st* = huidmondje dwars doorsneden. Let op de 2 sluitcellen.
n. Strasburger.

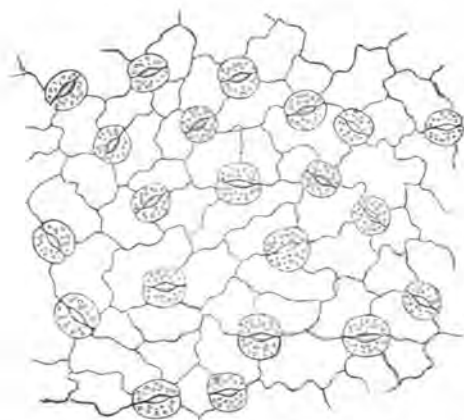


Fig. 40. Huidmondjes in een lapje onderepidermis. Van beneden gezien. De gestippelde cellen zijn de sluitcellen met chlorofyl- en zetmeelkorrels.
n. Strasburger.

dan staat het huidmondje open (de dikke binnenwand wordt dan rechtgetrokken, kleur deze wand met Sudan III!), wordt de vacuole klein, dan gaat 't huidmondje dicht (verg. twee vuisten

tegen elkaar, als de holten in de hand groter worden, wordt de tussenruimte groter!).

In de bladeren vertakken de nerven zich heel sterk, zij eindigen met enkele houtvaten (stukje bladmoes in chloralhydraat koken, kleuren met floroglucine-zoutzuur). *In de nerven ligt het xyleem-gedeelte altijd boven.* Nerven te onderzoeken als stengels (oef. 33). Als men een blad in water dompelt en afschudt, hebben de plekken, die nat blijven bijna nooit veel huidmondjes! Door absol. alc. (ethanol) bij het prep. te voegen, blijven de huidmondjes gefixeerd in de stand, die ze op dat ogenblik hadden.

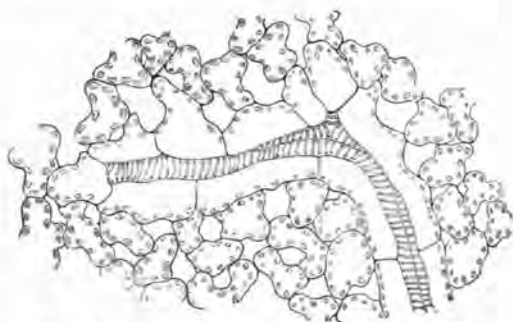


Fig. 41. Uiteinde van een nerf (spiraalvat).

n. Strasburger.

Het beste middel om dwarse doorsneden van bladeren te maken is om eerst een stuk vliermerg te splijten (gedeeltelijk of geheel en dan later weer met een elastiekje de delen goed klemmen (fig. 42) nog beter is het vliermerg in een houten buis te klemmen en bij



fig. 42.

een tangentielle doorsnede het stengelstuk vast te zetten, b.v. in een klemmetje. Een beetje van het vliermerg rondom wegsnijden, tot het preparaat in een stompe punt bevestigd is. Men snijdt nu op de aangegeven wijze (blz. 61) het vliermerg samen met het blad en spoelt alles samen in een horlogeglas met ethanol. Hieruit vist men de goede bladdoorsneden. Eerst b.v. een 10-tal maken, met het oog op de verschillende reacties.

Het kost vaak enige oefening, vooral om ook de huidmondjes goed door te snijden! Op het mes bij geconserveerd materiaal ethanol, bij verse bladeren water.

Lapjes epidermis krijgt men, door eerst 't blad wat scheef in te scheuren. Meest blijft dan wel een klein stukje epidermis over. Hiervan uit krijgt men gemakkelijk meer. Lukt dit niet, dan krult men 't blad om de wijsvinger van de linkerhand en snijdt met een scheermes kleine lapjes epidermis er af. Gemakkelijk gelukt het lapjes epidermis te krijgen bij tulp, prei etc.

In de bladeren vindt men vaak kristallen van calciumoxalaat, ook wel etherische olie (b.v. hertshooi, *Hypericum*).

Oef. 40. Maak *dwarse doorsneden* door het bladmoes van een beukenblad (eerst harden in ethanol 96 %!) en onderzoek:

- in glycerine.
- in joodjoodkalium.
- in joodjoodkalium + zwavelz. 66 %.
- in floroglucine + zoutzuur.
- in Sudan III.

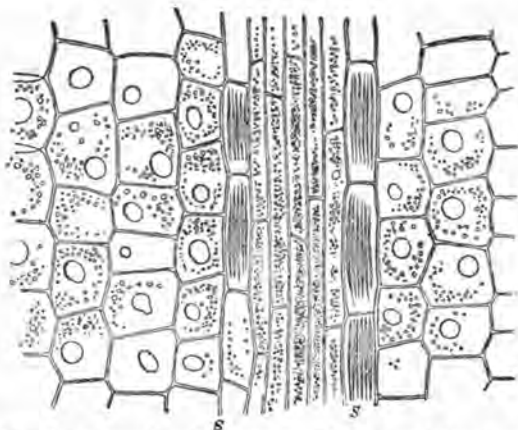


Fig. 43. Celreeksen met bundels van naaldvormige kristallen (ss) uit een schub van een bol van *Amaryllis* (*Hippeastrum*) *formosissima*. De raphiden bestaan uit oxaalzure kalk.

n. Oudemans en de Vries.

- f. g. *Onderzoek lapjes boven- en onderepidermis in joodjoodkalium.*
 h. *Maak lengte-doorsneden door de nerf, in floroglucinezoutzuur.*
 i. *Kook lapjes bladmoes in chloralhydraat.*

Maak uit al deze gegevens een samenhangende beschrijving. Teken de preparaten!

Onderzoek de plaats waar de bladstengel afbreekt bij 't afvallen der bladeren (verkurkte cellen, Sudan III).

Oef. 41. Onderzoek op deze wijze (oef. 40 a—d) een dennenaald (fig. 44).

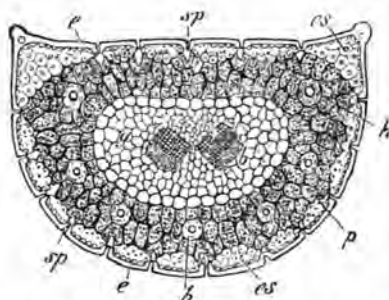


Fig. 44. Doorsnede van de naald van *Pinus pinaster*, 50 $\times$. *e* = epidermis, *es* sklerenchym, *sp* huidmondjes, *h* harsgang, *p* chlorofyllhoudend weefsel, *gb* parenchym met 2 fibrovasaalstrengen.

n. Sachs.

Oef. 42. Onderzoek evenzo het blad van de helm (als oef. 40, a—d). Maak ook een kiezelskelet.

Oef. 43. Onderzoek evenzo (als oef. 40, a—i) het blad van een waterlelie of van een plomp (aërenchym, blz. 75).

Oef. 44. Onderzoek op de aangegeven wijze bladeren van verschillende planten. Heel mooi is b.v. *Impatiens sultani*! a. Let op het verschil tussen *schaduw-* en *zonnebladeren* van dezelfde plant. b. Tel het *aantal huidmondjes* per mm² (of per gezichtsveld bij een bepaalde vergroting) van onder- en bovenepidermis. c. Doe ditzelfde bij planten van een *vochtige* en een *droge* standplaats. d. Onderzoek op de aangegeven wijze bladeren van *land-* en *watervormen* van één plant. e. Maak doorsneden van een blad

's ochtends; maak 's avonds doorsneden van een ander blad van dezelfde plant (zetmeelreactie!).

Een dwarsdoorsnede van een huidmondje is niet heel gemakkelijk! Volgens Thijsse gelukt het bij *Polypodium* (een varen) meestal goed. De huidmondjes zijn daar ietwat anders dan hier beschreven.

Oef. 45. Indien men tegelijk het zetmeelgehalte in de sluitcellen en de breedte van de spleet wil nagaan, dan gebruikt men het beste het reagens van Heath (1947): los 2,5 gram jodium op in 100 cc fenol, met zo weinig mogelijk water (b.v. door de fles met fenolum cristallinum een tijdje open te laten staan) en voeg dan een overmaat van joodkalium toe. Leg hierin lapjes epidermis op verschillende tijden en onder verschillende omstandigheden van één plant genomen (eerst nummeren!).

Oef. 46. Onderzoek het blad van het Blaasjeskruid. Kweek hiertoe een takje met blaasjes in water zonder *Daphnia*'s of *Cyclops*. Neem zulk een leeg blaasje. Laat hierna in het kultuurglas enige kleine waterdiertjes toe (fig. 45).

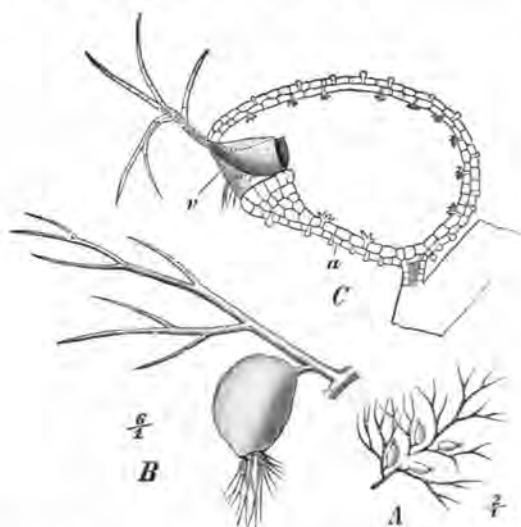


Fig. 45. Blaasjeskruid. Let op de stervormige cellen aan de binnenkant en de klep *v*. n. Strasburger

Oef. 47. Heel mooi zijn de raphiden in de bladeren van het driebladig kroos (*Lemna trisulca*). Zonder verder prepareren direkt onderzoeken. Voegt men zwavelzuur toe dan worden de kristallen van calciumoxalaat kleiner, terwijl tegelijk gipsnaalden uitschieten (ook in middennerf van kastanjebladeren) zie fig. 43.

Oef. 48. Maak doorsneden van witte bloembladeren (b.v. *Calla*, *Aronskelk*, *Sneeuwklokje*, *Magnolia*): de witte kleur komt door de totale reflexie op met lucht gevulde ruimten, enigszins gebouwd als het aerenchym (oef. 35).

Oef. 49. Maak in de herfst een doorsnede door de aanhechtingsplaats van bladstengel en tak (let op de kurklaag, kleuren met Sudan III). N.B. eerst de volgende oefeningen (50—52) doen om op de hoogte te komen van de bouw van het hout!

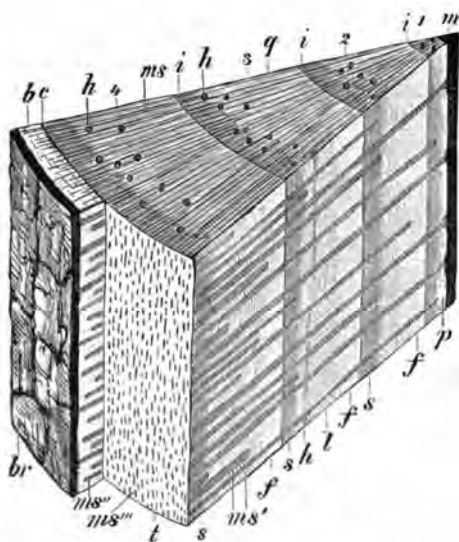


Fig. 46. Hout. *m* = merg, 1—4 jaarringen, *i* = jaargrens, *c* = cambium, *ms* en *ms'*—''' = mergstralen, *s* = dichter najaarshout, *f* = losser voorjaarshout.
n. Strasburger.

E. Hout.

Het *cambium* (blz. 32) maakt naar binnen *hout*, naar buiten *bast*. De lagen die buiten het cambium liggen moeten dus òf meerekken òf scheuren. Meest gebeurt het laatste (rekken bij de beuk, met gladde bast). Het scheuren geschiedt op plaatsen, die van te voren klaargemaakt zijn. Hier is n.l. *kurk* (verg. fig. 53). De bast (= secundair floeem) buiten deze kurklaag valt af. (Verg. den, spar, berk, plataan). Het hout (= sec. xyleem) wordt niet altijd door gevormd; in het voorjaar wijdmazig hout (meest lichter gekleurd), in de zomer eng-mazig hout (meest donkerder). Het nieuwe voorjaarshout grenst onmiddellijk aan het najaarshout van het vorige jaar, en deze grens steekt scherp af (jaarring = vlam van de timmerman). Grote vaten in het voorjaarshout b.v. bij de eik.

Loodrecht op de jaarringen lopen de *mergstralen*, die uit kleinere cellen bestaan, welke meest veel zetmeel bevatten (spiegel van de timmerman).

De doorsnede volgens *a* heet *dwars*, die volgens de straal recht

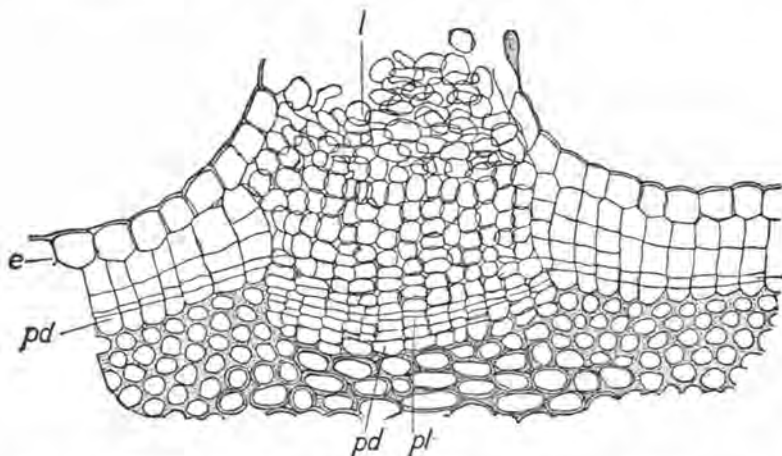


Fig. 47. Lenticel. *l* = los weefsel met grote intercellulairen, *e* = epidermis, *pl* = kurkcambium, *pd* = korkweefsel.

n. Strasburger.

naar beneden (*b*) heet *radiaal*; die loodrecht op de straal, dus volgens *c* heet *tangentiaal* (fig. 34).

In de *dwarse* doorsnede ziet men de *vaten* als kleine cirkeltjes, en de *mergstralen* als smalle banden, *loodrecht op de jaarringen*. In de *tangentiale* en de *radiale* doorsnede ziet men de *vaten* als buizen. In de *radiale* doorsnede *schant* men hier en daar de *mergstralen* (mergstralen en vaten vormen dan een kruis), in de *tangentiale* doorsnede *snijdt* men de *mergstralen loodrecht* door en ziet ze dus als enige cellen boven elkaar.

In de *radiale doorsnede* ziet men zeer *mooi* de *stippels* waarmee de vaten met elkaar in verbinding staan.

De luchtwisseling geschiedt door kleine openingen, *lenticellen*, die opgevuld zijn door een los weefsel. 's Winters ligt hieronder een kurklaag. (Kleuren met Sudan III). Fig. 47.

Zowel de bast (het secundaire floëem) als het hout (het secundaire



Fig. 48. Dwarse doorsnede door de bast van de linde. *v* = zeefvaten, *v†* = zeefplaat, *c* = geleidende cel, *p* = bastparenchym, *k* = kristalcel, *l* = bastvezel, *r* = mergstraal. Vergroting 270 $\times$.

n. Strasburger.

xyleem) dient voor drie doeleinden: voor geleiding, voor stevigheid, voor bewaren van voedsel.

Het tracheale systeem dient voor 't vervoer en bestaat uit vaten, tracheïden en vezeltracheïden. De elementen hebben een groot lumen, vaak hofstippels op de radiale wanden, en spiraalvormige verdikkingslijsten.

Bij de Naaktzadigen ontbreken de vaten, er zijn echter wel vezeltracheïden. Dit hout is dus regelmatig. De elementen van het tracheale systeem zijn niet levend. (In de bast heet het vervoersysteem het *cribrale* stelsel, dit is wel levend, n.l. de zeefvaten!) Het *stevigheids*systeem heet in 't hout het *libriform*systeem, in de bast het *bastvezels*systeem. In de primaire stengel komen nooit zeefvaten en bastvezels bij elkaar voor! De wanden zijn dik, vaak dwarswanden, als er stippels zijn, zijn ze spleetvormig. Geen spiraalvormige verdikkingen.

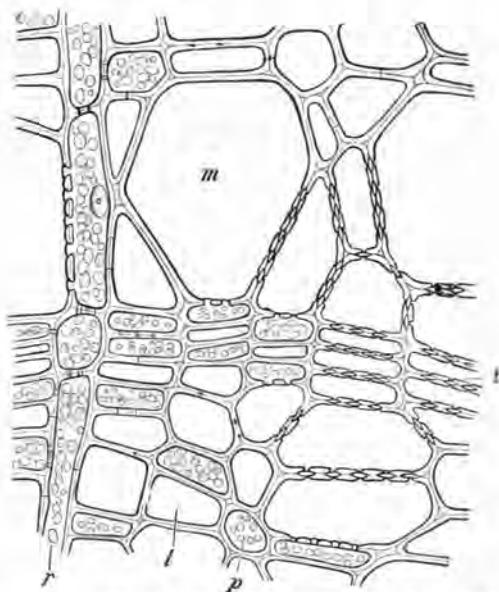


Fig. 49. Dwarse doorsnede door het hout van de linde. *m* = wijd gestippeld vat, *t* = tracheïden, *l* = houtvezel, *p* = houtparenchym, *v* = mergstraal.
n. Strasburger.

Het *voedingssysteem* heet het *parenchymatische* stelsel, zowel in de bast als in het hout.

De wanden zijn dun, de stippels zijn gewoon, het is levend, bevat meest zetmeel etc. Het mergstraalparenchym heeft ook intercellulair.

De verdere elementen, kliercellen, harsgangen, melksapvaten etc. zijn *toevallige elementen*.

Men kan deze elementen van het hout los van elkaar krijgen, door te *macereren* volgens Schulze: stukjes kaliumchloraat overgieten met salpeterzuur in een reageerbuisje, tot het kaliumchloraat bedekt is. Hierop *dikke* lengtesneden van het hout. Even verwarmen in de vlam tot gasbellen ontwijken. Nog enige minuten buiten de vlam laten inwerken, alles uitgieten in een schaalje met water. Preparaten opvissen, in vers water brengen en dan op een objectglas met twee naalden uitpluizen. N.B. deze reactie niet in dezelfde

kamer doen waarin men mikroskopiseert, de dampen tasten het metaal aan (b.v. even buiten of in een zuurkast).

In 't begin is de bouw van het hout moeilijk te ontwarren, doch na enige oefening valt het gewoonlijk wel mee.

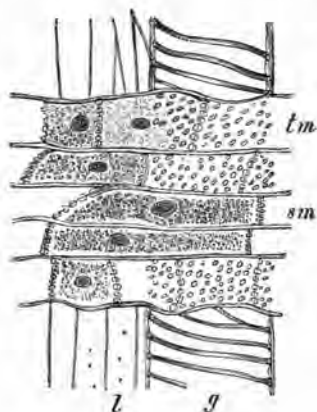


Fig. 50. Radiale doorsnede door 't hout van de linde. g = spiraalvat, l = houtvezel, tm en sm = mergstralen. 240 $\times$.
n. Strasburger,

De cellulose-reactie valt soms niet goed uit, dan neme men zwavelzuur 75 % in plaats van 66 %!

Het te onderzoeken hout moet eerst geweekt worden in een mengsel van gelijke delen ethanol 96 % en glycerol of nog beter even opkoken (voorzichtig) in zulk een mengsel.

Houtdoorsneden, zoals men die in U.S. Amerika behandelt:

ethanol 70 %, daarna: ethanol 50 %

Zie verder blz. 90

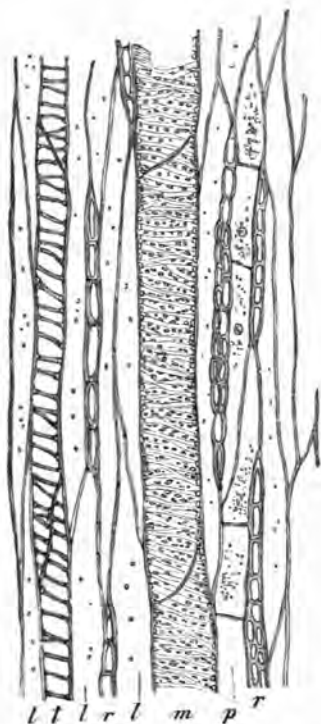


Fig. 51. Tangentiale doorsnede door 't hout van de linde. Betekenis der letters als in fig. 49 en 50. *t* = tracheïden met spiraalverdicking. 180 $\times$.

n. Strasburger.

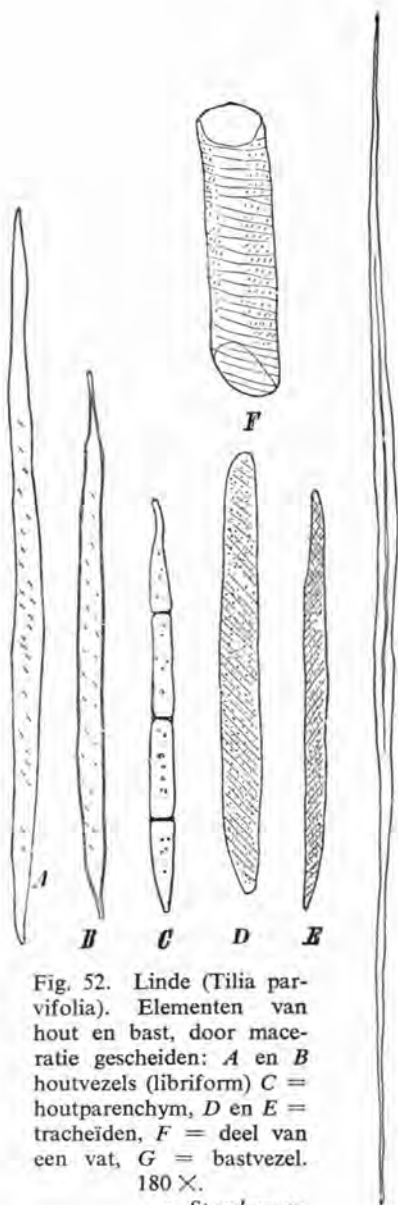


Fig. 52. Linde (*Tilia parvifolia*). Elementen van hout en bast, door maceratie gescheiden: *A* en *B* houtvezels (libriform) *C* = houtparenchym, *D* en *E* = tracheïden, *F* = deel van een vat, *G* = bastvezel. 180 $\times$.

n. Strasburger.

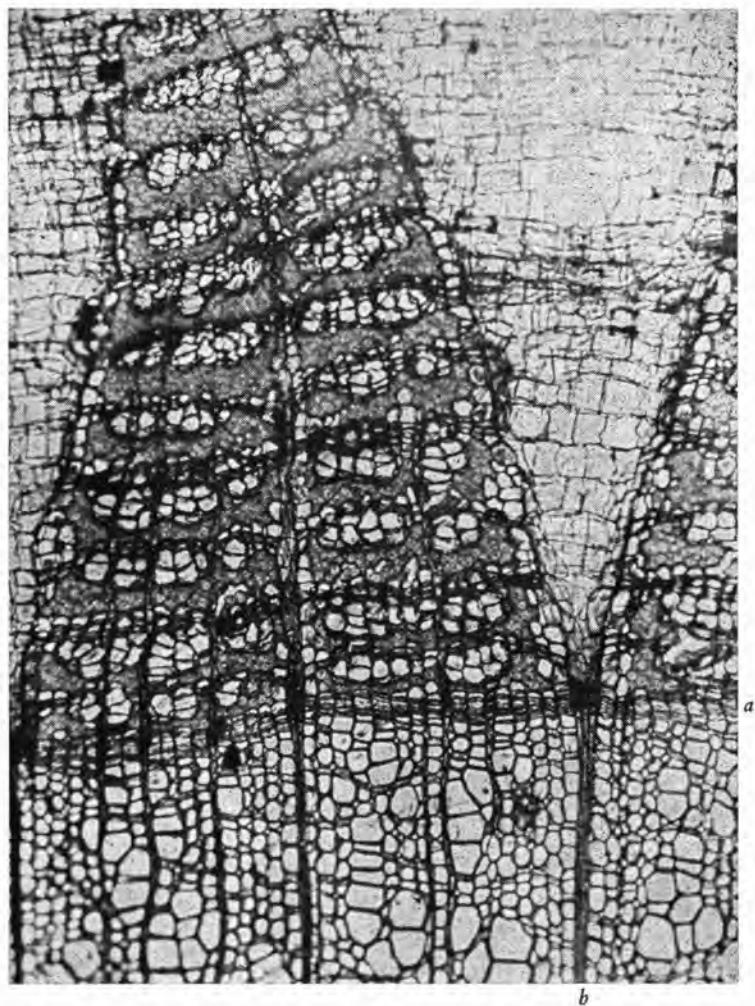


Fig. 53. Dwarse doorsnede van een zeer jong takje van de linde (*Tilia*), bij *a* het cambium, bij *b* de mergstralen. Het cambium scheidt naar buiten secundair floëem (bast) en naar binnen secundair xyleem (hout) af.

Mikrofoto B. Brouwer.

vervolg van blz. 87.

Ehrlich's haematoxyline $\frac{1}{2}$ uur

3 $\times$ wassen met water en 1 drup ammoniak

50 % ethanol

Safranine 10—24 uur

wassen met water 2 $\times$ (iets alcalisch)

ethanol 50 %

ethanol 70 %

ethanol 85 %

ethanol 95 %

ethanol 100 % 2 $\times$

xyleen

insluiten in H.S.R. (synthetic resin)

Geeft voordeel: de haematoxyline-kleuring is beter te beoordelen dan wanneer men met safranine begint (zie Hoofdst. VIII § 5). (mededeling van Ir. E. W. Schierbeek, M.S.F. lab. Gainesville Fla.)

Oef. 50. Onderzoek Lindehout (dus een Tweezaadlobbige, Bedektzadige plant) op de aangegeven wijze. Prep. dwars, tang-, radiaal door hout en bast (zgn. hard-wood).

Oef. 50a. Indien men een (hand-)mikrotoom gebruikt moet men de „bevestigingsdraadjes” even onder het midden van het stengelstuk vast zetten!

a. in joodjoodkalium.

b. joodjoodkalium + zwavelzuur 75 %.

c. floroglucine + zoutzuur.

Prep. van lenticel, dwars in Sudan III.

Lengtedoorsneden macereren volgens Schulze.

Tracht uit al deze preparaten één samenhangende beschrijving op te bouwen, zodat men een goede, ruimtelijke voorstelling krijgt. Teken de doorsneden!

Oef. 51. Onderzoek evenzo hout van een den (dus een Naaktzadige plant, zgn. soft-wood).

Oef. 52. Ga thans verschillende houtsoorten uit uw omgeving na. Meet de jaarringen (deze zijn in goede jaren veel breder en in het begin vaak eenvoudiger, bijv. maar één cellaag, meded.

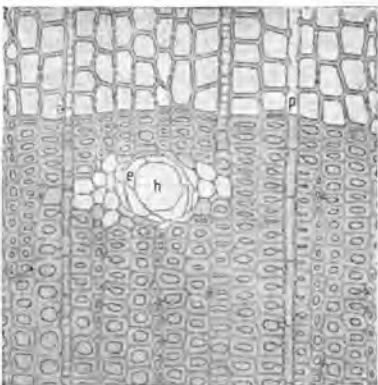


Fig. 54. Pinushout. Dwars. *h* harsgang omgeven door epitheel; *t* tracheidale, *p* parenchymatische mergstraalcellen. Aan de bovenzijde voorjaarshout.

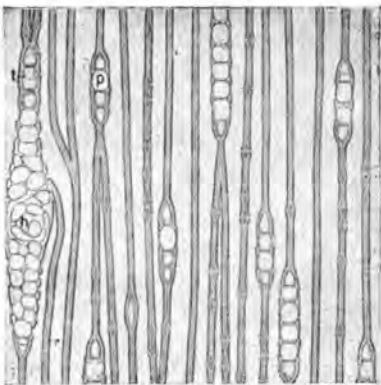


Fig. 55. Pinushout, tangenciaal. *p*, *t* en *h* als in fig. 54.

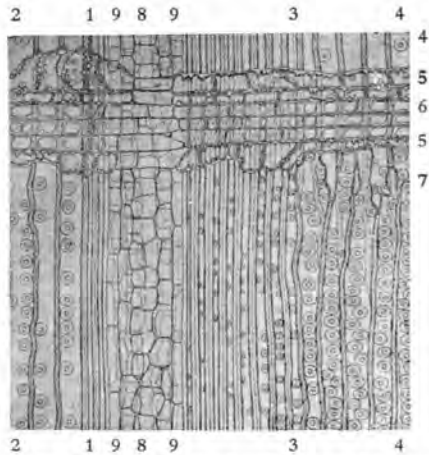


Fig. 56. Pinushout, radiaal. 1—1 jaargrens, 1—2 en 3—4 vroeg hout, met wijde; 1—3 laat hout met nauwe tracheiden; 5 mergstraal-tracheiden; 6 mergstraal parenchymcellen; 7 tracheiden-einden; 8 harsgang; 9 houtparenchym.

Fig. 54, 55 en 56 n. Kny.

Ir. E. W. Schierbeek). Tracht materiaal te krijgen van tropische bomen en van houtgewassen nabij de boomgrens (uit Alpen). Verg. de jaarringen!

Een opgaaf, die vele jaren met ernstige studie kan vullen, is: Ga van één plant nauwkeurig de anatomie na van wortel, stengel,

blad, bloem, vrucht, alles in verschillende stadia! (b.v. tarwe, aardappel, thee). Maak tekeningen en beschrijvingen! (Verg. oef. 55). Vergelijk de stengels en houtsoorten van verschillende soorten van één geslacht. Zoek de aanleg van de aar in tarwe of rogge (reeds bij kiemplanten met enkele bladeren) en bij appel of peer (in mid-zomer!).

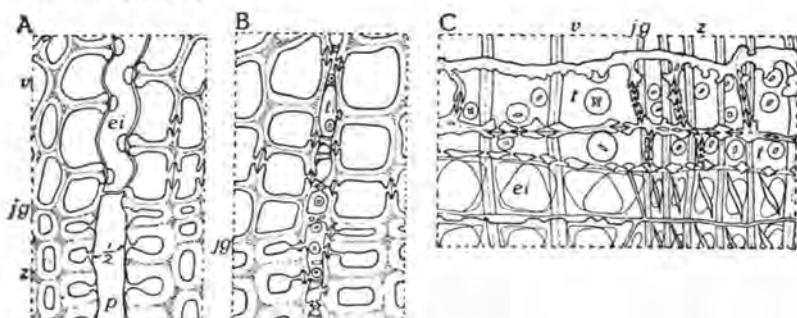


Fig. 57. Pinushout (grove den), mergstraalcellen. *A* mergstraal parenchym, dwars; *B* mergstraal tracheïden, dwars; *C* mergstraal, radiaal. Let op de stippels. 240 $\times$. *n. E. Reinders.*

Oef. 52a. Gehele bloemen (eventueel bloemhoofdjes) zullen meest ingesloten moeten worden (zie hoofdstuk VIII), voor een goede doorsnede gemaakt kan worden, die de onderdelen in de goede ligging ten opzichte van elkaar vertoont. Welke prachtige prep. hierbij verkregen kunnen worden vertoont o.a. fig. 19. Om de beginnende mikroskopist wat te helpen zij hier vermeld, dat de sterke witte ringen de buitenrand van de 5 met elkaar vergroeide helmknoppen der stuifmeeldraden (een Composiet is „saamhelmig”) is; iedere helmknop heeft 2 helmhokjes en hierin ziet men de stuifmeelkorrels. Daarbinnen is de stamper, met 2 stempels (die eerst later uiteenwijken). De flauwe rand is de bloemkroon van ieder bloempje. Een paardebloem heeft „vruchtpluis” en de haren hiervan zijn dwars doorgesneden en als witte stippen zichtbaar. Zie fig. 19 (blz. 49).

Literatuur:

Zij, die de voorgaande oefeningen hebben doorgewerkt en verder in deze richting willen gaan, worden verwezen naar de bestaande leer- en handboeken.

Strasburger, *Das botanische Praktikum*. Zeer uitvoerig.
Moll. *Handboek der Mikrografie*. Zeer methodisch gerangschikte oefeningen, geen figuren. Veel litt. (de oorspronkelijke verhandelingen!).
Oudemans en De Vries. *Leerboek d. Plantkunde* III.
Koningsberger e.a. *Leerboek der Plantkunde* I, 1943. Het gedeelte anatomie is bewerkt door Prof. Dr. E. Reinders. Het is zeer goed en munt uit door overzichtelijkheid, 2de druk is reeds verschenen.
E. Reinders. *Plantenanatomie*, Uitg. Landbouwhogeschool, Wageningen. Ook veel in *Biologische Arbeit*. Th. Fischer Freiburg i. Br. Heft 17.
Schoenichen. *Mikrosk. Unters. 2. Biol. d. Samen und Früchte*.
Schoenichen. *Mikrosk. Praktikum der Blütenbiologie*. Quelle a. Meyer, 1922.
Idem. *Biologie der Blütenpflanzen*, 1925.
Moll und Janssonius. *Mikrographie des Holzes*. Beschrijving van de Indische houtsoorten.
Moll and Janssonius. *Botanical Penportraits*. Prachtige voorbeelden van nauwkeurige beschrijvingen!
Pfeiffer. *Wetenschappelijk houtonderzoek*.
Nordlinger. *Querschnitte 100 Holzarten* (1852, zeldzaam! met echte doorsneden).
Dr. L. G. den Berger. *Inleiding tot het herkennen van hout in de praktijk*. 7e Meded. Proefstation Boschwezen Utrecht. Weltevreden 1922, met 12 houtmonsters.
H. Beekman. *78 Preanger houtsoorten*. Mededelingen. Proefstation voor het Boschwezen. No. 5. 1920. Batavia.
Eames en Mc Daniels. *Introduction to Plant Anatomy*. 1929, een nieuwe druk is kort geleden verschenen.
Nieuwe recepten en aardige oefeningen in: *Mikrokosmos*. Franckh'sche Verlagshandlung. Stuttgart en het *Handb. d. Mikroskopie* (ook aldaar). Zie voor bijzonderheden omtrent de betekenis van de bestudeerde mikroskopische structuren de botanische leerboeken, b.v. Geerts—Brouwer II. *Leerb. d. Plantk.*
Dr. A. D. J. Meeuse. *De inwendige structuur van de hogere plant*. Noorduy'n's Wetensch. Serie. No. 6, 1942 is een zeer goede inleiding!
In Günther—Stehli. *Tabellen zum Gebrauch bei botan. mikrosk. Arbeiten* (Stuttgart), vindt men een lijst van de gewoonlijk gebruikte planten en de meest opvallende mikrosk. verschijnselen, die erbij zijn waar te nemen.
N.B. Zie ook het hoofdstuk: Schimmels, Wieren, Bacteriën.

Verschillende firma's brengen preparatenseries van de anatomie der planten en dieren in de handel. (Moeller, Schlüter, Sigmund). De mooiste zijn wel de Sigmund prep. (Franckh'sche Verl. Stuttgart) met beschrijvende tekst, die van Turtox (Chicago) en die van Baird en Tertloch Ltd., Chadwell, Heath, Essex, England. De laatste 2 leveren ook alle reagentia en biologische voedingsbodems.

Aanhangsel 1

ONDERZOEK VAN PAPIER

Papier wordt bereid uit: 1e *houtslijpsel*, zodat de deeltjes mechanisch zijn verkleind en hierdoor onder het mikroskoop een zeer gehavend uiterlijk bezitten en 2e uit chemisch behandelde cellulose-vezels. Papier bezit:

Klasse	I	Houtslijpsel	75 %	cellulose	25 %	
"	II	"	75 %	"	25 %	betere soort.
"	III	"	70 %	"	30 %	
"	IV	"	60 %	"	40 %	
"	V	"	40 %	"	60 %	
"	VI	"	20 %	"	80 %	
Houtvrij papier	"	"	0 %	"	100 %	

Chemisch is houtslijpsel gemakkelijk aan te tonen met de floroglucine zoutzuur-reactie (zie blz. 55).

Oef. 53. Nauwkeuriger analyse gaat als volgt: neem 1 à 2 cm papier, verdeeld in kleine stukjes, giet hierop in een reageerbuisje enige cm³ van een 5 % natronloog oplossing. Schud tot alles is opgelost. Breng de inhoud op een zeer fijnmazige zeef en spoel goed uit met leidingwater. Breng een beetje van het overblijfsel op een stukje van een poreuze pot om te drogen. Breng een klein beetje op een objektglas en voeg chloorzinkjodium toe (blz. 55).

papier uit lompen geeft wijnrode vezels.

papier uit cellulose geeft blauwe vezels.

papier uit houtslijpsel en jute gele vezels.

Determineertabel volgens B. Passchier (1953).

1. Toevoeging van joodkalium aan het preparaat kleurt de vezels geel 4
2. De vezels blijven nagenoeg kleurloos of worden heel licht bruinachtig-violet . . . 5
3. De vezels worden roodachtig violet tot bruinachtig 8

- 4a. Er zijn hofstippels, met floroglucine en
zoutzuur kleurt het preparaat fraai rood . . . Houtslijp
- 4b. Geen hofstippels, met floroglucine en
zoutzuur kleuren de vezels lichtrood . . . Jute
- 5a. Er zijn grasepidermiscellen aanwezig . . . 6
- 5b. Er zijn geen grasepidermiscellen . . . 7
- 6a. Er zijn dunwandige parenchymcellen,
doch geen klauwvormige haartjes . . . Stro-cellulose
- 6b. Geen dunwandige parenchymcellen, er
zijn wel klauwvormige haartjes . . . Alfa-Esparto-
cellulose
- 7a. Er zijn geen houtvaten . . . Naaldhoutcellulose
- 7b. Er zijn houtvaten . . . Loofhoutcellulose
- 8a. Bandvormige, kurketrekkerachtige
gedraaide vezels . . . Katoen
- 8b. Cylindervormige, niet gedraaide vezels . . . Hennepe, vlas

Onderzoek bij $\pm 60-200\times$ vergroting. Schat het aantal vezels van iedere soort.

Macereer een stukje van een graanstengel en daarop een stukje strokarton (verg. blz. 87) zoek de gelijke elementen op.

Literatuur:

- J. H. Zelm van Eldik, *Het onderzoek van papier*. Rotterdam 1919. (Hierin staan vele figuren van verschillende soorten vezels en houtslijpsels).
- L. Vidal, *L'analyse microscopique des papiers*, Paris 1939.
- H. Weirich, *Wie beurteile ich Papier*. Franckh'sche Verl. Stuttgart, 1930.
- H. Freund, *Mikroskopie in der Technik* 8Bde. o.a. Bd V:
- Idem, *Mikroskopie des Holzes und des Papiers* 2 T. 1951.
- Zie ook *Microwereld* p. 1277, 1287 (H. Passchier) met figuren (maart 1953).

Aanhangsel 2.

ONDERZOEK VAN FIJN VERDEELDE POEDERS,

bijv. Cacao e.a.

Oef. 54. Breng het poeder in een horlogeglas, waarin men eerst een mengsel van glycerol en water heeft gebracht. Niet roeren! Wachten tot het poeder zelf zinkt! Als het bezonken is dan bij 50°C indikken. Nu een drup van het doordrenkte materiaal in

glycerolgelatine. Zo kan men ook een beetje van het poeder brengen op water of ethanol, en hierin laten zinken. Bij dit door-drenkte materiaal de reagentiën (b.v. florogl. zoutzuur etc.). Doe dit met beslist zuiver materiaal en daarna met materiaal uit de handel om dit op event. vervalsingen te onderzoeken.

Literatuur:

A. Meyer. *Die Grundlagen und die Methoden der mikroskop. Untersuchungen von Pflanzen-pulvern*. Fischer Jena.

W. Benecke. *Mikroskop. Drogenpraktikum*.

G. Gassner. *Mikrosk. Untersuchung pflanzlicher Nahrungs- und Genussmittel*. Jena 1931.

J. Moeller. *Mikrosk. d. Nahrungs und Genussmittel aus dem Pflanzenreiche*. 3. Aufl. 1928 Berlin.

Stracke. *Het Mikrosk. onderzoek van voedings- en genotmiddelen*. (Wereld Bibliotheek 1921).

N.B. Hierin staan ook vervalsingen!

Aanhangsel 3.

Oef. 55. Universele kleuring van Steinmetz (1934).

Men heeft getracht de verschillende kleuringen te combineren, en daartoe het volgende middel aangegeven:

I. Los 45 gr. *chloralhydraat* + 4 gr. *ijzeraluin* op in 10 cc warm gedist. water. Filtreer deze oplossing.

II. Los 0,4 gr *jodium* op in 40 cc ethanol 96 %.

III. Los 1 gr. *anilinesulfaat* op in 15 cc warm gedist. water.

Voeg de oplossingen I, II en III bij elkaar, en voeg hierbij 30 cc *glycerol* en ten slotte 0,1 gr. *Sudan III*.

Laat dit mengsel 24 uur staan en filtreer. Bewaar de oplossing in een bruine fles.

Breng de te onderzoeken doorsnede (of het poeder) in een paar druppels van dit mengsel en leg er na verloop van $\frac{1}{4}$ —1 minuut een dekglas op. Resultaat: cuticula, kurk, was, olie, vet, melksap etc. rood; houtstof en aleuronkorrels geel; cellulose, inuline, gom en slijm niet gekleurd; zetmeel blauw; looistof blauwzwart. Alkaloiden worden kristallijn neergeslagen, calciumzouten vormen gipsnaalden. De prep. zijn niet houdbaar.

Door het chloralhydraat wordt het prep. tevens opgehelderd.

HOOFDSTUK III

DIERKUNDIGE PREPARATEN

§ 1. Eenvoudige preparaten (*Insecten*).

De mikroskopische bouw der dieren is meestal niet zo eenvoudig te bestuderen als die der planten, vaak moet men hiertoe fijnere onderzoekingsmethoden aanwenden (zie hoofdstuk VIII). Teken de verschillende preparaten en tracht ze te beschrijven!

Oef. 56. Neem één baard van een veer, b.v. van een gans. De baard draagt aan weerszijden baardjes, deze dragen ten dele (welke zijde?) haakjes.

Dit prep. kan zeer goed droog worden bestudeerd.

Oef. 57. Bijzonder mooi zijn de rode kopveertjes van een bonte specht, de rode „lakveertjes” van een pestvogel, de „schillernde” veren van een fasant en kolibri, de fluweelachtige van verschillende paradijsvogels.

Oef. 58. Onderzoek verschillende zoogdierharen. Vooral die van Vleermuizen zijn heel mooi! Merkwaardig zijn ook die van Hamster, Chinchilla en Opossum.

De dikte van een hoofdhaar van een man bedraagt ongeveer tot 70 μ , vaak ook wel 50—55 μ . Van een vrouw is de dikte van een hoofdhaar wel tot 80 μ . Het rughaar van een hond is tot 70 μ , van een kat tot 75 μ , van een geit 65 μ , van een koe 38 μ , van een angorageit 43 μ , van een Yak (het zgn. buffelhaar der pruikenmakers) 110 μ .

Zie o.a. Marx. *Praktikum der gerichtlichen Medizin*. Een aardige methode van insluiten van haren in arabische gom, staat in *Microwereld* V, 3 april 1950.

Oef. 59. Proef van Allwörden over al of niet beschadigd zijn van wolvezels.

Men legt de vezels onder het dekglas in water en zuigt een drup verzadigd broom- of chloorwater door. Als de wolvezel onaangetast is komen na enige tijd langt de randen de zgn. blazen van

Allwörden; is de vezel beschadigd, dan komen ze daar ter plaatse niet. Geverfde vezels zijn meestal tevens „gevold” en dan komen er geen blazen.

Het zgn. „witslijten” van donkere wollen stoffen berust op het ontstaan van zeer kleine deeltjes (soms van circa $2\ \mu$) tussen de haren. Verg. de witte kleur van fijne poeders, een optisch verschijnsel.

Oef. 60. Bloedsomloop. Mooi te zien in de vinplooï om de staart van een kikkervisje. Let ook op de vertakte *chromatoforen*. Ook in de zwemvliezen van een kikker ('t dier vastbinden op een plankje met een gaatje. Hierboven het zwemvlies uitspreiden). Ook in de staart van kleine visjes. Het dier behoeft niet vastgelegd te worden, als men dieren neemt met een breed staartvlies. De bloedlichaampjes bezitten een kern.

Oef. 61. De eigen lichaamscapillairen zijn te zien bij 't nagelbed. Bevochtig met cederhoutolie de huid boven het zgn. halve maantje en leg hierop een dekglas. Na enige tijd is de huid volkomen doorzichtig. Verlicht sterk met een booglamp, maar plaats er een koelvat tussen en concentreer de stralen met een condensor (verg. *Mikrosk.* 1927/28, p. 120).

Oef. 62. Krab van een vis enige schubben. Sommige (cycloïd-schubben) hebben een glad achteroppervlak, andere (ktenoïd-schubben) hebben op het onbedekte gedeelte vele kleine uitsteeksels (b.v. schol, kampvis).

Bij de haring zijn de jaarringen duidelijk op de schubben. Bij haaien en roggen heeft men tandschubjes, die in bouw vrijwel met onze tanden overeenkomen.

Om de kleine schubjes van aal, makreel etc. te krijgen, doet men 't best eerst de slijmlaag af te vegen of te schrabben, met een vergrootglas te controleren tot men schubjes ziet en dan wat van die laag met schubben af te krabben. Het schrabsel, dat dan aan het mes kleeft spoelt men in wat water, roert flink en filtreert. Baster (1759) raadt hiervoor blauw filtreerpapier aan, doch rood is even goed! Men ziet dan de schubjes liggen en kan ze gemakkelijk verzamelen.

Oef. 63. Breng levende *Daphnia*'s onder een dekglas. Kleine wasvoetjes (fig. 118) verhinderen, dat het diertje doodgedrukt wordt. Zuig zoveel water weg, dat ze juist klem liggen. Een vochtige kamer is ook uitmuntend, mits niet te hoog! (fig. 58). Let op 't samengestelde oog, op de spieren die 't oog bewegen (fig. 58).

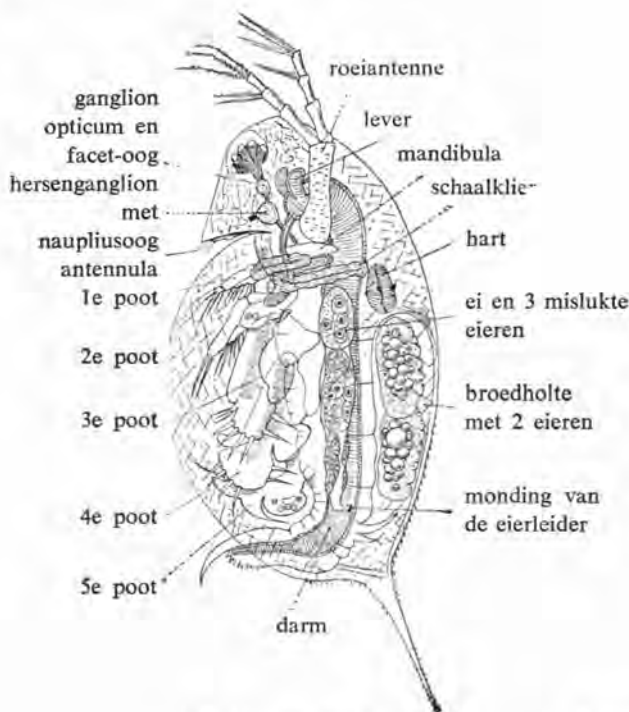


Fig. 58. *Daphnia pulex*.

n. Selenka.

Het hart ligt op de rug, dicht bij de kop! Het darmkanaal heeft meest een donker groene inhoud. Vaak is 't dier bezet met één-celligen (zie hoofdstuk V). De eieren liggen in een broedholte, achter op de rug. De larven (Nauplius) hebben 3 pootparen.

Oef. 64. Breng levende Cyclops-soorten onder een dekglas, juist als de *Daphnia*'s. Het hart ligt op de rug, doch is niet zo duidelijk als bij *Daphnia*. De gele bolletjes zijn vetdruppeltjes.

Bij de wijfjes twee eierzakjes. Let op de beweging van het darmkanaal (fig. 59).

Zie voor vitaalkleuring met neutraalrood oef. 193.

Oef. 65. In de kaas vindt men dikwijls kaasmijten. Zij hebben 4 paar poten, de jongen 3 paren (fig. 60). Mooie mijten zijn dikwijls op vijgen te vinden, tussen de zgn. suiker!

Zeer fraai in de herfst op de linde; *Tetranychus tiliaurum* Hermann. $\pm \frac{1}{4}$ mm; geel, spinklieren in 4-ledige palpen, stiletvormige cheliceren, weerhaakjes aan het zuignuitje, 2 ogen, 4 voorste poten ver verwijderd van achterste 4, lichaam fijn behaard. In de herfst massale trek langs de stam, waarbij een spinsel ontstaat.

De zgn. haartzakjesmijt komt vrij veel voor (fig. 61).

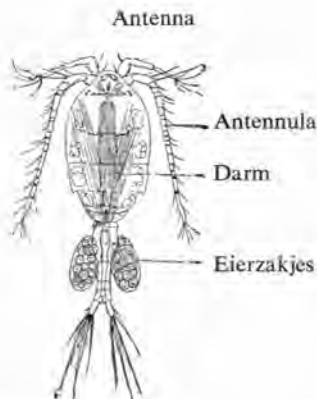


Fig. 59.
Wijfje van *Cyclops coronatus*.
n. Selenka.



Fig. 60. Kaasmijt.



Fig. 61. Haartzakjes mijt.
n. Schierbeek-Valkema.

Oef. 66. Neem een vlindervleugel. Krab hiervan een weinig poeder af. Onderzoek welke verschillende soorten op een vlindervleugel voorkomen. Bezie de schubben zowel bij doorvallend als bij opvallend licht. Let op de kleurverschillen (blauw is bijna altijd een struktuurkleur). Bij sterkere vergroting treden nieuwe struktuurelementen op (dwarslijnen) zie blz. 33). Droog onderzoeken! Een aardige methode voor het onderzoek van vlinderschubben is die van Suffert, nl. 1e afdrukken op een glasplaatje bedekt met canadabalsem in xyleen (ingedikte oplossing!), zowel van boven- als onderzijde. 2e vleugel even drukken op waspapier, dus zwart papier doortrokken met donkere was. Men kan dan later overdrukken als een decalcomanieplaatje (even overwrijven met vinger).

Nog beter is deze methode:

Knip de vleugels af en leg ze voorzichtig op een stukje cellofaan. Daarna legt men één vleugel in goede stand op een dekglas, bedekt met een dunne laag glycerolgelatine. Het geheel op een onderlaag van week karton of enkele lagen vloeipapier. Over de vleugel een laagje zilverpapier. Hierover rolt men voorzichtig een rond houtje. Licht het zilverpapier op en daarna voorzichtig de vleugel, te beginnen met de wortel hiervan.

Laat minstens 6 uur drogen. Leg nu het dekglas met de gelatinezijde op een objektglas met een niet te dunne laag canadabalsem, indien mogelijk werkend op een verwarmingstafeltje (fig. 126). Laat 8—10 dagen rustig staan.

Gedroogde vlinders eerst opweken onder een glazen stolp op vochtig zand met een enkele druppel fenol, in filtreerpapier.

Geurschubben. De *donkere band* bij *Satyrus semele*, de Heidevlinder, bestaat uit geurschubben met zeer afwijkende vorm. Zoek deze op.

Onderzoek vlindereieren en het patroon van de haren op de rupsen!

Zie ook blz. 110.

Oef. 67. Onderzoek een kamervlieg. Knip de volgende delen met een fijne schaar licht bij 't lichaam af. Maak prep. in glycerol.

na bevochtiging met ethanol: *a.* vleugel, *b.* poot (let op de zuignapjes!), *c.* de snuit (let op de speekselkanaaltjes). (fig. 62).

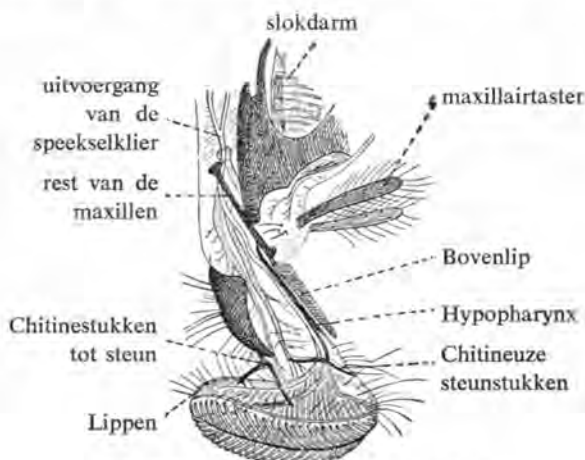


Fig. 62. Slurf van een Kamervlieg.

N.B. Lees vooral ook de aanwijzingen bij oef. 86. Het oog onderzoekt men 't eenvoudigst door een prep. van de kop te maken en dan een oog met opvallend licht te bezien. Men kan ook met een scheermes het allerbuitenste vliesje van het oog afsnijden en dit met kaliloog wat ophelderen.

Oef. 68. Oog der insecten. Een prachtig beeld krijgt men door als volgt te handelen. Neem van het oog van een vlieg met een scheermes het buitenlaagje (de lenzen) en breng dit preparaat in water. Haal het purpergedeelte, dat aan de holle onderzijde zit, eraf door zacht te wrijven over een stukje papier. Leg het prep. met de bolle zijde naar boven op een objektglas en breng een kleine luchtbel hieronder. Verwijder de condensor van het mikroskoop en belicht met de platte spiegel bij een vergroting van 200—500 $\times$. Stel nu eerst in op de facetten en schuif of schroef de tubus dan omhoog. Men ziet dan in ieder facet een klein beeld, b.v. van het venster.

Het prep. (met de luchtbel!) kan men in glyc.-gelatine bewaren, doch het berderft op den duur (Budde. Mikrokosmos Bd. 30). Leeuwenhoek beschreef dit verschijnsel al (30 april 1694). Zeer fraai gelukt het bij een libel!

Oef. 69. Het oog van het Draaitorretje of Schrijverke (*Gyrinus natator*) bestaat uit 2 gedeelten: één om in de lucht te zien, één om in 't water te kijken. Bij een Tweevleugelige (*Bibio*, alleen het mannetje!) is het ook tweedelig. Verdere voorbeelden zijn de Eendagsvlieg (*Chloeon*), vele Bladluizen. Onderzoek de gehele dieren in opvallend licht.

Oef. 70. Onderzoek een bij.¹⁾

- a. de vleugels, let op de vleugelhaakjes van de achtervleugel (voorrand).
- b. de poten, let op de sprietreiniger van de voorpoot; de lange „stuifmeelvork” van de middenpoot; het korfje, de borstel, de stuifmeelkam en -pers van de achterpoot. Let ook op de klauwtjes en hechtlapjes (fig. 63).
- c. de monddelen (likkend); let op de behaarde tong en 't lepeltje (monddelen uittrekken of afknippen) (fig. 64).
- d. de samengestelde ogen en de puntogen.
- e. de angel. N.B. druk even op het achterlijf, trek de angel uit. Helder op met kaliloog.
- f. de wasplaatjes onder aan de segmenten van het achterlijf.
- g. de sprieten. Let op de kleine gaatjes waarmee de chitinehuid doorboord is (reukorgaan).
- h. de vertakte haren van het lichaam.



Fig. 63.

De drie poten van de bij.
Uit: Schierbeek. Instinkt of Verstand.

¹⁾ Zie Schierbeek, *De honigbij van de steentijd tot heden*. Utrecht 1947. Hierin de literatuur.

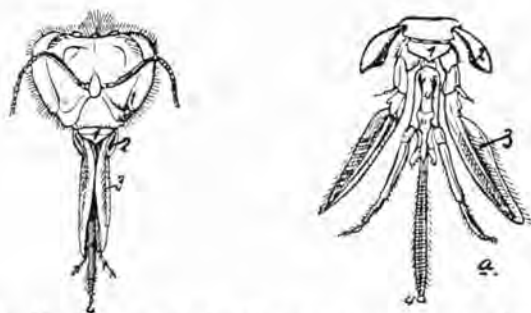


Fig. 64. Monddelen van de bij, samengevouwen en uiteengelegd.
1 bovenlip, 2 bovenkaken, 3 onderkaken, 4 onderlip.

Oef. 71. Onderzoek een steekmug.

a. de vleugels.

b. de monddelen (stekend). Tracht de zaagjes aan het eind van no. 3 (fig. 66) te vinden.

c. de ogen (als oef. 68).



Fig. 65. Maagwand met parasieten, de buisjes links zijn de buizen van Malpighi.

n. Ross, uit *Thijssse*.

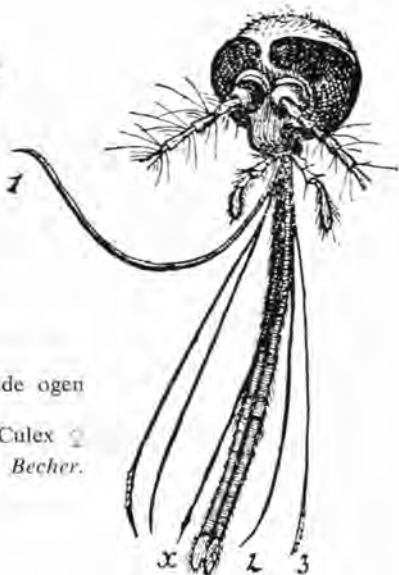


Fig. 66. De samengestelde ogen zijn zeer duidelijk.

Stekende monddelen van *Culex* ♀

n. Becher.

- d. men vat een steekmug bij de kop en bij het eind van 't achterlijf en trekt zachtjes het dier uiteen. Vaak blijft dan de maag aan de kop hangen, met de buizen van Malpighi aan 't achter-einde. Bij de malariamuskiet (*Anopheles*) is deze maag soms bezet met malariaparasieten (fig. 65).
- e. let op het verschil tussen de monddelen van een gewone steekmug (*Culex*) en een malariamuskiet (*Anopheles*). (N.B. let op lengte der tasters!)
- f. let op 't verschil tussen mannetjes en wijfjes in tasters (alleen de laatste zuigen bloed).
- g. tracht eieren en larven te vinden, let op de drijfkamertjes van de eieren en de luchtbuizen van de larven.
- h. breng een levende larve in een vochtige kamer (fig. 29), let op de beweging van de haarbundels bij de bek, op het hart, de darm!

Oef. 72. Onderzoek een hoofdluis en de eieren (neten). De eieren worden alleen gelegd aan de basis van een haar. Als 't haar groeit, schuiven ze mee omhoog, hieraan kan men dus de ouderdom bepalen.

Let op de klauwtjes waarmee de luizen de haren omvatten. De sprieten hebben 4 leedjes, bij de larven 3. Let op het deksel van de eieren! Als men een uitgehongerde luis op de hand zet en bloed laat zuigen, ziet men prachtig het bloed door 't darmkanaal gaan (Swammerdam 1669).



Fig. 67. Hoofdluis met ei (b) en poot (c).

Fig. 65—67 uit *Schierbeek-Valkema, Dierk. II.*

Oef. 73. Onderzoek de sprieten van een meikever. Let op de tast- en reukorganen! (zie oef. 70 g).

Oef. 73a. Onderzoek de parasieten der huisdieren (bijv. vlo van kat, hond, duif, eventueel ingewandswormen, New Biology 27).

Oef. 74. Onderzoek de vlindertong. Verg. fig. 68 en 69. De uitgegroeide holle onderkaken vormen samen de roltong. Vang een *Atalanta* (Schoenlapper, Nummervlinder) en onderzoek de poetspootjes.



Fig. 68. Zuigende monddelen van vlinder.
n. Escherich.



Fig. 69. Idem, uit elkaar gelegd.
n. Oudemans.



Fig. 70. Monddelen van een wants.
n. Oudemans.

Oef. 75. Onderzoek een bedwants of een bladluis. Verg. de monddelen met die van de steekmug! (fig. 70). Let op het oog van de bladluis. Bestaat uit twee delen (opvallend licht, geheel dier!). Voor bedwants zie *New Biology* 13.

Oef. 76. Onderzoek van een waterroofkever:

- de bijtende monddelen.
- Let op het orgaan op de voorpoten van het mannetje, waarmee het zich vasthecht op het wijfje.
- Snijd met een scheermes een ademhalingsopening (stigma) af, helder op met 5 % kaliloog. Let op het fettige rooster, dat wel lucht doch geen water doorlaat.
- Neem een plukje van de tracheeën (ademhalingsbuizen) er uit. Let op de chitinespiraal, die deze luchtbuizen openhoudt!
- Neem een plukje van de spieren. De dwarsstreping der spiervezels is duidelijk te zien, zonder kleuring. Als men de spiervezel in water kwetst en uit tracht te pluizen blijft dikwijls het omgevende vliesje (sarcolemma) duidelijk te zien.

Oef. 77. Zeer fraai zijn de grote groepen van stempelopeningen (spiraculae) bij de maden van een vleesvlieg. De jonge larven doden, opensnijden en op filtreerpapier uitdrukken. Alleen de huid en de tracheeën blijven over. Te kleuren met wat eosine of saffranine. Niet strikt nodig, doch men krijgt een mooier beeld!

Oef. 78. Onderzoek het muziekgorgaan van een Sprinkhaan. Zoek de raspende ader (fig. 71).



Fig. 71. Linker voorvleugel van *Locusta viridissima* L. ♂ van de onderzijde gezien; *a* rasp, *b* ondoorschijnende plek.

Fig. 71a. Rechtermvleugel van iedem van boven gezien; *c* ader waaronder de rasp krast, *d* glasheldere plek.

Fig. 71—71a uit *Schlierbeek-Vulkema, Dierkunde II*.

De linkervleugel, die boven ligt, heeft aan de onderzijde de rasp (*a*, „Schrilleiste”), de rechter heeft de glasheldere plek (*d*) en een verheven ader („Schrillscheide” *c*).

Oef. 79. Zoek het gehoororgaan (tympanaal orgaan) aan poten van een krekel of een sprinkhaan. Tracht hiervan doorsneden te maken.

Oef. 80. Onderzoek de graafpoten van een veenmol.

Oef. 81. Op vele planten (bladeren, stengels, in de bloemen) leven kleine insectjes, die hun voedsel krijgen door sap uit de planten te zuigen. Zij behoren tot de orde der Thysanoptera (ca. 1500 soorten). Zeer bekend is o.a. de Perenthrips (*Taeniothrips inconsequens* Uzel). Deze diertjes vormen een prachtig object voor mikroskopische onderzoeken! Verg. fig. 72.

Oef. 82. Onderzoek de Vlindereieren. Ze zijn vaak prachtig, b.v. die van een koolwitje, van een ringelrupsvlinder.

Oef. 83. Onderzoek een kruisspin (fig. 73) (New Biology 7).

a. de kaken. Zoek de uitmonding van de giftklier.

b. de kaaktasters.

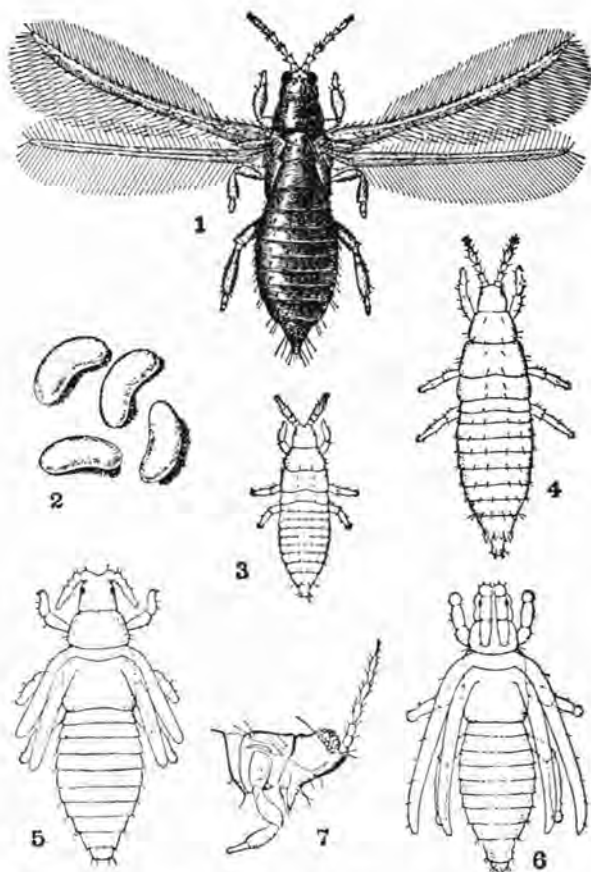


Fig. 72. Thaeniothrips. 1. Imago = volwassen insect; 2. eieren; 3. eerste instar (= larvestadium); 4. volwassen larve; 5. voor-pop; 6. pop; 7. kop van imago van terzijde.

n. Forster and Jones, uit Imms.

- c. de poten. Let op de haak, waarmee de spin over de draad glijdt en de 2 kamvormige klauwen.
- d. de ogen. N.B. met opvallend licht de kop bezien, tel de ogen.
- f. de spintepels. N.B. met opvallend licht het achterlijf bezien.

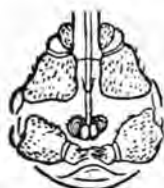


Fig. 73. Achterlijf met de spintepels.



Fig. 73a. Een spintepel.



Fig. 73b. Poot.

Oef. 84. Onderzoek de larve van een haft of eendagsvlieg (de larven leven enige jaren!). Let op de tracheekieuwen! (fig. 74).

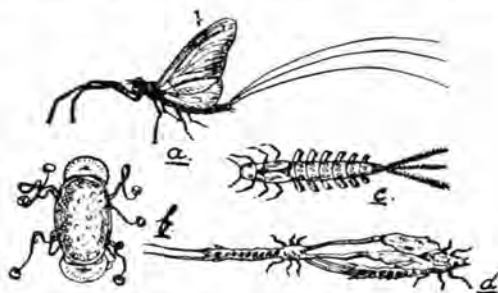


Fig. 74. Ontwikkeling van eendagsvlieg; *a* imago, *b* ei, *c* de larve, *d* de laatste vervelling. *n. Swammerdam, 1675.*



Fig. 75. Vlo met ei, larve, pop en monddelen.

Fig. 73—75 uit *Schierbeek-Valkema, Dierk. II.*

Oef. 85. Verg. een mensenvlo met die van een hond of kat. Let op de lange achterpoten en op de borstel langs de achterrand van de kop (fig. 75).

De honden- en kattenvlooien hebben een rij stevige haren onder „de kin” en aan de achterrand van de kop (New Biology, 14). Tracht een rattenvlo te onderzoeken!

Oef. 86. Het onderzoek der verdere Insecten is in hoofdzaak gelijk aan het vorige.

Men zoek een of ander insect en ga de gehele ontwikkelings-geschiedenis na. Onderzoek steeds de monddelen, ogen, poten, tracheeën. Als men goed zoekt zal men vaak parasieten der Insecten vinden. In vele bloemen leven zeer kleine Insectjes. In ieder tuintje zijn ze te vinden!

Veel oefeningen staan in: Schoenichen, *Praktikum der Insektenkunde*. Voor haren op de rupsen zie o.a.: Schierbeek, *The Setal Pattern of Caterpillars and Pupae*. Brill. 1917.

Vaak is het nodig de weke delen te verwijderen met 5 % kaliloog. Hiertoe koken in een reageerbuisje. Voorzichtig! Opening van zich afhouden. Uitspoelen met water.

Ontkleuren met verdunde *Eau de Javelle* (12—24 uur). Men kan deze zelf maken (altijd vers gebruiken!) 100 cc. water, hierin oplossen 20 gr. chloorkali; 1 dag laten staan (wel schudden!) en dan toevoegen 100 cc. water met 15 gr. kaliumnitraat; 1 uur laten staan, dan filtreren. Doorzichtig maken met *Diaphanol* van Prof. Schmidt (Leitz. Berlin N.W. 6. Louisenstr. 45). Gebruiksaanwijzing wordt daarbij gegeven.

Voor zeer kleine Insecten, b.v. bladluizen, beveelt Roepke 't volgende aan:

1. materiaal 10 min. koken in ethanol 70 % of drogen.
2. overbrengen in melkzuur 75 %; 30 min. verhitten (in een waterbad!).
3. 10 min. verhitten in chloralhydraat-kristallen, opgelost in zeer geconc. fenoloplossing (gelijke hoeveelheden).

Soms behoeft 3 niet te worden toegepast, dan na even afspoelen: insluiten in mengsel van Berlese (12 gr. kleine stukjes Arabische gom; gedist. water 20 cc., glycerol 16 gr. of 13 cc. en chloralhydraat 20 gr.). Of insluiten in het mengsel van Faure (10 dln. gedist. water, 10 dln. chloralhydraat, 4 dln. glycerol, 6 dln. arab. gom). Enige dagen drogen in een exsiccator, daarna omranden met hars (b.v. met Murragite van Flatters & Garnett. Manchester). Zonder voorafgaande behandeling kan men vele kleine insecten en onderdelen van grotere insluiten in *Liquide Faure* (L. F.) volgens Mayer.

Zie J. G. Slieker in *Microwereld* juni 1950 en dec. 1950; ook Biere in *Microwereld* nov. 1950. Entom. Berichten 113, p. 37—42, 55—58.

De methode van M. L. Bathia voor het ophelderen en inbedden van zeer kleine Insecten is als volgt: prep. in ethanol 95 % gedurende 15—20 min. Daarna in dennenhars opgelost in Eucalyptusolie ($n = 1,497$). Het prep. is dan na ca. $\frac{1}{2}$ uur geheel opgehelderd.

Veel insectenpreparaten zijn in de handel verkrijgbaar. Zie over de anatomie der insecten: Oudemans, *Nederlandsche Insecten*; Schröder, *Handbuch der Entomologie* (III delen) en A. D. Imms, *A general textbook of entomology*, 6th. ed. 1946.

§ 2. Oefeningen voor meergevorderden.

(Voor kleuringen en blijvende prep. zie hoofdstuk VIII).

Oef. 87. Onder in de bek van een slak zit een wrijfplaat of radula. Dood een slak. Snijd de kop van boven open tot op het darmkanaal. Neem de slokdarm eruit. Open deze voorzichtig. Aan de bovenkant heeft men de bovenkaak, onderin de radula (fig. 76). Knip beide voorzichtig uit. Leg ze in een druppel kali-loog, spoel uit in water. Breng ze over in glycerol. Men kan slakken dwingen het huisje te verlaten door ze enige uren in (gekookt) water ondergedompeld te houden, bijv. in een jampotje met water gevuld en van een deksel voorzien.

Zie Dr. A. D. J. Meeuse in *Microwereld*, dec. 1949.

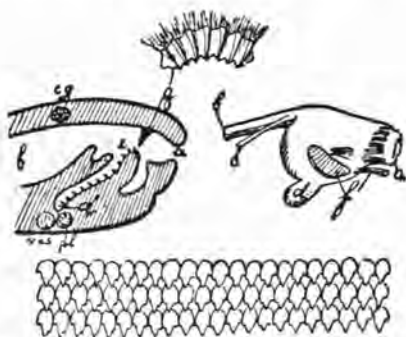


Fig. 76. Slak. mond en farynx (*n. Hertwig*), en schema van idem (*n. Meisenheimer*); *a* mondopening, *b* slokdarm, *c* speekselklierafvoerbuis, *d* radulazak, *e* radula, *f* spier, *g* bovenkaak, *cg* cerebraalganglion, *vis* en *pl* visceraal en pleuraalgangliën.

Boven: Kaak (*n. Jammes*); onder: Radula (*n. Hesse*).

Oef. 88. Dood een Regenworm door die te leggen in 10 % alcohol (ethanol). Open het dier van de rugzijde. Bestudeer de anatomie aan de hand van fig. 77. Neem één der nephridiën eruit en zie of ge de trechtertjes kunt vinden (de nephridiën lopen door de tussenschotten die de segmenten afscheiden; de trechtertjes zijn in één segment, de uitvoergang in het volgende).

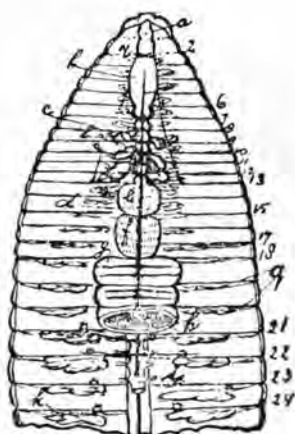


Fig. 77. Voorste deel van een regenworm opengelegd; *a* bek, *b* farynx, *c* slokdarm met kalkzakjes, *d* hart, *e* krop, *f* spiermaag, *g* darm, *i* buikzenuwstreng, *k* nephridium, *l* zaadblaasjes.
n. Kükenthal.

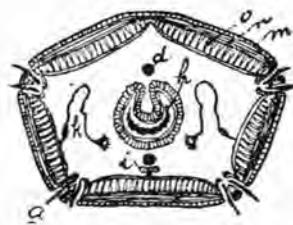


Fig. 77a. idem dwars; *m* huid, *n* kringspier, *o* overlangse spieren.

Neemt men deze eruit bij een levende worm, en legt men die dan in een fysiologische zoutoplossing (keukenzout 0,65 %), dan ziet men de trilhaarslag!

De borstels zijn als volgt fraai te zien. Neem een regenworm en dood deze in 10 % ethanol. Snijd een stuk uit de huid met één der 4 rijen borstelrijen en macereer deze in warme zoutzuur 5 %, vrij lang. De borstels komen dan vrij en kunnen ongekleurd bekeken worden met vrij zwakke vergroting. Desgewenst iets te kleuren met Congorood en insluiten. (Hoofdstuk VIII). Verg. ook oef. 203 en zie New Biology 21.

Oef. 89. Zoetwaterpoliep (Hydra). Dikwijls vindt men dit dier aan kroosbladeren. Schep water uit een sloot, laat het enige tijd rustig staan. Als de dieren aanwezig zijn ziet men ze spoedig (fig. 78). Ga de bewegingswijze na. Zie of de Hydra de polypenluizen (Kerona en Trichodina) heeft!

Onderzoek de voortplanting met knoppen (door Leeuwenhoek in 1702 ontdekt). Bestudeer de voeding, door een dier te brengen in weinig water (b.v. een horlogeglas), met enige *Daphnia*'s.

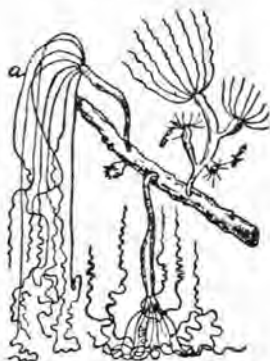


Fig. 78. Zoetwaterpolypen; *a* tentakels, *b* knoppen. *n. Trembley (1744).*

Fig. 76—78 uit *Schierbeek Valkema, Dierk. II,*

Zie met een sterke vergroting de netelorganen aan de prooi te vinden! Breng bij een levende hydra wat azijn, let op het exploderen van de netelkapsels.

Om de *Hydra* nauwkeuriger te bestuderen ga men als volgt te werk.

Breng een *Hydra* in weinig water, wacht tot het dier zich goed heeft uitgestrekt en giet er dan plotseling veel 10 % formol bij. Ze sterven dan in uitgestrekte toestand. Zie *Microwereld*, aug. 1949 en *New Biology* 6.

Oef. 90. Onderzoek op dezelfde wijze de polypen uit de zee (fig. 17). Dit zijn ten dele scyfopolypen, die een soort slokdarm hebben en in de darmholte plooien (mesenteriaalfilamenten). Bij verschillende polypen ontstaan uit de knoppen geen polypen doch kwallen!

Oef. 91. Men moet de polypen niet verwarren met de mosdiertjes (Bryozoen), die veel hoger georganiseerd zijn, en b.v. een lichaamsholte bezitten. Het bovenstuk van het lichaam eindigt in een hoefijzer (lofofoor) met tentakels, die 't voedsel naar de mond wapperen (fig. 79).

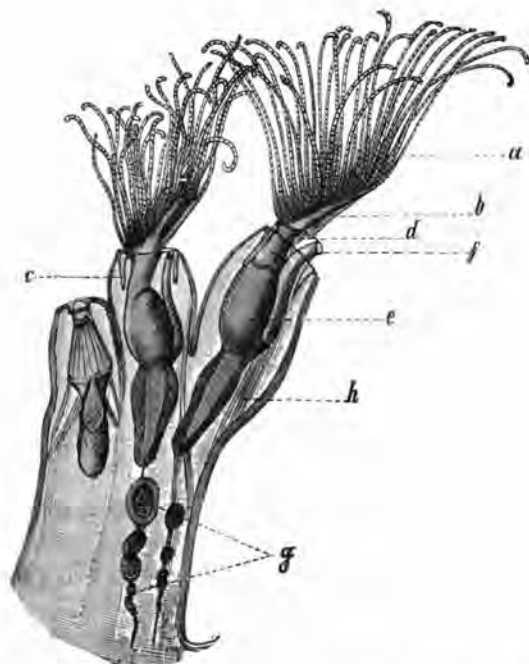


Fig. 79. Deel van een kolonie van *Plumatella fungosa* Pall. een mosdiertje 23 $\times$ vergroot; twee individuen uitgestrekt, één ingetrokken. *a* tentakelkrans, *b* tentakeldrager (lofofoor), *c* tentakelschede, *d* slokdarm, *e* maag, *f* einddarm met anaalopening, *g* funiculus met statoblasten, *h* spier.

Behalve eieren ontwikkelen zich zgn. statoblasten, rustende stadiën, die voorzien zijn van merkwaardige haken, voor iedere soort weer verschillende (fig. 80).

De **Ontwikkelingsgeschiedenis** is meestal niet gemakkelijk te bestuderen. Betrekkelijk eenvoudig zijn de volgende oefeningen:

Oef. 92. Houd enige tijd zoetwaterslakken in het aquarium. Ze leggen eieren aan de wanden en om de planten (geleiachtig, met kleine bruinachtige stipjes). Bekijk de eieren met een zwakke

vergroting. De larven van Mollusken zijn binnen in de eieren vaak in draaiende beweging!

Oef. 93. Neem enige levende zeeappels. Open ze van terzijde, klap de bovenhelften op. Tegen de bovenkant vindt men 5 voortplantingsklieren. Neem hieruit bij een wijfje de eieren, breng die in zeewater. Neem uit die van het mannetje (met een druppelbuisje!) de spermatozoa. Breng deze ook in zeewater (gescheiden van de eieren!). Breng daarna onder het mikroskoop enige druppels met eieren en met spermatozoa bijeen. Men kan de bevruchting nagaan.

Teken de opvolgende stadia.

Kweek de larven op, ga ieder ogenblik de verandering na (Let op de tangetjes van de volwassen dieren, vooral om de mond!).

Oef. 94. Neem salamander- of kikvorseieren, die pas gelegd zijn. Snijd voorzichtig in het geleachtig omhulsel. Haal daarna voorzichtig de eieren eruit. Ga de deling van de eicellen na en zoek naar de zgn. grijze halve maan, die een zeer belangrijk gedeelte is! (fig. 81 en 82). Bestudeer de eerste larven (kieuwen, staart).

Verg. Merker. Zie litt. onder oef. 99.

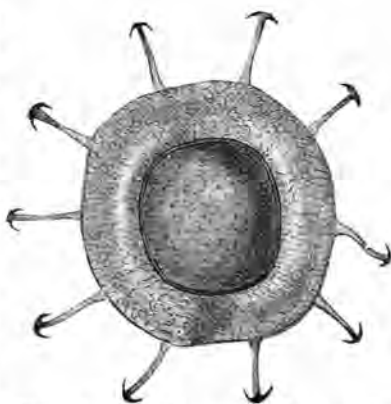


Fig. 80. Statoblast van *Pectinatella magnifica* Leidy. 30 $\times$.

Fig. 79 en 80 naar Lampert-Vosseler.

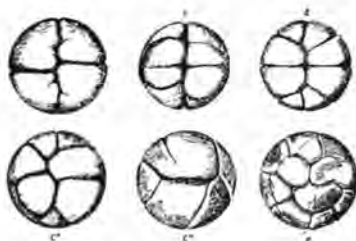


Fig. 81. Eiklieving van de grote salamander; *a* begin van de 3e klieving, *b* einde van de 3e klieving, *c* ander verloop van de 3e klieving, *cu* zelfde ei van onder gezien, *e* de 4e klieving.



Fig. 82. De rugplooien van de salamanderlarven omsluiten eerst een breed veld; dan groeien ze naar elkaar toe en vormen een gesloten buis (ruggemerg), die bij de hersenen breed begint (e) en bij de oermond eindigt.

Uit: *Merker, Entw. d. Molches.*

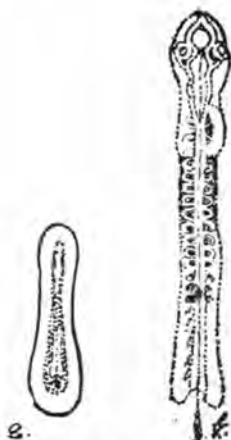


Fig. 83. *a* Pantoffelkiemvlek van het hoen.

b Embryo van het hoen na 36 uur bebroeding.

n. Casper Friedrich Wolff's Theoria Generationis, 1759,

Uit: *Schierbeek-Valkema, Dierk. II.*

Oef. 95. Neem een kipei, dat enige uren (tot dagen) bebroed is. Houd het ei horizontaal en sla de stompe zijde stuk. Er treedt soms wat eiwit uit. Breek nu de schaal van bovenaf stuk en prepareer de kiemvlek of het embryo vrij (fig. 83). Let op de volgorde waarin de delen zich ontwikkelen!

Fröhlich (1938) raadt het volgende aan. Neem enkele eieren en leg ze 24 uur rustig neer. Merk de bovenzijde met potlood. Verwarm enkele wasstukjes bij 39° C gedurende enkele uren en vorm hieruit een rol rond stuk van ± 8 cm lengte. Vorm dit, om de vinger, tot een ring en leg deze om het potloodmerk. Druk de wasring wat vast en smelt met een verwarmde spatel de buitenzijde vast op de eischaal (de was mag zich niet uitbreiden en dus de poreuze schaal afsluiten!). Maak de wasring ± 1 mm hoger dan het binnenste, gemerkte, deel van de schaal; er moet een objektglas plat op kunnen liggen. Laat het ei gedurende ongeveer 40—48 uur

bebroeden (in een broedstoof is het best) en draai het ei gedurende die tijd enige malen om; zorg hierbij, dat de laatste uren het merkteken weer boven is. Breek nu met een spitse pincet de eischaal voorzichtig weg midden in de ring (eerst een scheurtje maken door voorzichtig te tikken). Haal het schaalvlies ook weg. Eventuele schaa splinters voorzichtig verwijderen. Verwarm nu de wasring met een spatel en kleef een (half) objektglas op die wasring. Men kan dan door dit glasvenster het levende embryo zien en de ontwikkeling nog een tijdje volgen indien men nauwkeurig werkt. Het openen en afsluiten binnen een kwartier! Na de 4de of 5e dag is het moeilijk het embryo te zien, het zakt dan wat dieper weg. Men kan het vitaal kleuren!

Oef. 96. De meeste **histologische** verschijnselen zijn niet zo gemakkelijk waar te nemen, zonder een bijzondere kleurtechniek toe te passen (Hoofdstuk VIII).

De *darmvlokken* zijn echter wel vaak goed te zien in de dunne darm. Ook de uitmondingen van de kieren van Lieberkühn in de dunne darm.

Spoel een verse darm (te krijgen in een abattoir) goed uit, snijd deze open en strek de wand (in een wasbakje of op een plankje) goed uit in formaline 5 % gedurende 12 uren (nacht). Knip 1 cm² uit, reinig deze in zacht stromend water. Voer *langzamerhand* over van ethanol 53 %, in 50—65, dan 80—96 % en absoluut, daarna in xyleen. Leg een glasplaatje op het objekt en laat langzaam drogen. Het prep. droogt nu, zonder te verschrompelen. Neem een schoon objektglas, breng hierop een heel klein beetje canadabalsem (alleen om 't voorwerp vast te kleven, mag er niet in doordringen!). Maak van papier een randje erom, met een dekseltje. Bezie met een 50 tot 100 × vergroting!

Oef. 96a. Een aardige methode om de darmvlokken te zien beschreef H. G. Hollen in *Microwereld*, mei 1950. Een stukje darm wordt met spelden vastgeprikt op een kurk, en zo ondergedompeld in een oplossing Zilvernitraat (AgNO₃) 1 %, gedurende 10 min. in donker. Daarna spoelen in water, de plekken om de spelden wegknippen. Dan in gedest. water in de zon, met een

beetje keukenzout erbij. Overvoeren in ethanol abs., xyleen en canadabalsem. Bezien met een vergr. van 100 X.

Oef. 97. Men kan ook dierlijke weefsels macereren (verg. blz. 87). Leg een weefselstukje 5—24 uur in ethanol 30 %. De cellen laten vaak reeds zonder verdere bewerkingen los van elkaar. Druk anders zacht op 't preparaat terwijl dit op een objektglas ligt! Onderzoek in verdunde glycerol. (N.B. vaak mooier na kleuring van de cellen, zie Hoofdstuk VIII).

Oef. 98. Kleine skeletjes maken (ook van insecten) in: ethanol kali (5—8 gr. zuiver kaliumhydroxyd in 100 gr. ethanol 96 %; kurk op fles). Koken op waterbad, meest enkele minuten. Onderzoek op deze wijze b.v. een muizenschedel en een muizenpootje met zeer zwakke vergroting.

Oef. 99. Het opspuiten van de vaten in een organisme is nogal lastig. De eenvoudigste methode is met warme karmijngelatine (deze moet neutraal reageren, klaar kopen bijv. bij Mikrokosmos, Stuttgart!). Leg het pas gedode dier in een bak met water. Open het hart, spuit hierdoor fysiologische zoutoplossing. Spuit nu de karmijngelatine door het bloedvaatstelsel. Leg het dier nu in koud water, daarna in formol-alcohol (ethanol).

Soms krijgt men reeds goede resultaten bij inspuiting van O.I. inkt. Zie voor verdere oefeningen (Raderdiertjes, Mosdiertjes, Beerdiertjes, Eencelligen: hoofdstuk V en VI).

Literatuur:

Merker. *Die Entwicklungsgeschichte des Molches*. (Fischer, Freiburg i. Br.).
C. P. Raven, *Ontwikkelingsgeschiedenis der dieren*. Noorduijn, 1948.

E. Reukauf. *Körperbau und Lebensweise der Spinnen*.

R. Luhrs. *Bau, Leben und Aufzucht der Seidenspinners* (Serica Mori).
Schmidt. *Die Herstellung einfacher Mikrosk. Prep. aus dem Tierreich*.
(ook aldaar).

Zeer uitvoerig over Insecten is: Schoenichen. *Praktikum der Insektenkunde*.
Veel aardige oefeningen in:

Stridde. *Allgemeine Zoologie in Verbindung mit Mikroskopie und Sezierungsübungen*. Franckh'sche Verl. Stuttgart.

Ewald Schild. *Praktische Mikroskopie für den Arzt und Biologen*. Wien,
2e Aufl. 1947.

Voor 't determineren van zoetwaterpolypen, mosdiertjes etc. zie K. Lampert. *Das Leben der Binnengewässer* (vele drukken).

HOOFDSTUK IV

KRISTALLEN EN ENKELE MIKROCHEMISCHE REAKTIES

§ 1. *Kristallen*

Zoals reeds is uiteengezet heeft men voor een goed kristallen-onderzoek een mikroskoop nodig met polarisatie-inrichting. (Hoofdstuk I § 5). Verschillende kristalvormen zijn echter uit-muntend te bestuderen met een gewoon mikroskoop.

Oef. 100. Neem geconc, liefst warme oplossingen van verschil-lende zouten (b.v. keukenzout, soda, salmiak, boorzuur, fixeer-zout); breng hiervan een drup op het objektglas en ga onder het mikroskoop het uitkristalliseren na.

Doe het eveneens met een rietsuiker-oplossing.

Teken de verschillende kristallen.

Oef. 101. Doe hetzelfde als bij oef. 100 doch nu met donker-veldbelichting (Hoofdstuk I § 4).

Oef. 102. *Sneeuwkrystallen* zijn vaak buitengewoon fraai, maar zij dooien uiteraard snel weg. Met behulp van een drup van een 1 % oplossing van polyvinyl-formol-plastic vormt men een zeer dun vliesje over de sneeuwkrystallen en na het wegdooien kan men hieraan de vorm zeer goed bestuderen.

Mooie foto's van de kristallen (ook van die in § 2 genoemd) vindt men in W. Geilman, *Bilder zur qualitatieven Mikroanalyse anorganischer Stoffe*. Leipzig, 1934.

§ 2. *Mikrochemische reakties*

De bedoeling van mikrochemische reakties is:

1. het aantonen van zeer kleine hoeveelheden.
2. indien mogelijk tevens de plaats te bepalen waar zich deze stoffen in de cellen bevinden. Deze localisatie is vaak veel bezwaarlijker dan het aantonen!

Hieronder volgen beproefde methoden voor het aantonen van verschillende elementen en verbindingen (zie Buxbauf. *Mikro-kosmos* XXIII).

Het is niet aan te raden zich als beginnend mikroskopist aan deze reacties te wagen. Hiertoe moet men enige ervaring in het mikroskopiseren bezitten en ook wat kennis der scheikunde!

A. *Anorganische stoffen*

Oef. 103. Aantonen van:

Calcium (Ca) in oxaalzure kalk als Raphiden (zie ook oef. 47) b.v. in schors van de vlier. Zeer grote kristallen in Quillaya-schors (in een apotheek te kopen). Eerst opweken in water!

De Ca wordt aangetoond:

1. Als koolzure kalk (CaCO_3) o.a. in Olmenhout. Het verstopt daar de vaten in het kernhout. Zacht verassen, dan houdt men gehele opvullingen over. Als zgn. Cystolithen in een blad van *Ficus elastica*. Na behandeling met zoutzuur (HCl) blijft de cellulose over.
2. als gips met geconc. zwavelzuur (H_2SO_4).
3. als kalium-kalk-carbonaat ($\text{K}_2\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$). Breng de snede in een druppel van gelijke delen van een 100 % kaliloog- (KOH) en van een verzadigde kalium-carbonaat-oplossing (K_2CO_3). Er ontstaan dan 6-hoekige kristallen van kaliumkalk of -carbonaat.
4. als Gaylussit (Calcium-natrium-carbonaat, $\text{Na}_2\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$) behandel het prep. als sub. 3 aangegeven, doch vervang de kaliloog door natronloog, NaOH . Er ontstaan dan rhombische kristallen met een scheef dak.

Oef. 104. Aantonen van *Chlorion*, dus van chloriden (Cl). Los 0,5—1 % zilvernitraat (AgNO_3) op in 10 % ammoniak (NH_4OH). Daarna laten verdampen, dan ziet men bij aanwezigheid van Chloor direkt kristallen, vaak octaëders, kubussen etc. van zwarte tot blauwe kleur.

Oef. 105. Aantonen van *ijzer*, Fe (b.v. in kiem van mosterd, veel in bronmos: *Fontinalis*). Dikwijls is het goed de doorsnede eerst met 5 % zoutzuur (HCl) uit te spoelen. IJzer komt in twee vormen voor, nl. ferri (3 waardig, Fe''') en ferro (2 waardig, Fe''). *Ferri zouten* aan te tonen met 2 % geelbloedloogzout (ferro-

cyaankali). Dikke sneden wel 24 uur hierin laten. Er ontstaat dan Berlijns blauw.

Ferro zouten aan te tonen met rood bloedloogzout-opl. er ontstaat dan Turnbull's blauw (waarschijnlijk identiek met Berlijns blauw).

Oef. 106. Aantonen van *Kalium* (K). Veel in tabak, ook in aardappel. De reactie geldt ook voor ammoniak, dus ook hierop onderzoeken met oef. 110, het resultaat moet dan negatief zijn. De beste reactie is: de snede in een 10 % opl. platinachloride. Er ontstaan dan gele octaeders en kubussen.

Oef. 107. Aantonen van *Magnesium* (Mg). Doorsnede leggen in opl. van 0,1 % natriumammonium-fosfaat en daarna blootstellen aan ammoniakdampen. Er ontstaat dan magnesium-ammonium-fosfaat, dat er uit ziet als sneeuwvlokken. Voor het aantonen in as eerst de as behandelen met zoutzuur (HCl) en het filtraat opzuigen in capillaire buisjes.

Oef. 108. Aantonen van *Fosforus* (P).

- a. een drup van een oplossing van ammoniummolybdaat geeft met fosfaten na lang staan (in vochtige kamer) of verwarmen tot 40—50° C, een geel neerslag, oplosbaar in ammoniak. Reguliere kristallen. Indien dit niet lukt dan eerst verassen en drup salpeterzuur toevoegen.
- b. meng 25 cc. van een geconc. waterige magnesiumsulfaatoplossing met 2 cc. geconc. chloorammoniumoplossing en voeg 15 cc. gedist. water toe. Voeg een drup van dit reagens bij de doorsnede, dan ontstaat, indien fosfaten aanwezig zijn, ammonium-magnesium-fosfaat. Indien het niet lukt, dan eerst wat ammoniak toevoegen en nog eens proberen.

Oef. 109. *Silicium* (kiesel, Si). Zie blz. 56.

Oef. 110. *Stikstof* (N) in ammoniakverbindingen.

Aantonen van *Ammonium* (NH₄) b.v. in de wortelknolletjes van vlinderbloemigen. In een vochtige kamer een doorsnede brengen, gelegen in een drup sterke kali- of natronloog (KOH of NaOH). Tegen het dekglas een (kleine) hangende drup platina-chloride-

oplossing, dan komen in *deze* drup ammonium-platina-chloride kristallen.

Oef. 111. Stikstof als nitraat-(NO₃) verbindingen.

- a. Een zeer gevoelige reactie is die met 0,05—0,1 gram diphenylamine in 10 cc. gec. zwavelzuur. Geeft een diepblauwe kleur met nitraten en nitrieten (doch niet in hout!).
- b. Los 0,2 gr. brucine op in 10 cc. gec. zwavelzuur. Geeft roodkleuring, ook in houtpreparaten.
- c. Nitron (van de firma Merck) geeft goed herkenbare kristallen.

Oef. 112. Zwavel (S) als korreltjes aan te tonen door ze op te lossen in zwavelkoolstof. Voor gebonden zwavel is geen betrouwbare mikrochemische reactie.

B. Organische verbindingen

Zie voor *zetmeel*, *inuline*, *cellulose* en *houtstof* blz. 55 en 57. Zie voor *looi*stof blz. 73. Zie voor *calcium oxalaat* blz. 63, voor *carotine* blz. 123. *Cellulose* lost op in koperoxyde ammoniak, blz. 35.

Oef. 113. Oxaalzuur (C₂H₂O₄) komt in veel planten voor. Aan te tonen als vrij zuur met calciumnitraat (Ca(NO₃)₂), daar dan calcium oxalaat ontstaat. Met zilvernitraat (AgNO₃) ontstaat zilveroxalaat, in de vorm van kleurloze rhombische kristallen met een spitse hoek van 58°. Als kalkzout zie bij oef. 103 en blz. 80). Oplosbare zout ervan Kalium vindt men o.a. in klaverzuring (Oxalis), zuring (Rumex), rhabarber (Rheum) en dolbes (Atropa); oplosbare natriumzouten in Salicornia en Salsola.

*Oef. 114. Wijnsteen*zuur (C₄H₆O₆) aan te tonen in druif en in Mahonia aquifolium. Vaak als tartraten o.a. in aardappel en topinamboer (Helianthus tuberosus). Aan te tonen als calciumtartraat door toevoeging van kalkwater. Er ontstaan 4-zijdige prisma's die sterk lichtbrekend zijn, gemakkelijk oplossen in kaliloog en in 2 % azijnzuur, doch moeilijk in geconc. azijnzuur. Neer te slaan met 20 % kaliumacetaat.

*Oef. 115. Amino*zuren aantonen is moeilijk voor beginners, slechts asparagine is vaak aan te tonen in geëtioleerde (in donker

gegroeide) kiemplanten. Met absolute alcohol (ethanol) wordt asparagine neergeslagen als rhombische prisma's met een hoek van 65° . In verzadigde asparagine oplossing lossen ze niet op.

Oef. 116. Olie aan te tonen (b.v. in veel planktonorganismen en in drijvende viseieren, in *Daphnia*'s) met osmiumzuur 0,1—1 % in water (denk om de ogen, de dampen zijn schadelijk!). Er ontstaat zwartkleuring. Na toevoeging van waterstof peroxyde (H_2O_2) wordt de kleur weer bleek. Bij oliedruppels is er, in tegenstelling met luchtbellen, eerst geen zwarte rand; wel echter bij hoger instellen. Zie ook oef. 22, blz. 63 en blz. 52.

Oef. 117. Vet is behalve door *Sudan III* (zie oef. 22) ook aan te tonen met *Nilblau B.B.* Neutrale vetten worden dan oranje-rood en vetzuren blauw.

Oef. 118. Eiwit aantonen is vaak niet heel gemakkelijk, daar vele reacties niet altijd doorgaan. Met *Joodglycerine* ontstaat geelkleuring, met *Millon's reagens* (salpeterzuur-kwik-oxydule) een lakrode kleur. Verg. ook oef. 19 en blz. 62 en 127.

Oef. 119. *Carotine* ($C_{40}H_{56}$ en $C_{40}H_{56}O_2$, xanthophyl). Breng een doorsnee van een peen (*Daucus carota*, ook delen van het blad) in het volgende mengsel (Molisch): 1 deel kaliloog, 2 dln. ethanol 40 %, 3 dln. water. Laat het plantendeel enige dagen in 't donker staan, in een goed gesloten fles. Leg nu de plantendelen een paar uur in gedist. water. Nu voegt men bij het prep. geconc. zwavelzuur. Er komen dan kristallen van kaliumsulfaat. Carotine met gec. zwavelzuur of salpeterzuur geeft blauwkleuring, met joodchlooralhydraat vuilgroen. Groene plantendelen kunnen ook direkt in geconc. zwavelzuur. De blauwe kleur komt eerst langzaam. Mooi is ook een blad van Waterpest (*Elodea*), en de draden van *Zygnema*; fraai is ook het Tarweblad, melde, enz. enz.

Oef. 120. *Vitamine-C* = Ascorbinezuur. Zure zilvernitraatopl. (100 ccm gedist. water, 10 gr. $AgNO_3$, 1 gr. ijsazijn) wordt tot zwart zilver gereduceerd. Methyleenblauw wordt kleurloos. Dichloorfenol-indofenol (Tillman's reagens) wordt ook kleurloos. (Verkrijgbaar bij Hoffmann-La Roche Bazel en Merck Darmstadt). Een tablet wordt opgelost in water, hiermee wordt een

filterpapier gedrenkt. Men knipt hieruit een stukje en houdt dit bij plantsap. Het blauwe papiertje wordt wit (zeer snel) als er veel ascorbinezuur is.

Oef. 121. Eiwit in urine. Verhit urine tot kookpunt na bijvoeging van een druppel 6 % azijnzuur. Ontstaat bij het koken een neerslag, dan kunen het fosfaten zijn of eiwit. Bij overmaat zuur (azijnzuur of salpeterzuur) lossen de fosfaten op. Blijft het neerslag of de troebeling bij overmaat zuur dan is eiwit aanwezig.

Oef. 122. Suiker in de urine (meest dextrose in sommige gevallen galactose). Voeg Fehling A (d.i. een opl. van kopersulfaat 7 %) bij Fehling B (d.i. een opl. van kalium-natrium-tartraat = seignettezout, 173 gr. op 100 cc NaOH off. aangevuld tot 500 ccm water). (N.b. deze oplossingen gescheiden houden tot zij gebruikt worden!) Kook deze opl. van Fehling A plus B. Kook in een ander buisje een even groot volume urine. Voeg daarna deze opl. aan de urine toe: bij aanwezigheid van een suiker treedt, na enige tijd, een geelrood neerslag van koperoxydule op.

Oef. 122a. Tegenwoordig worden allerlei reagentia in de handel gebracht, die al op filterpapiertjes etc. zijn aangebracht waarmee men dus uiterst snel urine kan onderzoeken op bepaalde stoffen: clintest (suikers); clintistix (uitsluitend glucose), albustix (albumine, dus eiwit); acetest (aceton); ictotest (bilirubine = galkleurstof); phenestix (fenylketon). Deze reagentia worden vervaardigd door Ames Co. en zijn verkrijgbaar bij Willpharma (Amsterdam).

Oef. 123. Bloed in ontlasting, of in maaginhoud. Voeg hierbij $\frac{1}{6}$ van het volume gec. azijnzuur en wat water, en voeg daarna enige ccm ether toe (het best in een scheitrecther). Soms kan men het best enkele druppels ethylalcohol (ethanol) toevoegen, als de ether zich niet goed afscheidt. Is er bloed aanwezig, dan is de ether roodbruin. Het bewijs dat dit werkelijk bloed is, wordt als volgt gegeven: neem 5 ccm ethanol-Guajacopl. en 5 ccm oude terpentijn of waterstofsperoxyde (H_2O_2). Voeg hierbij de helft van het

¹⁾ Daar de mikroskopist in de meeste gevallen wel „de onderzoeker thuis” zal zijn, zijn enkele zuiver chemische reacties bijgevoegd.

etherextract en vergelijk de buisjes na enige minuten: is bloed aanwezig dan is er een intensieve blauwkleuring.

Oef. 123a. Benzidine-reaktie van Adler voor het aantonen van bloed in de ontlasting. Men lost een mespunt benzidine onder verwarming op in 1 cm³ ethanol 96 % en voegt daarna 2 cm³ waterstof-peroxyde 3 % en 1 cm³ ijsazijn toe. Men verdeelt de benzidine-oplossing (+ de andere ingrediënten!) over 2 reageerbuisjes en voegt aan één hiervan enkele druppels van de te onderzoeken stof toe. Indien binnen 2 minuten een groene (bij grote hoeveelheden een blauwe) kleur optreedt, is er haemoglobine (dus bloed) aanwezig. De controleoplossing mag niet van kleur veranderen. Deze reaktie is uiterst gevoelig (haast tē gevoelig) en sommigen beweren dat na het eten van bananen de reaktie ook positief is.

Oef. 124. In Microwereld (3de jaarg. 1, jan. 1948 en 2, febr. 1948) gaf C. van Duyn Jr. het volgende schema voor mikrochemisch onderzoek van plantendelen:

1. Breng het objekt in *chloorzinkjodiumoplossing*.
Er ontstaat: a. roodkleuring, *looistoffen*;
b. violetkleuring, *looistoffen*;
c. blauwkleuring:
I. amorphe celbestanddelen, *sljmstoffen*;
II. korrels, *zetmeel* (zie oef. Hfdst. II § 1);
III. in de celwanden, *cellulose*;
d. geelkleuring: neem vers materiaal en ga verder volgens 2.
2. Breng een vers objekt in *floroglucine-zoutzuur*.
Er ontstaat: a. roodkleuring, *houtstoffen*;
b. geen roodkleuring, ga verder volgens 3.
3. Breng een vers objekt in Fehling's reagens en verwarm even.
Er ontstaat: a. een oranjebruin neerslag, *reducerende suikers*;
b. violetkleuring (geen neersl.), *saccharose* (rietsuiker);
c. geen reaktie: ga verder volgens 4.
4. Breng een vers objekt in *alkanna-tinctuur*.
Er ontstaat: a. roodkleuring, *harsen*;
b. geen reaktie: ga verder volgens 5.
5. Breng een vers objekt in *water*.
a. ronde, kristallijne celbestanddelen, *inuline*;
b. hoekige, kristallijne celbestanddelen; ga verder volgens 6.
6. Voeg aan hetzelfde objekt toe *zoutzuur* 10—15 % (handeloplossing is 25 %):

- a. de kristallen lossen niet of weinig op, *calciumsulfaat*;
- b. de kristallen lossen onder opbruising op, *calciumcarbonaat*;
- c. de kristallen lossen zonder opbruising op, ga verder volgens 7.
- 7. Breng een vers object in verdunde, neutrale, *zilvernitraatoplossing*.
Er ontstaat: a. geelkleuring, *calciumfosfaat*;
b. geen geelkleuring, *calciumcarbonaat*.
- 8. Breng een vers object in *Sudan III-glycerol*, even voorzichtig verhitten, tot er dampen van af komen.
Er ontstaat: a. roodkleuring, ga verder volgens 9.
b. geen roodkleuring, ga verder volgens 11.
- 9. Breng een vers object in koude, *absolute ethanol*.
a. de bij 8 roodgekleurde bestanddelen blijken te zijn opgelost; *etherische oliën*;
b. zijn zij niet opgelost: ga verder volgens 10.
- 10. Breng een vers object in *ether*.
a. oorspronkelijk sferische massa's blijken te zijn opgelost, *vetten*;
b. onopgeloste bestanddelen aanwezig, ga verder volgens 11.
- 11. Breng een vers object in *Millon's reagens* (even verwarmen, oef. 118).
Er ontstaat: a. roodkleuring, *gom*;
N.B. eiwitstoffen kleuren ook rood, maar deze hebben *geen reactie* gegeven met Sudan III-glycerol (sub 8).
b. geen roodkleuring, *kurk*.
- 12. Breng een vers object op een metalen spatel en verhit in de vlam.
a. verbranden zonder as, *gom*;
b. bij het verbranden blijft een skelet achter (bezien bij opvallend licht onder het mikroskoop!), *kieselzuur* (zie blz. 56).

KOOLHYDRATEN

Zetmeel, zie Hoofdstuk 2, § 1, blz. 55.

Dextrine: met joodjoodkalium een roodviolet of roodbruine kleur.

Cellulose, zie Hoofdstuk 2, § 1.

Pectine: object enkele minuten in een oplossing van a, b of c en daarna afspoelen met water tot geen kleurstof meer wordt afgegeven. Liefst alle reacties achter elkaar uitvoeren, met nieuwe objecten!

- a. safranine geeft geelkleuring;
- b. methyleenblauw geeft violetblauw;
- c. rutheniumrood geeft rood.

Callose kleurt zich blauw met anilineblauw.

Ligninen of *houtstoffen*, zie Hoofdstuk 2, § 1 (blz. 55).

Chitine (bij schimmels, de Groenwier Botrydium, Insecten).

- a. Object 24 uur in diafanol (chloor-dioxyd-azijnzuur), goed uitwassen met water en daarna bedruppelen met chloorzinkjodium (blauwkleuring);

- b. Objekt achtereenvolgens behandelen met 5—10 % kaliloog; kokend zwavelzuur 10 %, ethanol 96 %; ether. Wat overblijft is chitine. Men voegt nu warm geconcentreerd zoutzuur toe (38 %), dan vormen zich kristallen van glucosamine. (N.B. deze reacties niet onder 't mikroskoop doen, de dampen tasten het instrument aan! Het preparaat met dekglas bedekken, alvorens het te bekijken!).

Suikers.

- a. Reactie van *Molisch*. Objekt in een druppel van 15—20 % alfa-naftol of thymol in ethanol, daarna 2—3 druppels geconc. zwavelzuur erop druppelen. Met alfa-naftol ontstaat een violette, met thymol een cinnaber- tot karmijnrode kleur. Deze reactie is uiterst gevoelig, nl. tot 0,000,01 %, maar er zijn ook andere verbindingen dan vrije suikers die deze reactie geven (meest eiwitten die zich verbonden hebben met een koolhydraat en dan die groep afsplitsen. Dus ook op eiwit onderzoeken!)

Saccharose, lactose, maltose, glucose, fructose en inuline geven deze reactie.

- b. Fenyldiazine volgens *Senft*. Objekt brengen in mengsel van 1 druppel 10 % natriumacetaat in glycerol met 1 druppel 10 % fenyldiazine-hydrochloride in glycerol. Het prep. langdurig laten staan, er vormen zich dan osazonkristallen, die onoplosbaar zijn in 30 % kaliloog en in 60 % chloralhydraat.

Fructose geeft na enkele uren glucosazon: naaldvormige kristallen, die zich vaak verenigen tot op korenaren gelijkende bundels.

Glucose geeft diezelfde kristallen, doch eerst na meer dan 24 uur.

Maltose geeft, na verhitting van meer dan 1 uur gele stroopachtige druppels van maltose-fenyldiazon. Pas na zeer lange tijd (soms weken!) scheiden zich citroengele, op kleine zonnetjes gelijkende maltosazon-kristallen af.

Inuline zie oef. 5.

EIWITTEN

- a. *Millon's reagens*, zie oef. 118 en blz. 129 onderaan.
- b. *Xanthoproteïne*-reactie. Breng het objekt in 50 % salpeterzuur en verwarm tot begin van koken. Er ontstaat dan geelkleuring (dit geschiedt ook met de huid, als deze in aanraking komt met HNO_3 !) Men voegt dan, na afkoeling, overmaat van natronloog toe, de kleur wordt hierop oranje-rood. N.B. Enkele harsen en alcaloïden geven deze reactie ook.
- c. Reactie van *Raspail*. Breng het objekt in een geconc. oplossing van rietsuiker (saccharose) en voeg daarna 1 druppel sterk zwavelzuur toe: roodkleuring. N.B. Deze reactie wordt ook gegeven door oliën en door stoffen met een aromatische kern, terwijl niet alle eiwitstoffen deze reactie geven (b.v. rhodospasmine niet).

- d. *Reaktie van Gueзда*. Breng een objekt in een geconc. oplossing van nikkelsulfaat in ammonia. Er ontstaat een gele of blauwe kleur. Deze laatste gaat bij toevoeging van kaliloog over in oranjegeel. *Tannine*, looizuur, geeft eveneens blauwkleuring, maar door kaliloog wordt de kleur niet veranderd (verg. blz. 73).
Catechu wordt geel gekleurd.
- e. met joodjoodkalium ontstaat geelkleuring.
- f. met picrinezuur (1 % opl. in water) ontstaat sterke geelkleuring.
N.B. Cellulose geeft deze reaktie ook, dus ook hierop onderzoeken!

Oef. 125. Indien men op bovenstaande wijze in het algemeen eiwitten heeft aangetoond kan men nog, op een globale wijze, enkele bijzondere soorten van eiwitten onderscheiden, door de volgende reakties:

- a. *Blurectreactie*. Breng het objekt in een verzadigde oplossing van kopersulfaat. Spoel goed uit (b.v. door het objekt een uur in water te leggen) en breng op het objekt, op het objektglas, een druppel 10—15 % opl. van natronloog of van 15—20 % kaliloog:
zwak-violet: *gliadine* uit boekweit;
fibrine uit maïs;
rood-violet: *legumine* uit erwten;
vitelline uit meloen en pompoen;
blauwviolet: *caseïne*;
fibrine uit boekweit en rogge;
azuurviolet: *legumine* uit bonen (*Vicia faba*);
purperrood: *peptonen*.

- b. *Reaktie van Mikosch*. Breng het objekt gedurende korte tijd in een zwakke alcoholische oplossing van *benzaldehyde*, zuig met filtreerpapier de vloeistof weg, tot het objekt bijna droog is en voeg dan zwavelzuur 45 % toe, met een spoortje ferrosulfaat. Verwarm even.

Er ontstaat een kleuring:

Blauw: *legumine*, *caseïne*, bloedfibrine, albumine. (N.B. Dezelfde reaktie geven: emulsine, pepsine, veratrine en furfurol!).

Violet: glutine.

N.B. Dezelfde reaktie geven de niet-eiwitstoffen *papaïne* en *coniferine*.

Geelbruin: plantenfibrine (dierlijk fibrine kleurt zwak geel).

Geel of bruin: de niet-eiwitstoffen: *arbutine*, arabische gom, *asparagine*, *atropine*, *brucine*, *coffeïne*, *methylamine*, *morphine*, olijfolie, *oxaalzuur*, *papaverine*, *picrotoxine*, *saccharose*, *tannine* (looizuur) en *vanilline*.

Steenrood neerslag: *salicine*. (N.B. een glucoside, geen eiwit!).

Roodbruine oplossing: *narcine*. (N.B. een alcaloïd, geen eiwit).

Carmijnrode oplossing, die later violet wordt: solanine. (N.B. een glucoside, geen eiwit).

Volutine. Deze eiwitstof (samenstelling nog onbekend) is het eerst gevonden bij een Bacterie (*Spirillum volutans*) maar later bij vele Thallophyten en ook in de globoïden der aleuronkorrels, zie oef. 19 en 21, blz. 62.

- a. Kleur het objekt zeer sterk met methyleenblauw oplossing (1 deel verzadigde ethanol oplossing van methylblauw verdunnen met 9 delen water). Spoel zeer goed uit met 1 % zwavelzuur tot geen kleurstof meer wordt afgegeven. Alleen het volutine is nog intensief blauw gekleurd, de overige celbestanddelen hebben de kleur verloren.
- b. Kleur het objekt als bij a, maar was het daarna uit het joodjoodkalium. Het volutine wordt zwartachtig gekleurd, het protoplasma-eiwit geel tot bruin.
- c. Kleur zeer sterk met fenolfuchsine (oef. 162) en trek de overmaat kleurstof weg met 1 % zwavelzuur. Het volutine krijgt een zwarte kleur, die verdwijnt met 5 % zwavelzuur.
- d. Kokend water lost volutine op, door harding met formaline gedurende een half uur wordt het onoplosbaar.
N.B. Men dient eraan te denken, dat door Eau de Javelle en andere middelen die chloorhoudend zijn, het volutine binnen 5 min. zo veranderd wordt, dat het niet meer kan worden aangetoond met bovenstaande reakties!

Oef. 126. Vetten.

Meestal toont men vetten aan met Sudan III (zie oef. 22, blz. 63) en hierdoor worden ook etherische oliën en kurk rood gekleurd. (Voor kurk zie fig. 47, blz. 84).

Legt men een objekt een tijdje in ethanol, dan lossen de etherische oliën op, de vetten niet.

Men kan ook Sudan IV (= Scharlach R) gebruiken.

Wil men in schimmels oliedruppels aantonen, dan is het 't beste de Sudan III op te lossen in melkzuur.

Men legt dan het objekt in die oplossing en verhit tot de dampen eraf komen. Na afkoeling direkt onder het mikroskoop onderzoeken. De kleur lost in water op, dus niet daarmee verdunnen! Zo nodig wat ethanol toevoegen.

Kleur met alkannine: vetten, etherische oliën, harsen en caoutchouc worden intensief rood gekleurd, andere stoffen weinig of niet.

Recept *Millon's reagens*.

Los 1 cc. kwikzilver op in 17 cc. salpeterzuur met een s.g. van 1,42 (= 70 %) en voeg na oplossing 35 cc. water toe.

PLANKTONSTUDIE

Men vat onder de naam *plankton* samen al die kleinere organismen, die, ofschoon ze vaak wel bewegingsorganen bezitten, toch meer zweven dan zwemmen en bij iedere golfslag weggespoeld worden. Plankton komt èn in de zee èn in zoetwater voor. Het speelt een grote rol in de natuur, zowel bij biologische zelfreiniging der wateren als voor visvoeder.

Onder biologische zelfreiniging verstaat men het verschijnsel, dat afval (b.v. van fabrieken, uit riolen) na betrekkelijk korte tijd geheel verdwenen is, als men het in (stromend) water brengt.

Men onderscheidt bij de *biologische zelfreiniging van het water* de volgende stadia:

- a. *polysaproob*. Rotting en gisting. Zeer weinig zuurstof. Meest bacteriën die de stoffen aantasten. Fijn verdeelde stoffen hebben in verhouding een groot oppervlak, zodat zij de bacteriën een groot aantastingsoppervlak bieden (b.v. stinksloot). Het is rijk aan voedsel (eutroof), doch slechts weinig organismen zijn bestand tegen 't leven in een omgeving met zo weinig zuurstof. Op de bodem kokerwormpjes (Tubifex), in 't water vliegenlarven (Chironomus) met haemoglobine, waardoor zij de weinige zuurstof aan zich kunnen trekken.
- b. *mesosaproob* (nog weer in twee delen α en β). Iets meer zuurstof. Groene plantjes beginnen. Diatomeeën of kiezelwieren. Vele Eencelligen (Protozoën) eten de Bacteriën op en eten kleine deeltjes vuil. Enkele *raderdiertjes* (Rotatoren) en wormpjes (Nematoden). Onder deze organismen b.v. Zwanenhalsdiertje = Lionotus; Pantoffeldiertje = Paramecium; Trompetdiertje = Stentor; een soort klokdiertje = Vorticella en Carchesium. Van de raderdiertjes: Brachionus en Rotifer. Vaak ook Euglena, Pandorina, Synura. Van de Diatomeeën veel Asterionella, Synedra, Tabellaria, Fragillaria. Meestal ook reeds enkele *Cyclops*-soorten en *Daphnia*'s.

- c. *Oligosaproob*. Vrij veel zuurstof. Groene planten. Veel *Cyclops* en *Daphnia*, die zich voeden met de ééncelligen enz. en zelf door vissen worden gegeten.

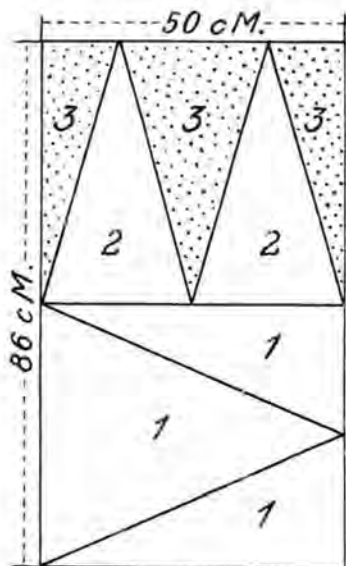


Fig. 84. Hoe men uit een halve meter planktongaas 3 netten kan maken.
n. Schürig.

Veel plankton leeft in zee: *Noctiluca* = zeevonk, die 't lichten veroorzaakt en *Ceratium*. Van de Diatomeeën veel *Rhizosolenia*, *Coscinodiscus*, *Biddulphia*, *Thalassiosira*, *Eucampia*, *Chaetoceras*. Verder veel larven van hogere dieren.

De Foraminiferen voeden zich vooral met veel vuil (detritus), de zeevonk eet kleinere organismen. Wil men het plankton goed bestuderen dan is hiertoe nodig een planktonnet, gemaakt van planktongaas, van mousseline of van vaak gewassen linnen of katoen. Het eerstgenoemde is het beste, doch duur.

Onder aan 't net moet men een kraan hebben, of een koperen bus met een klemring, waarin men vaak een nieuw lapje zet of een koperen (of glazen) gedeelte,

dat men gemakkelijk af kan schroeven. (Ik zag eens een goed werkend net, waarbij men hiertoe had gebruikt een jampotje, waarbij in het deksel een gat was gemaakt!). Desnoods make men onder aan het net een stevig stuk gummislang met klemkraan. Een heel eenvoudig planktonnet (dat echter goed werkt!) kan men vervaardigen van katoen, met als verzamelvat een reageerbuis. Goed planktongaas heeft mazen van $\pm 5-7$ mikron.

Men gebruike liever geen ijzerdraad, doch dik koperdraad of vertind draad (dat niet roest). De plaats van de aanhechting der touwen buige men uit, geen ringen aan solderen! De touwen hale men zo nu en dan door gesmolten paraffine, zo nodig door kaars-

vet (in een lage metalen schaal). Het bovenstuk van 't net kan zeer goed gemaakt worden uit dubbeldik ongebleekt katoen. Het net neme men niet langer dan 50 cm. Uit fig. 84 ziet men, hoe men uit één stuk planktonzij, van 86 cm breed en 50 cm lang, drie netten kan knippen. De kraan is bevestigd met een stuk gummislang. Aan de onderrand bevestige men het planktongaas tussen twee koperen ringen. Tussen deze beide bringe men een strookje gummi, het net slijt dan minder!

Afschrappen van houtwerk in water kan ook heel wat opleveren.

Voor *quantitatief* onderzoek en voor het onderzoek van bodemorganismen is zeer geschikt een blikken bus met hals (oude tinnen kan is zeer goed!). Aan de bodem bevestige men een ijzeren ring, die 1 cm naar buiten uitsteekt. Men giete in deze ring lood en bevestige hierin tevens een ring, die ± 3 cm uitsteekt. Nu bevestige men aan een lange lijn een haak. In het oogje van de haak worden bovendien twee touwen vastgeknoopt, die om de hals van de bus lopen. Om deze hals is ook een touw gebonden, dat een gewicht (b.v. een zware steen) draagt.

In de hals van de bus duwt men een kurk, met een middellijn, die wat groter is dan de middellijn van de hals.

Stoot deze bus op de grond, dan wipt de haak uit de ring, de bus vult zich en draait om. Doordat de kurk nu de hals afsluit, komen geen andere organismen binnen (fig. 86).

Met behulp van een *centrifuge* kan men het plankton „concentreren”. Het tellen geschiedt met een „telkamer”, een objektglas, dat in ruitjes is verdeeld. Te koop in de handel.

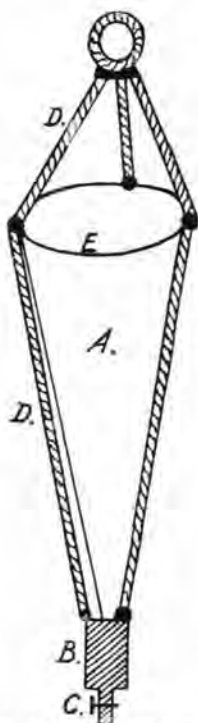


Fig. 85. *a* = zak van planktongaas, *b* = vat waarin de vangst verzameld wordt, *c* = kraan, *d* = goed ingevette touwen, *e* = bovenste ring van goed gegalvaniseerd of gelakt ijzerdraad of koperdraad.

Een nieuw instrument om de bodemorganismen te verkrijgen is beschreven door Kahl in Mikrokosmos XXVII Heft 7.

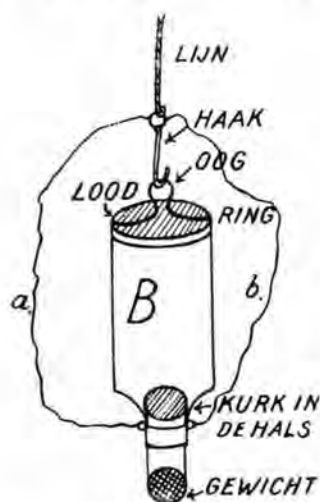


Fig. 86. Instrument voor kwantitatief werk en voor de vangst van dieren van de bodem (*n. Schürig*). *B* = Blikken bus. In de hals is een kurk geduwd. Om de hals hangt aan een paar koperdraadjes een gewicht. Op de bodem is bevestigd een ijzeren ring, en de ruimte hierbinnen is opgevuld met gesmolten lood, waarin een oogje is bevestigd. Hierin slaat men de haak van de lijn. Stoot de blikken bus op de bodem, dan wipt de haak uit het oog en de bus draait om. De bus hangt dan aan de koperdraden *a* en *b*. De kurk sluit dan de hals af.

De planktonstudie zal een ontelbaar aantal oefeningen kunnen vullen, want de planktonorganismen wisselen met het jaargetijde en tevens met veranderingen in het milieu (zout-, zoetwater, verontreiniging enz.). Veel larven van hogere dieren leven in 't plankton. Voor het determineren zie fig. 87—92 en verder de boeken op blz. 147 genoemd.

Men kan plankton vrij goed bewaren, door bij de monsters formaline te voegen. Het mengsel moet $\pm 3\%$ worden. Beter is: conserveren in 1 dl. formaline 40%, 1 dl. houtazijn rect., 1 dl. methylalcohol. Uitwassen met water, bewaren in ethylalcohol 70%. Om levend materiaal nauwkeurig te kunnen onderzoeken is het vaak gewenst op 5 cc. water toe te voegen 1 drup van een verzadigde Chinosol opl. (tabletten verkrijgbaar bij apothekers en drogisten).

Om de beweeglijkheid te verminderen gebruikt men vaak slijm van *kweepitten* (4 gr. kweepitten in 100 gr. koud water laten zwellen; direkt gebruiken!). Ook gebruikt men wel chloreton-

Zie verder blz. 145

Schizophyceae:

- 1 *o* Chroococcus limneticus.
- 2 *o* [βm Microcystis aeruginosa.
- 3 *o* Merismopedia glauca.
- 4 *o* [βm Oscillatoria agardhii.
- 5 βm — limosa.
- 6 *p* βm Sipulina (Arthrospira) jenneri.
- 7 *am* Phormidium uncinatum.
- 8 Nostoc species.
- 9 *o* [*am* Anabaena spiroides.
- 10 [βm Aphanizomenon flos aquae.
- 11 *o* Tolypothrix lanata.
- 12 *o* Rivularia (Gloiotrichia) echinulata.

Schizomycetes

(als aanhangsel):

- 13 Micrococcus phosphoreus.
- 14 βm Lampropedia hyalina.
- 15 *p* ! Sarcina ventriculi.
- 16 Azotobacter chroococcum.
- 17 *p* ! Bacterium vulgare.
- 18 Bacillus subtilis.
- 19 Pseudomonas fluorescens.
- 20 *am* [*p* Spirillum undula.

Verklaring fig. 86

- 21 *p am* Sphaerotilus natans.
- 22 βm Cladotrix dichotoma.
- 23 [*p* Zoogloea ramigera.
- 24 *p* — uva.
- 25 *p m o* Beggiatoa alba.
- 26 *p* Thiothrix nivea.
- 27 Lamprocystis roseopersicina.
- 28 *p* ? Chromatium okenii.

Chrysomonadales:

- 29 *o* Mallomonas acaroides.
- 30 *o* [βm Synura uvella.
- 31 Uroglena volvox.
- 32 *o* Dinobryon sertularia.

Silicoflagellata:

- 33 Distephanus speculum.

Coccosphaerales:

- 34 Pontosphaera huxleyi.

Cryptomonadales:

- 35 [βm Cryptomonas erosa.

Euglenales:

- 36 *p am* Euglena viridis.

- 37 *o* [βm Phacus longicauda.
- 38 [βm Trachelomonas hispida.
- 39 [βm — volvocina.

Peridinales:

- 40 *o* Ceratium hirundinella.
- 41 Ceratium tripos.
- 42 Peridinium divergens.
- 43 *o* — tabulatum.

Bacillariales

(Diatomaceae):

- 44 *o* Melosira granulata.
- 45 [βm ! — varians.
- 46 [βm ! Stephanodiscus hantzschianus.
- 47 Triceratium favus.
- 48 *o* βm Fragilaria crotonensis.
- 49 *o* — capucina.
- 50 *o m* Synedra ulna.
- 51 *o* [βm — acus.
- 52 *o* [βm Asterionella formosa.
- 53 *o* [βm Diatoma elongatum.
- 54 *o* Tabellaria flocculosa.
- 55 *o* — fenestrata.
- 56 $\beta m am$ Rhoicosphenia curvata.
- 57 $\alpha \beta m$ Cocconeis pediculus.

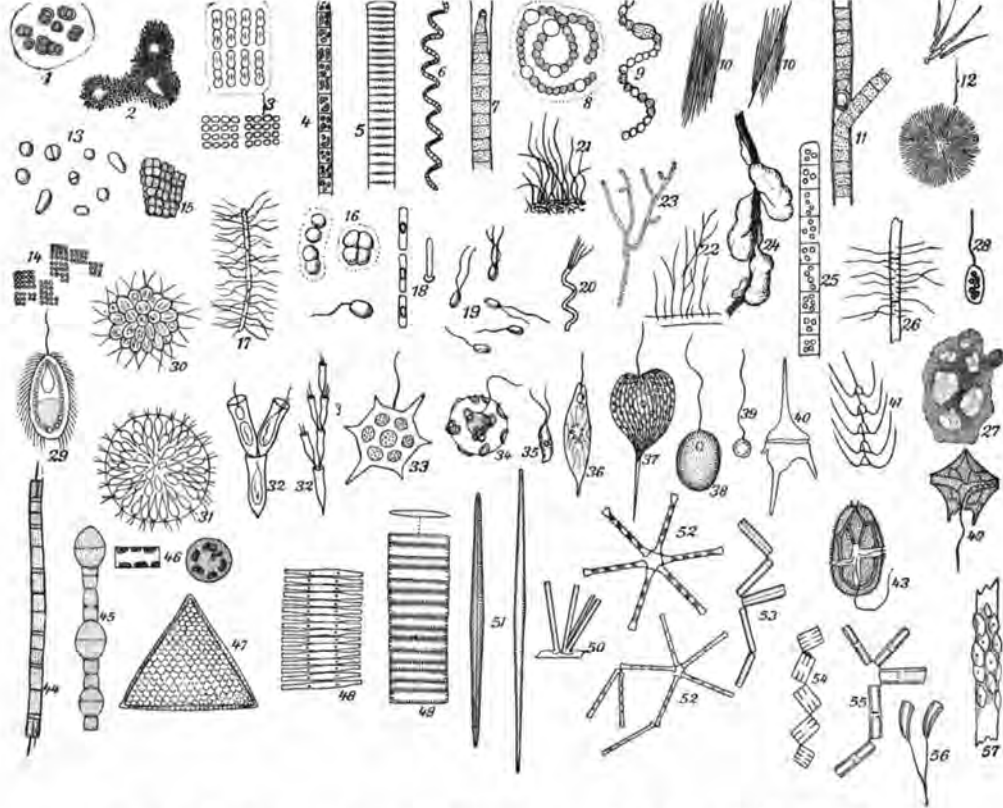


Fig. 87. *p* = polysaproob, *am* = sterk mesosaproob, *βm* = minder mesosaproob.
o = oligosaproob, [= indien talrijk aanwezig, != typisch.

Verklaring fig. 88

- 58 *o* Navicula (Pinnularia) nobilis.
 59 *o* — — viridis.
 60 βm Navicula cryptocephala.
 61 βm — atomus.
 62 βm — cuspidata.
 63 βm Stauroneis phoenicenteron.
 64 *o* βm Amphipleura pellucida.
 65 *o* Pleurosigma acuminatum.
 66 *o* Gomphonema acuminatum.
 67 *o* Cymbella lanceolata.
 68 *o* Amphora ovalis.
 69 *o* Epithemia turgida.
 70 *o* βm Nitzschia sigmoidea.
 71 βm — acicularis.

- 72 *am* ! Hantzschia (Nitzschia) amphioxys.
 73 *o* Cymatopleura solea.
 74 *o* Surirella biseriata.

Conjugatae:

- 75 *o* Closterium moniliferum.
 76 βm Cosmarium botrytis.
 77 *o* Staurastrum gracile.
 78 *o* Mougeotia genuflexa.
 79 Spirogyra porticales.
 80 *o* βm Zygnema stellinum.

Protococcales:

- 81 [*m* Chlamydomona. species.
 82 [*p* Polytoma uvella.
 83 *o* βm Pandorina morum.

- 84 βm Eudorina elegans.
 85 *o* βm Volvox aureus.
 86 *o* [βm Rhaphidium polymorphum.
 87 *o* [βm Scenedesmus acutus.
 88 *o* [βm — quadricauda.
 89 *o* [βm Pediastrum boryanum.
 90 *o* Actinastrum hantzschii.
 91 [βm Richteriella botryoides.

Confervales:

- 92 *o* Ulothrix zonata.
 93 βm Conferva bombycina.
 94 *am* βm Stigeoclonium tenue.
 95 [βm Oedogonium rivulare.
 96 Cladophora fracta.
 97 Vaucheria species.

Fig. 87—89. Uit: Kolkwitz, Pflanzenphysiologie.
 Fig. 87—89. Planten uit het zoetwaterplankton.

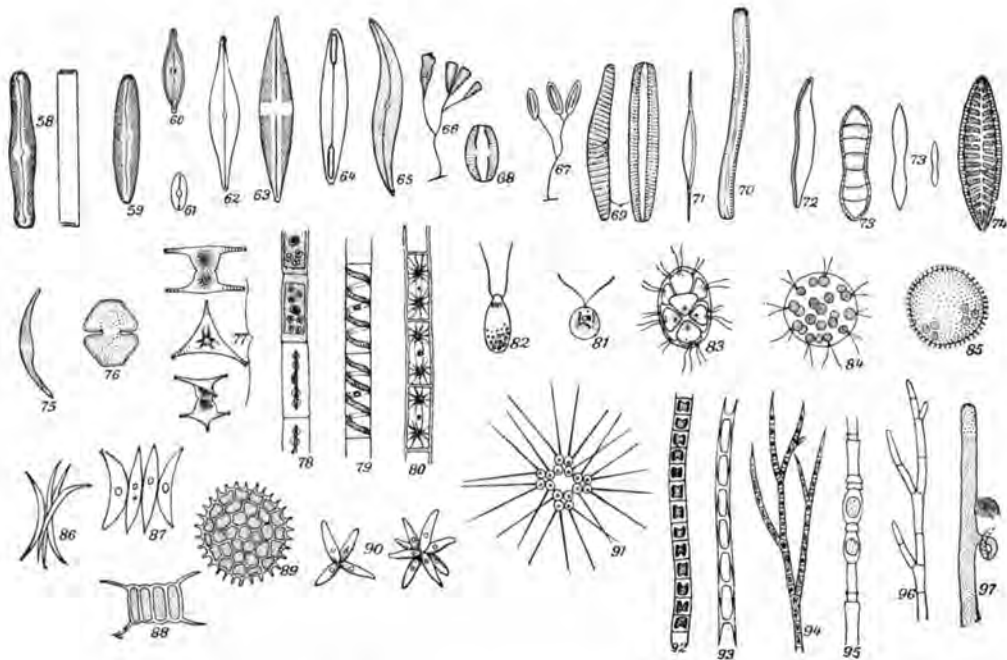


Fig. 88. *p* = polysaproob, *am* = sterk mesosaproob, *βm* = minder mesosaproob,
o = oligosaproob, [= indien talrijk aanwezig. ! = typisch.

Rhizopoda:

- 1 *o* Amoeba proteus.
- 2 *p* βm Amoeba (Hyalodiscus) limax.
- 3 *o* βm Diffugia pyriformis.
- 4 βm [*am* Arcella vulgaris.
- 5 *o* Cyphoderia margaritacea.
- 6 βm Euglypha alveolata.
- 7 α Trinema enchelys.
- 8 *am* Diplophrys archeri.

Heliozoa:

- 9 βm [*am* Actinophrys sol.
- 10 *am* βm Actinosphaerium eichhorni.

Flagellata:

- 11 *o* Diplosiga frequentissima.
- 12 *am* Monas vivipara.
- 13 *am* Bodo ovatus.
- 14 *am* ! Anthophysa vegetans.
- 15 *am* Spirochaete plicatilis.

Verklaring van fig. 89

Ciliata:

- 16 βm [*am* Coleps hirtus.
- 17 βm *am* Lionotus (Loxophyllum) fasciola.
- 18 *am* Colpidium colpoda.
- 19 βm *am* Chilodon cucullulus.
- 20 *am* βm Glaucoma scintillans.
- 21 *am* Paramaecium caudatum.
- 22 βm Halteria grandinella.
- 23 βm [*am* Spirostomum ambiguum.
- 24 *am* βm Stentor roeseli.
- 25 *am* βm Stylonychia mytilus.
- 26 βm *am* Euplotes charon.
- 27 *p* *am* Vorticella microstoma.
- 28 *am* βm Epistylis plicatilis.
- 29 *am* Carchesium lachmanni.

Suctoria:

- 30 βm Acineta grandis.

Spongiae:

- 31 βm Spongilla (Euspongilla) lacustris.

Hydroidea:

- 32 *o* βm Hydra fusca.

Vermes:

- 33 *o* Planaria gonocephala.
 - 34 βm *am* Nephelis vulgaris.
 - 35 *p* βm Tubifex revilorum.
- Veel Nematoden: *am* βm .

Rotatoria:

- 36 *am* Callidina elegans.
- 37 *am* *p* Rotifer actinurus.
- 38 *o* βm Philodina aculeata.
- 39 *o* βm Asplanchna priodonta.
- 40 βm *o* Synchaeta tremula.
- 41 βm *o* Polyarthra platyptera.
- 42 *o* βm Euchlanis dilatata.
- 43 βm *o* Colorus species.
- 44 βm Brachionus urceolaris.
- 45 *o* βm Anuraea aculeata.
- 46 *o* βm Anuraea cochlearis.

Fig. 89. Dieren uit het zoetwaterplankton. n. Kolkwitz.

De vergroting wisselt.

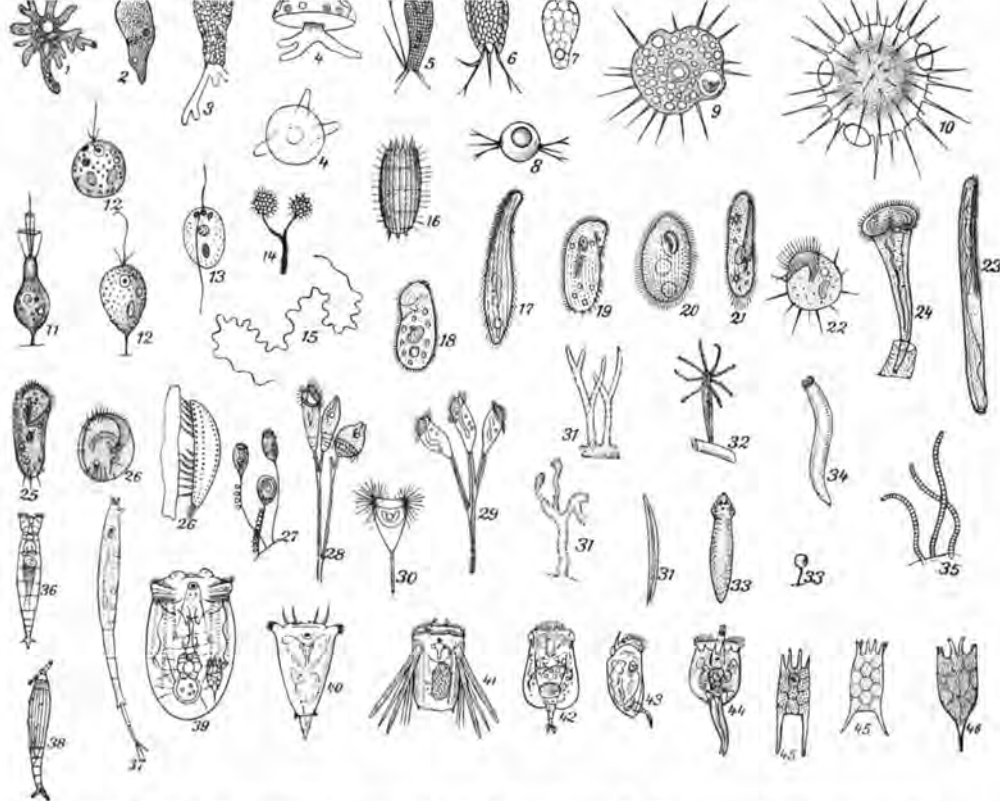


Fig. 89. *o* = oligosaproob, *am* = vrij veel mesosaproob, *βm* = minder mesosaproob.
p = polysaproob, ! = typisch, indien zeer veel aanwezig.

Verklaring van fig. 90.

Diatomeeën uit de zee.

1. *Coscinodiscus concinnus*, W. Smith; $\times 35$.
2. idem van boven; $\times 35$.
3. *Coscinodiscus grani*, Gough; $\times 35$.
4. *Coscinodiscus radiatus*, Ehrenberg; $\times 100$.
- 5, 6, 7. *Coscinodiscus lineatus*, Ehrenberg; $\times 100$.
8. *Biddulphia mobiliensis* „forma regia” (Bail.); $\times 30$.
9. *Biddulphia sinensis*, Grev.; $\times 30$.
10. *Biddulphia mobilensis* (Bail.); $\times 30$.
- 11, 12. *Thalassiosira nordenskioldii*, Cleve; $\times 70$.
13. *Biddulphia mobiliensis* (Bail.); $\times 30$.
14. *Coscinosira polychorda* (Gran.); $\times 70$.
- 15, 16. *Lauderia borealis*, Gran.; $\times 70$.
- 17, 18. *Thalassiosira gravida*, Cleve; $\times 70$.
19. *Melosira borneri*, Grev.; $\times 30$.

Diatomeeën zijn zeer verschillend in grootte, de opgegeven vergrotingen zijn dus slechts benaderingen.

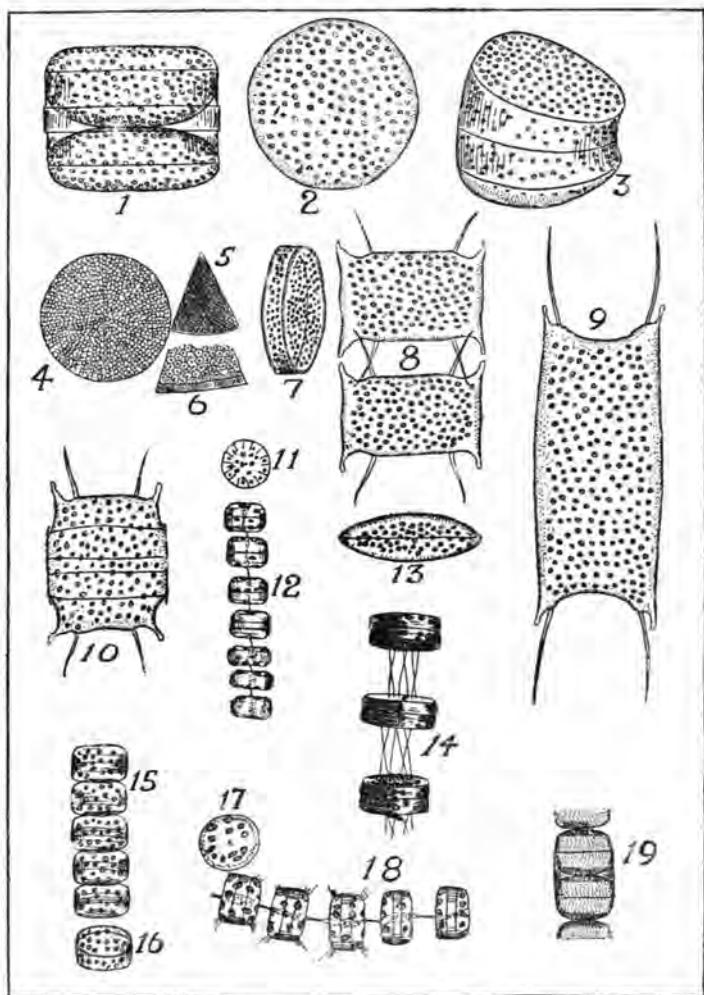


Fig. 90.

Verklaring van fig. 91.

Diatomeeën uit de zee.

- 1, 2. *Chaetoceras decipiens*, Cleve; $\times 50$.
3. *Chaetoceras teres*, Cleve; $\times 80$.
4. *Chaetoceras boreale*, Bail.; $\times 50$.
5. *Rhizosolenia stolterfothii*, H. Perag; $\times 70$.
6. *Asterionella bleakleyi*, W. Smith; $\times 80$.
7. *Ditylium brightwelli*, (West); $\times 50$.
8. *Thalassiothrix nitzschiodes*, Grun.; $\times 100$.
9. Een op de bodem levende *Navivula*; $\times 510$.
10. *Rhizosolenia semispina* (Hensen); $\times 60$.
11. *Rhizosolenia shrubsolei*, Cleve; $\times 70$.
12. *Guinardia flaccida* (Castr.); $\times 30$.
13. *Bacillaria paradoxa*, Gmel.; $\times 100$.
14. *Eucampia zodiacus*, Ehrenberg; $\times 70$.

Fig. 90—92 uit Johnstone, *The Marine Plankton*.

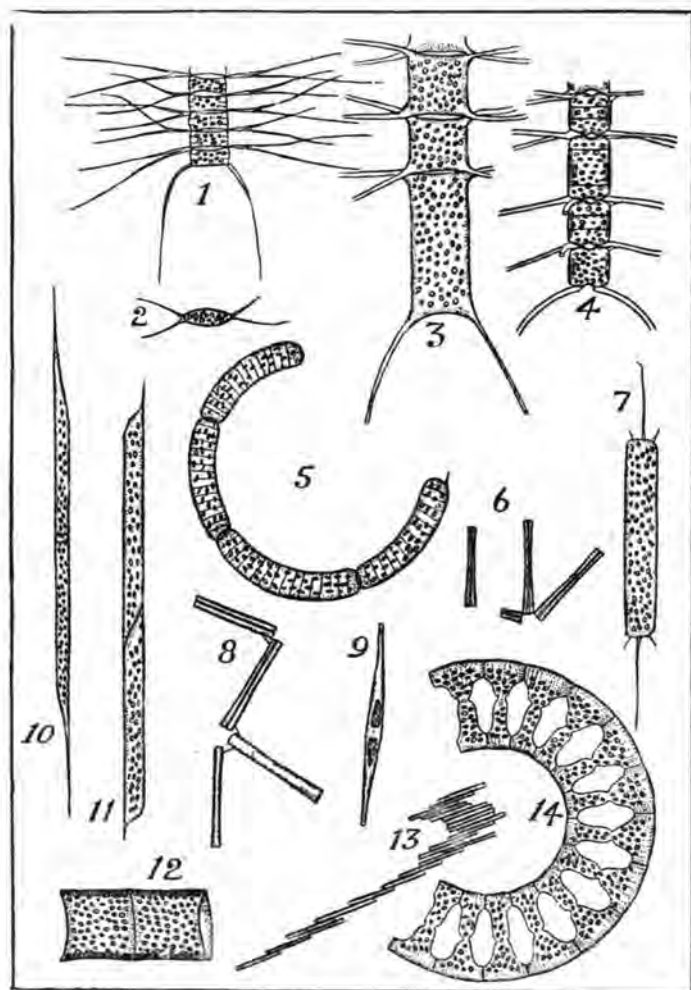


Fig. 91.

Verklaring van fig. 92.

Algen en Protozoën uit de zee.

1. *Cryptomonas ovata*, Ehrenberg; $\times 300$. (Flagellaten).
2. *Rhodomonas baltica*, Karsten; $\times 500$. (Flagellaten).
3. *Chlamydomonas microplankton*, Reinke; $\times 2000$. (Algen).
4. *Halosphaera viridis*, Schmitz; $\times 150$. (Algen).
5. idem een Zoospore.
6. *Phaeocystis pouchetii* (Lagerheim); $\times 20$. (Algen).
7. idem een Zoospore.
8. *Ceratium fusus* (Ehrenberg); $\times 100$. (Dinoflagellaten).
9. *Ceratium furca* (Ehrenberg); $\times 100$. (Dinoflagellaten).
10. *Ceratium tripos* (O. F. Müller); $\times 200$. (Dinoflagellaten).
11. *Peridinium divergens*, Ehrenberg; $\times 500$. (Dinoflagellaten).
12. *Diplopsalis lenticula*, Bergh; $\times 700$. (Dinoflagellaten).
13. *Gymnodinium lunula*, Schütt; $\times 500$. (Dinoflagellaten).
14. *Amphidinium herdmani*, Kofoid; $\times 500$. (Dinoflagellaten).
15. *Oxyrrhis marina*, Dujardin; $\times 500$. (Dinoflagellaten).
16. *Exuviella marina*, Cienowsky; $\times 500$. (Dinoflagellaten).
17. *Polykrikos schwartzi*, Butschli; $\times 300$. (Dinoflagellaten).
18. Een *Coccolith* (Zie nr. 19).
19. *Coccosphaera atlantica*, Ostensfeldt; $\times 1500$. (Algae).
20. *Noctiluca scintillans* (Macartney)* $\times 30$.
21. *Distephanus speculum*, Ehrenberg; $\times 300$. (Silicoflagellaten).
22. *Tintinnus inquilinus*, Ehrenberg; $\times 300$. (Ciliaten).
23. *Epiclintes retractilis*, Clap & Lach.; $\times 300$.
24. *Dictyocha gibula*, Ehrenberg; $\times 400$. (Silicoflagellaten).
25. *Acanthometron pellucidum*, J. Müller; $\times 400$. (Radiolaria).
26. *Prorocentrum micans*, Ehrenberg; $\times 600$. (Dinoflagellaten).
27. *Dinophysis acuminata*, Clap. and Lach.; $\times 500$. (Dinoflagellaten).

(Enige Dinoflagellaten, b.v. Nos. 14, 16, 17, zijn meer typisch voor 't zand, dan voor het er boven liggende water.

* Dit is de bekende zeevonk vroeger *Noctiluca miliaris* genoemd.
n. Johnstone. *The Marine Plankton*.

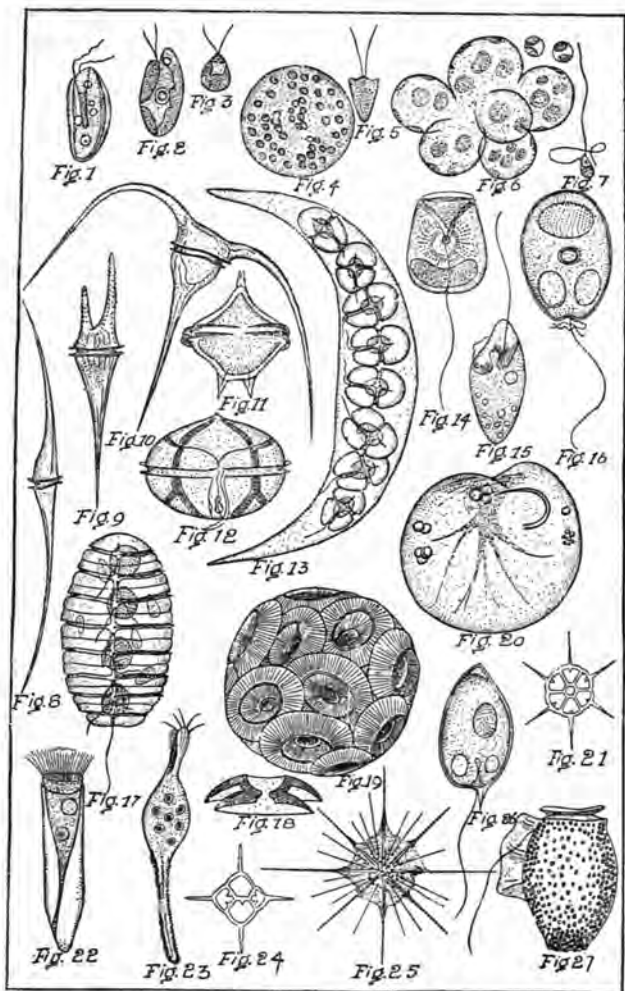


Fig. 92.

oplossing 1 : 100 tot 1 : 1000 in gedistilleerd water, of strychnine-nitraat 1 : 10.000 in water.

Ook in de tropen kan men het plankton uitmuntend bestuderen. Men moet daar rekening houden met de drie wetten v. Oye (Mikrokosmos 27):

1. In de tropische landen is de hoofdfactor voor de periodieke ontwikkeling der mikro-organismen, zowel in zoet- als in zee-water: de regenval.
2. In kleinere en ondiepe wateren, als visvijvers, kleine meertjes etc. is een opeenvolging van organismen te konstateren, die periodiek is en overeenkomt met de stadia der biologische zelfreiniging.
3. De eerste hoofdfactor is de regen, de tweede de temperatuur, daarom vindt men limnologische biocoenosen (levensgemeenschappen in het water) die principieel gelijk zijn als men van de equator naar de pool gaat of in de tropen van de vlakte tot in de bergen.

Een aantal Diatomeeën, Copepoden etc. uit de Ind. zeeën zijn afgebeeld in Delsman en Hardenberg, de Indische Zeevissen (1933).

A. v. Leeuwenhoek ontdekte *Spirogyra* en enkele Protozoa in de Berkelse plas in sept. 1674; zijn beroemde brief is van 9 okt. 1676, maar de ontdekking van bijv. *Vorticella* is van sept. 1675.

Oef. 127. Onderzoek: Zoetwaterplankton uit verontreinigd water. Verg. de vormen van fig. 87—89. Juiste determinatie is zeer moeilijk:

Men schat (Arndt, 1940), dat men uit Duitsland kent:

3500 mikrosk. meercellige dieren

circa 3200 mikrosk. eencellige dieren, waarbij nog 600 meercellige dieren komen van 1—3 mm; totaal dus 7300 soorten. Dit is $\pm 17\%$ van het totaal aantal bekende diersoorten uit dat gebied (zee inbegrepen) (3900 zee-, 6900 zoetwater-, 33400 landdieren). Beneden de 1 cm ligt $\pm \frac{1}{2}$ van het totale aantal.

Het aantal mikrosk. plantensoorten wordt door Pochmann (1940) geschat op 85.000 (waarvan 60.000 Fungi, 6500 Groenwieren en 6000 Diatomeeën). Er is dus keuze genoeg voor een mikroskopist! Men kan vaak Diatomeeënaarde enz. kopen.

Literatuur (zie ook blz. 151):

Bohuslav Fott: *Algenkunde*. Gustav Fischer, Jena, 1960.

V. J. Chapman: *The Algae*. MacMillan & Co, London. (1960—61?).

Lewis Hanford Tiffany: *Algae*. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois, Baltimore, Maryland. 1938.

Een uitvoerig werk over alle Diatomeeën van Nederland wordt uitgegeven door de H.H. A. v. d. Werf en H. Huls (uitg. De Regenboog, Amsterdam, vanaf 1955).

L. Geitler. *Schizophyceen*. Berlin, 1960.

Oef. 128. Onderzoek: Zoetwaterplankton van de bodem van vrij helder water. Idem, gevangen met de bus van fig. 86.

Vaak is het slijk iets gekleurd of althans met een gekleurd beslag bezet. In 't algemeen geldt:

beslag is groen → *Cosmarium*.

„ „ geelbruin → *Cosmarium*.

„ „ violet → *Purpurbacteriën*, o.a. *Lambrocystis roseo-persicina*.

„ „ rose → *Purpurbacteriën*, o.a. *Thiopedia rosea*.

„ „ blauwgroen → *Blauwwieren*, o.a. *Merismopedia convoluta*.

„ „ wit → *Vaak zwavelbacteriën*, o.a. *Beggiatoa media* en *B. alba*.

„ „ op bladeren, etc. in 't water liggend → dikwijls *Vorticella* en andere Ciliaten.

Oef. 129. Onderzoek de *waterbloei*, één organisme komt dan in enorm aantal voor, 't meest *Euglena viridis* (groen), *Euglena sanguinea* (rood), *Eudorina elegans* (lichtgroen), *Aphanizomenon flos aquae* (blauwgroen), *Microcystis aeruginosa* (blauwgroen), *Phacus spec.* (donkergroen). Een mooi overzicht vindt men in *Mikrokosmos* 33, 1939, p. 138 (*New Biology* 19; *Euglena*).

Oef. 130. 's Winters vindt men in zoetwater veel fijnere vormen. Tracht deze te vinden! Men ziet vooral:

Asterionella.

Disematostoma bütschlii Lautb. $\pm 150 \mu$ eivormig.

Bursaridium schewiakowi Lautb.

Bicosoeca lacustris Lauth.

Sphaeroeca volvox. Lautb.

Peridinium palatinum Lautb.

Gymnodinium tenuinum Lautb. op doorsnede $\pm$ 4-kant, $\pm$ 100 μ .

Holophorya nigricans. Lautb. $\pm$ 180 μ .

Notholca spec.

Oef. 131. In *aquaria* vindt men vaak de volgende mikro-organismen (verg. *Mikrokosmos* 22).

1. *Chydorus sphaericus*.
2. *Rotifer vulgaris*, met de oogvlek aan de top van de slurf.
3. *Philodina megalotrocha*, met de oogvlek in de nek.
4. *Monostyla bulba*, veel dikker en ronder dan no. 2 en 3.

Van de *Rondwormen*

(*Nematoden*):

5. *Trilobus pellucidus*.

Van de *Infusorien*:

A. *holotrichen*, dus overal met trilharen:

6. *Colpidium colpoda* (fig. 89, 18).
7. *Chilodon cucululus* (fig. 89, 19) nogal groot.
8. *Cyclidium glaucoma* (een zeer kleine vorm, verg. fig. 89, 20).
9. *Coleps hirtus* (fig. 89, 16), in grootte insttaande tussen 8 en 6).

B. *Met trilharen aan de buikzijde*:

10. *Stylonichia mytilus* (fig. 89, 25).
11. *Stylonichia pustulata* (wat kleiner dan 10).

12. *Oxytricha pellionella* (veel kleiner dan 10).

13. *Uroleptus piscis* (ongeveer even groot als 12).

14. *Euplotes patella* (verg. fig. 89, 26).

C. *Met een ring van trilharen*:

15. *Vorticella campanula* (verg. fig. 89, 27).

16. *Rhabdostyla brevipes* (vast zittend met korte steel).

Zondiertjes (*Heliozoa*).

17. *Actinophrys sol* (fig. 89, 9).

Wortelpootjes (*Rhizopoda*).

18. *Amoeba diploidea* (nb, verg. fig. 89, 1, 2).

19. *Centropyxis laevigata* (een grote vorm, rand glad).

20. *Centropyxis aculeata* (een grote vorm, rand getand).

Zweepdiertjes (*Flagellata*).

21. *Peranema trichophorum* (klein met lange draad).

22. *Gonium pectorale* (platte tafelvorm).

23. *Eudorina elegans* (fig. 88, 80). Deze vormen worden soms ook wel tot het plantenrijk gerekend.

Oef. 132. Onderzoek: Foraminiferen, Diatomeeën en Radiolariën prep. uit de handel. Tracht met verschillend sterke systemen één soort Diatomeeënschaal op te lossen! (Verg. § 5 hoofdstuk I).

Oef. 133. Onderzoek zeewaterplankton. Verg. fig. 90—92.

Oef. 134. In de opvolgende seizoenen is er ook in de zee een sterke „bloei” van de verschillende soorten. Deze organismen komen wel tot 60 meter diepte voor, meest echter tot ± 10 meter.

In hoofdzaak vond men in de Clyde-Sea-Area:

maart-april	Skeletonema	augustus	Nitzschia
mei (begin)	„		leptocylindricus
mei (laatst)	Chaetoceras	september	Eucampia
juni	„	oktober	Rhizosolenia
juli	Cerataulina	november	Skeletonema

In de zomer vooral aan de oppervlakte Dinoflagellaten. Aan onze kust gaat deze volgorde ook goed op.

Oef. 135. Tracht proeven te doen met Eencelligen (prikkelbaarheid), zie de hieronder genoemde literatuur. Onderzoek de zgn. trichocysten van *Paramaecium*, b.v. door de drup met de dieren even in de damp van formaline te houden.

Nikkelzouten [NiCl_2 ; NiSO_4 , $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$] in 0,01 % oploss. (te bewaren als 1 % opl. in gedist. water en bij gebruik te verdunnen) maken in enkele minuten vele infusoriën, (zoals *Paramaecium*) bewegingsloos, zodat men b.v. de contractiele vacuolen, de cytopye (anaalopening van de cel) enz. aan het levende dier kan onderzoeken (methode J. v. Gelei, 1934). Bij geconc. opl. worden de trichocysten uitgeslingerd. In een 0,01 % opl. deelt het pantoffeldiertje zich nog!

Oef. 136. In vazen waarin lang bloemen hebben gestaan vindt men vrij dikwijls een Ciliaat met vertakte stelen: *Opercularia coarta*.

Oef. 137. In de waterbekkens van de Kaardebol (*Dipsacus*) vindt men vrij dikwijls een mooi plankton, vooral bestaande uit: *Diatoma vulgare*, *D. elongatum*; *Navicula mutica*, *N. cuspidata*, *N. oblonga*; *Nitzschia gracilis*, *Amphora ovalis*, *Cocconeis exilis*, *Fragiliaria irrescens*, *F. constructus*; *Tabellaria flocculosa*, *Coloneis amphisbaena*; *Achnanthes lanceolata*; *Neidium affine*, *Closterium Ehrenbergii*, *Cl. acerosum*; *Cl. Leibleinii*; *Amoeba radiosa*; *Colpidium colpoda*; *Chlorella vulgaris*, *Vorticella spec.*; *Trachelomonas volvocina* en soms nog *Rotifer vulgaris* en andere Rotiferen.

Oef. 138. Probeer ééncelligen te kleuren. Zie hoofdstuk VIII.

Oef. 139. Onderzoek de „Luchtalgen” en zie welke wieren zich bevinden in het groene beslag der bomen. Let hierbij op de verdeling langs de stam. Goede tekening in: *In het voetspoor van Thijssen*, Wageningen, 1949, artikel van Dr. A. Quispel.

Oef. 140. Neem mos van een boom of wat groen uit een dakgoot. Spoel dit uit met water en centrifugeer, indien glazen met wat water uit mos geperst (fig. 93), die 't vermogen hebben om hierin Raderdiertjes en Beerdiertjes in te drogen. Kweek ze in horlogemogelijk, het water. Vaak vindt men en wat detritus. Dek de glazen toe en maak ze voor de helft donker (door papier op te plakken). Zet ze op het Noorden! De Beerdiertjes leven van de mosblaadjes. De eieren en rusttoestanden worden veel overvallen door *Difflugia* (Marcus 1928).

Voor Raderdiertjes tussen de mossen zie: De Koning, De Lev. Nat. 1929. Mei, juni, juli.

A. v. Leeuwenhoek zag in 1674 waarschijnlijk reeds Rotatoren, hun „heropleving” (na droogte) zag hij op 25 aug. 1701.

Oef. 141. In zoetwater, tussen mos, in de aarde, in oude azijn, en ook als parasieten in planten en dieren vindt men vaak zgn. aaltjes (rondwormen). Tracht de jonge dieren te vinden in de oude.

Oef. 142. Op en in verschillende zoetwaterdieren en planten treft men vaak parasietische raderdiertjes aan.

Dikwijls vindt men:

Op *Gammarus*: *Callidina parasitica* Gigl.

Op *Asellus*: *Callidina magna calcarata* (borststreek).
en *Callidina socialis* (aan de achterpoten).

In *Volvox*: *Hertwigia volvoxicola*.

Diglena volvoxicola.

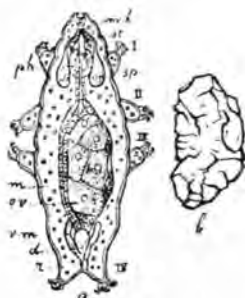


Fig. 93. Beerdiertje.
a kruipend, b ingedroogd.
n. R. Hertwig.
Uit: *Schierbeek-Valkema*,
Dierk. II.

In *Frullania* (een levermos op de bomen, in de waterzakjes):
Callidina symbiotica.

Literatuur:

- Steiner, *Lebewelt der Gewässer* (meer over de instrumenten).
Kolkwitz, *Pflanzenphysiologie* (uitmuntend!).
Lampert, *Das Leben der Binnengewässer*. (Zeer aan te bevelen!).
Johnstone e.a., *The Marine Plankton* (zeeorganismen, heel goed!).
Zie ook Chun, *Uit de diepten der wereldzee*.
Eyferth, *Einfachste Lebensformen* (determineren!).
W. Schurig, *Hydrobiologisches und Plankton-Praktikum*.
Brauer, *Süsswasserfauna* (determineren!).
Hoogenraad e.a., in *Fauna van Nederland*, onder leiding van Prof. Boschma, Leiden.
Pascher, *Süsswasserflora* (determineren!).
Doflein, *Lehrbuch der Protozoenkunde*.
Kalmus, *Paramecium*. Jena, 1931.
G. Ch. Wipple, G. M. Fair and M. C. Wipple, *The Microscopy of Drinking Water*. London, 1927 (n.b. geen bacteriën!).
P. v. Oye, *Handleiding bij de Praktische Studie der Niet-Parasitaire Mikro-organismen*. Gent 1927.
Lenz, *Biologie Süsswasseeen*. 1928.
De Zuiderzee-monographie.
Das Nordische Plankton. (N.B. nog niet compleet!).
Thienemann, *Die Binnengewässer Mitteleuropas*.
Idem, *Jedermann's Bücherei: Limnologie. Eine Einführung in die biologische Probleme der Süsswasserforschung*.
Jordan, *Het leven in het zoete water*.
A. Middelhoek, *Microwereld*. Zutphen, 1944 (met zeer goede figuren!).
Idem, *Een vijver in Nederland*. Zutphen, z.j. (1950). Hierin geeft deze schr. een boeiend beeld van het plankton in één vijver gedurende het gehele jaar. Dit voorbeeld verdient in hoge mate navolging!
Proeven met levende eencelligen. Mikrok. 1919/20. p. 42 (naar Jennings, *Das Verhalten der niederen Organismen*). Hierover ook: Schierbeek. *Instinkt of Verstand*, Wereldbibliotheek. 1927.
Flora en fauna, door Prof. Dr. R. van der Wijk (deel I, 1948, Planten, ook mikroskopische, en gewervelde dieren) en Dr. A. F. H. Bezemer (deel II, Rest dierenrijk, zal niet verschijnen). Determinatie-tabellen!
De Heer A. v. d. Werff is in 1957 met de uitgave van een door hem zelf *Atlas van Ned. Diatomeeën*, Regenboog, Amsterdam.
M. de Ridder, *Sociologisch-faunistische studie van de Raderdiertjes in de Camargue*, Brussel 1960. (n.b. daar deze zeer weinig verschillen van de onze en er veel literatuur in staat wordt hier de aandacht op gevestigd).
Voor *Desmidiaceeën* zie vele artikelen van P. v. Oye in *Dodonaea*, Gent.

HOOFDSTUK VI

HET ONDERZOEKEN EN KWEKEN VAN LAGERE ORGANISMEN

Oef. 143. Neem wat vers hooi of sla, brengt dit in water en voeg hierbij slootwater. Houd de kultuur wat warm. Op het oppervlak vormt zich de kaam (of het kaamsel) in hoofdzaak uit Bacteriën bestaande. Spoedig wemelt de kultuur van Bacteriën (meest *Bacillus subtilis*), daarna van Infusoriën (o.a. *Colpidium* en later *Paramaecium*, ook *Vorticella* treedt vaak op). Zet in de vloeistof een lange 1—2 cm wijde buis. Bovenin vindt men dan de *Paramaeciën*. Let op de trilharen, de kloppende vacuolen, en de kern! Voor kleuringen zie later (Hoofdstuk VIII).

Oef. 144. Prachtig trilhaar ziet men aan de kieuwen van mossels en oesters. Klein stukje hieruit nemen in zoetwater resp. zeewater.

Oef. 145. Op oude boomstronken en op eikenschors (run) vindt men dikwijls de oranjegele slijmzwam. Let op de protoplasma-stroming (fig. 94). Ga zoveel mogelijk de ontwikkeling na!

Oef. 146. Leg op water met veel bacteriën (een kaamvlies op 't water vormend!) voorzichtig een dekglaasje. Dit blijft drijven. Vaak vindt men aan de onderzijde Amoeben. Bestudeer het uitsteken der pseudopodiën. Zie ook oef. 169.

Oef. 147. Neem wat bakkersgist, breng dit in water met wat rietsuiker of nog beter druivensuiker. Spoedig treedt gisting op. Leid de ontstane gassen door een flesje met kalkwater. Dit wordt troebel.

De gistcellen zijn zeer klein, zij vormen knoppen. In de bloemen vindt men ook gistcellen, vaak verschillende soorten (fig. 95).

Oef. 148. Week een stukje brood in melk, voeg er enkele druppels slootwater bij. Leg dit geheel onder een glazen klokje. Spoedig ontstaan schimmels, vaak *Mucor mucedo*, de knopschimmel (fig. 97) en *Penicillium glaucum* (fig. 96), de penseelschimmel. Onderzoek de sporen! Uit een verwante soort, *Penicillium notatum*, bereidt men penicilline (*Fleming 1928, Florey*

1926) (uit *Actinomyces griseus* bereidde Waksman (1944) Streptomycine, uit andere schimmels werden daarna nog vele andere antibiotica bereid.

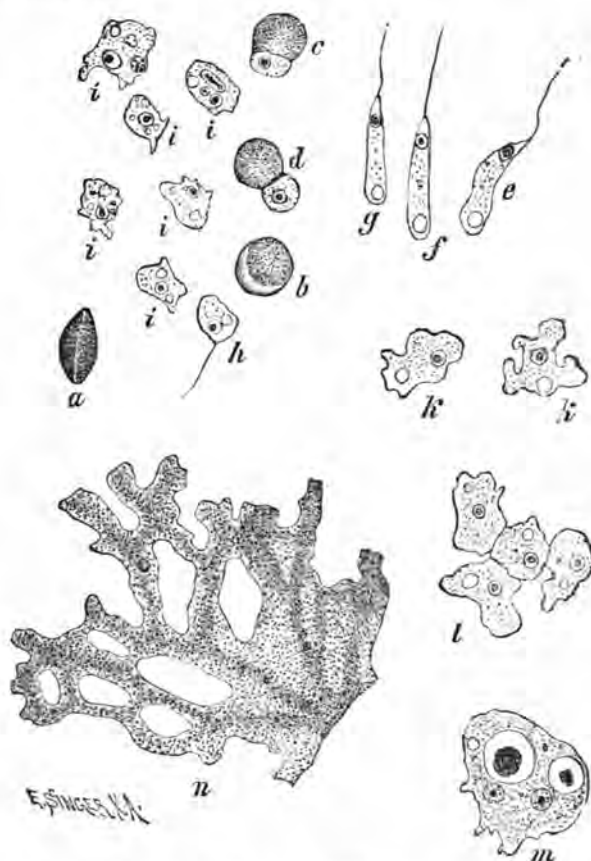


Fig. 94. *Chondrioderma* (*Didymium*) *difforme*. *a*—*m* ontwikkeling van een slijmzwam; 540 $\times$, *n* deel van het plasmodium 90 $\times$.

n. Strasburger.

Oef. 149. Mooie prep. van de schimmels uit oef. 148 krijgt men als men in een kleine druppel vloeibare moutagar wat schimmel-

sporen doet en deze in een vochtige kamer kweekt (verg. de Streepjes-methode (blz. 178). Langs de rand van de kultuur komen de sporendragers. Met wat ethanol nat maken en dan in water

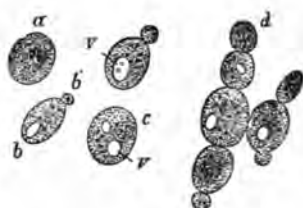


Fig. 95. Biergist. Cellen der gist, 600 maal vergroot; *a*, *c* vrij levende cellen; *b* eerste ontstaan van nieuwe cellen; *d* kolonie van cellen. De cellen bestaan uit een dunne celwand en een protoplast; in deze liggen overal fijne korreltjes en enkele druppels celvocht (*V*).

n. Oudemans en de Vries.

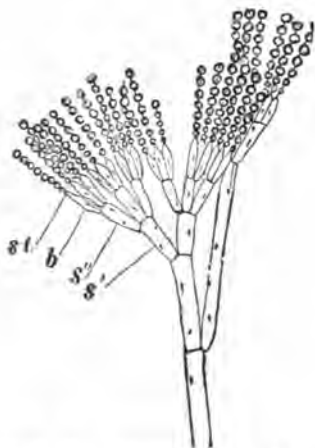


Fig. 96. Penseelschimmel (*Penicillium*). *n. Strasburger.*

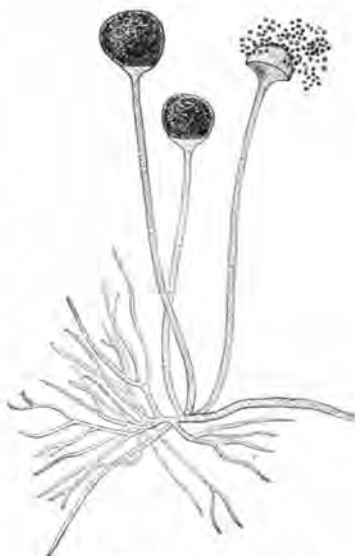


Fig. 97. Knopschimmel (*Mucor*). *n. Strasburger.*

brengeu onder een dekglas voor mikroskopisch onderzoek. Zo nodig kleuren met waterige methyleenblauwoplossing. (Hiertoe eerst bevochtigen met ethanol!) en dan in glycerolgelatine insluiten (zie blz. 186). De kleur blijft enige jaren goed.

Oef. 150. Neem verse paardenmest. Zet deze onder een glazen klok. Na enige dagen ontstaat bijna altijd *Pilobolus*, een prachtig schimmeltje, dat de sporen naar 't licht wegschiet. Meest komt eerst (na 2 dagen) *Mucor*.

Oef. 151. Leg een dode vlieg of meelworm in slootwater. Spoedig (4—9 dagen) ontstaat een dichte schimmelbegroeiing van *Saprolegnia* (fig. 98). Maak de vlieg eerst „steriel” door ze 10 sec. in kokend water te dompelen. Spreid de vleugels op het slootwater uit, dan zinkt het dier niet.

Oef. 152. Onderzoek de *Blauw-wieren* uit verontreinigde sloten, waar ze vaak als blauwachtige korsten op drijven. Zij vertonen een aardige beweging, waarbij ze heen en weer slingeren (*Oscillatoria* (fig. 86, 4) en voor- en achterwaarts kruipen. Ze scheiden hierbij slijm af.

Mooi te bestuderen in een beetje fijngevreven O.I. inkt met water (of in een drup v. d. Biologische Tusche van Ing. A. Niklitschek; Günther Wagner, Hannover).

Oef. 153. De Smeeralg of Blauwalg, die in aquaria donker smaragdgroene stinkende overtreksels vormt, bestaat meestal uit *Oscillatoria splendida* Gomont. Deze heeft geen slijmafscheiding, maar wel een zeer levendige beweging. De eindcel is zeer lang, horenvormig. Draadbreedte 2,7—3,2 μ .

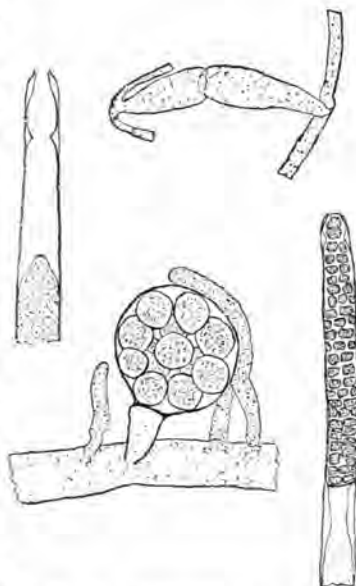


Fig. 98. *Saprolegnia monoica*.
250 $\times$.
n. Kolkwitz.

Oef. 154. Onderzoek de meeldauw van het herderstasje (*Cystopus candidus*, *Albugo*), van de roos (*Perenospora*, heeft 5—8 vertakte dragers), van de eik. Maak dwarse doorsneden van de bladeren. De chitinedraden van de schimmel kleuren zich niet, de cellulose-celwanden wel met joodjoodkalium en zwavelzuur 66 %.

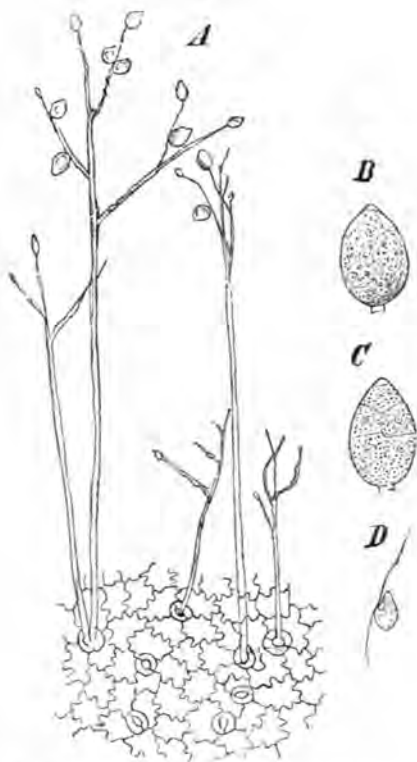


Fig. 99. A. Bladoppervlakte van de aardappel met sporangiendragers van *Phytophthora infestans*. $\times 90$.

B. rijp sporangium.

C. idem met gedeelde inhoud.

D. zwerspore. B. C. D. $\times 540$.

n. Strasburger.



Fig. 100.

Archegonium van een mos.

Onderin de eicel.

n. Strasburger

Oef. 155. Onderzoek van aardappelziekte. (*Phytophthora infestans*). Neem enige bladstukjes van een aangetaste plant. Breng ze in een wijdmondse gesloten fles of in de vochtige kamer. Onderzoek in water, onder een dekglas gesteund door wasvoetjes. Smeer de rand met wat vaseline dicht. Bij een goed objekt ziet men de zwermsporen, die uitgroeien tot buisjes (fig. 99).

Literatuur:

Schimmels:

Constantine John Alexopoulos: *Introductory Mycology*. Wiley, New York. 1952.

Frederick A. Wolf & Frederick T. Wolf: *The fungi*. Wiley, New York; Chapman & Hall, London. 1947.

Clyde M. Christensen: *The molds and man: An introduction to the fungi*. Univ. of Minnesota Press, Minneapolis. 1951.

A. H. Rose, *Industrial Microbiology*, London. 1961.

Oef. 156. Zoek in 't voorjaar *Polytrichum Mnum* (een bladmos), of *Ceratodon purpureus* van stenen tuinmuurtjes. Zie op de top der mossen naar de kolfvormige manlijke en de flesvormige vrouwelijke organen (antheridiën en archegoniën, fig. 100). Verg. ook oef. 7.

Oef. 157. Onderzoek een paddestoel. Aan de onderzijde van de meeste vindt men lamellen, die bekleed zijn met de basidiën, welke aan het eind meest 4 sporen dragen (fig. 101).

Oef. 158. Druk een citroen uit. Bewaar ze vochtig. Na ± 1 week komt *Penicillium* (verg. fig. 96).

Oef. 159. Zoek naar kleine *Gastrotriche* wormen op de bodem van de stilstaande wateren, met behulp van de bus beschreven op blz. 133 (fig. 102).

Oef. 160. Zoek naar zoetwatersponsen. Deze zijn in onze wateren verre van zeldzaam. Veel als korsten om rietstengels en dikwijls in de schaduw van bruggetjes, etc. en dan vaak met vingervormige uitsteeksels. Let op de ongeslachtelijke, overblijvende kiemen, de gemmulae. Let op de skeletnaalden (fig. 103).

Oef. 161. In de darm van de kikvors leeft bijna steeds *Opalina*. Onderzoek in fysiologische zoutoplossing ($\pm 0,65\%$). Let op de vele kernen (fig. 104)!

Oef. 162. In de darm van de Kakkerlak leeft een typische vertegenwoordiger van de parasitische ééncelligen.

Dood een kakkerlak. Snijd de darm open in fysiologische zoutoplossing, op een objektglas. De Gregarinen glijden voor en achteruit! Let op de insnoeringen (fig. 105).

Een andere vorm, *Monocytis agilis*, vindt men in de zaadblaasjes van de Regenworm (doden in chloroform en de inhoud der zaadblaasjes in fysiologische zoutoplossing van 0,75 %).

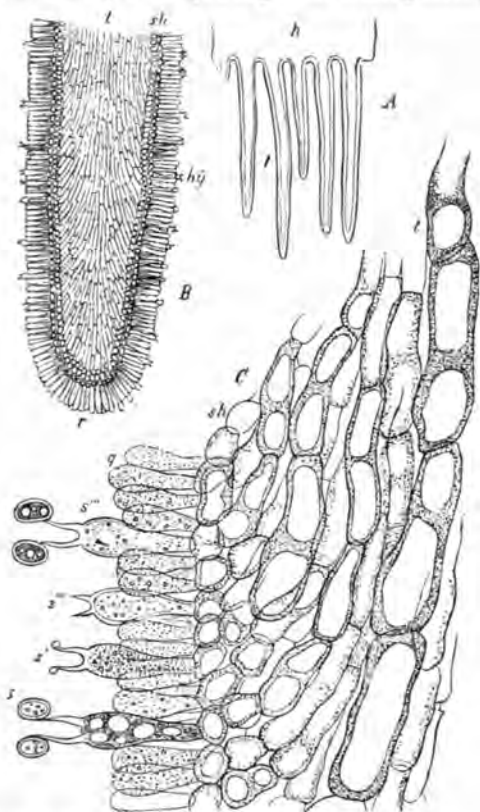


Fig. 101. *Champignon Psalliota campestris*,
deel van het hymenium met sterigmen
C = 550 X.



Fig. 102.
Gastrotriche worm
Chaetonotus
maximus
Ehrenberg 840 X.
n. Lampert.

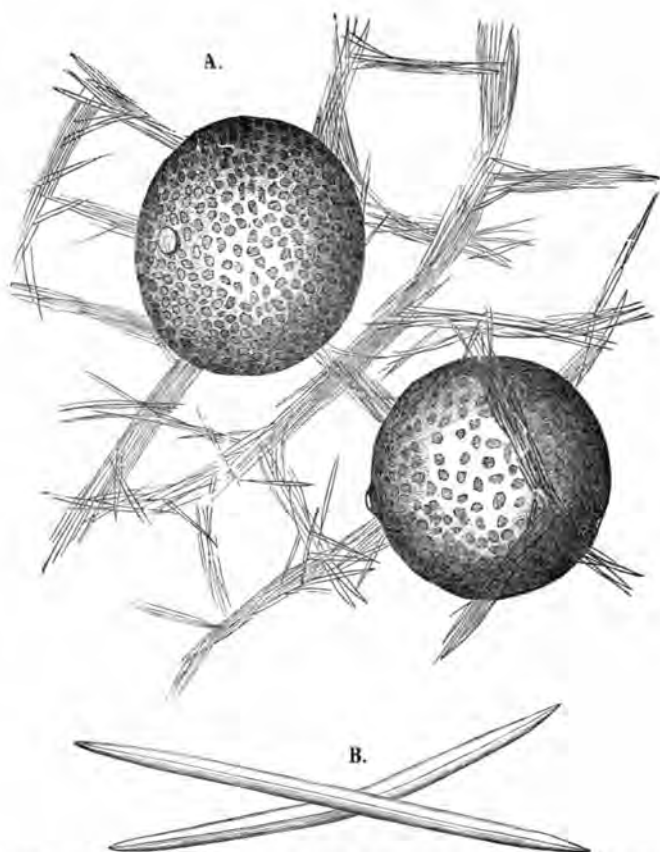


Fig. 103. Zoetwaterspons. *Euspongilla lacustris* L. Skeletraden met twee gemmulae. 57 X. B. Skeletnaalden 230 X.

n. Lampert.

Oef. 163. Neem de sporen van een varen. Zaai die uit op een vochtige turf. Houd de turf vochtig (water op een schoteltje, daarin de turfplaat, hierover een glasklokje). Voeg aan het water wat voedingszouten toe (b.v. Asef of Pokon).

Meestal ontstaan spoedig de voorkiemen (prothallia, fig. 106). Zoek aan de onderzijde naar de antheridiën en archegoniën (verg.

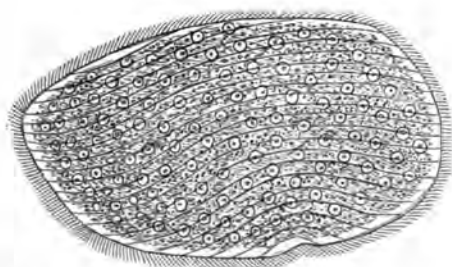


Fig. 104. *Opalina ranarum*. Stein 150 $\times$.

n. Lampert.

fig. 106), die na 3—4 weken verschijnen. Om de chemotaxis te zien bringe men een haar van de bereklauw (*Heracleum spondyleum*) waar men de punt van heeft afgebroken in de vloeistof met de spermatozoiden (appelzuur!).

Officieel noemt men thans de zaadcellen van dieren: spermatozoa (enkelvoud: spermatozoön), die van planten spermatozoiden (mededeling van de Hr. C. van Duyn Jr.).

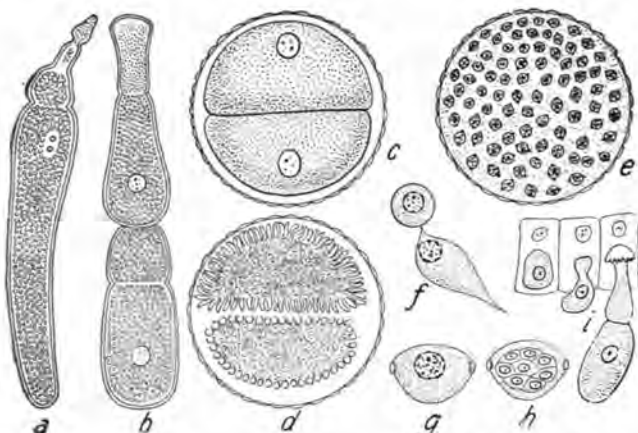


Fig. 105. Ontwikkeling der Gregarinen. *a*. Een dier met protodeuto-epiremiet; *b*. bevruchting; *c*. beide dieren in een kyste; *d*. sporoblastvorming; *e*. kyste met rijpe sporen; *f*. copulatie der sporoblasten; *i*. groei van een Gregarine in een epitheelcel.

Uit: Selenka.

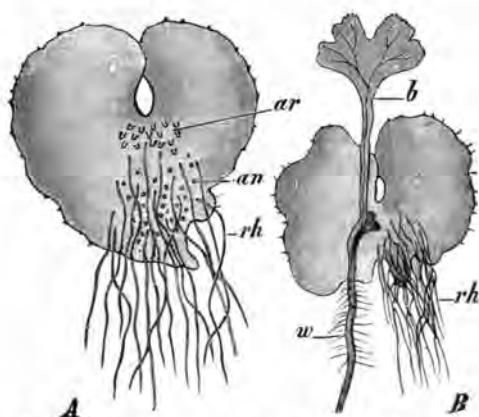


Fig. 106. Prothallium van een varen. *rh* = rhizoiden, *ar* = archegoniën, *an* = antheridiën. n. Strasburger.

Oef. 164. *Raderdiertjes* (zie ook oef. 142) voeden zich in hoofdzaak met levende andere organismen. Gemakkelijk is b.v. *Polytoma uvella*, een kleurloze Phytomonade, (zie ook oef. 170) te kweken in reinkultuur op:

Natriumacetaat	0,2 %
Glycokol	0,2 %
Druivensuiker	0,2 %
Kalium carbonaat	0,2 %
gekrist. magnesiumsulfaat	0,01 %
2 basisch kaliumfosfaat	0,02 %
agar (gewassen)	2 %
gedistill. water	1000 cc.

Met deze kultuur voert men de raderdiertjes, die men in b.v. horlogeglazen kweekt, welke weer in een petrischaal gezet zijn, om verontreinigingen te voorkomen. De raderdiertjes zelf worden gehouden in *Benecke*-oplossing 0,01 % met 0,005 % natriumsilicaat.

Benecke oplossing	heeft zuurgraad (pH)
0,1 %	7,8—8
0,05 %	7 —7,2
0,01 %	6,8
0,025 %	6 —6,2

De oplossing 0,05 % heet normaal, d.i. met *totaal zoutgehalte* 0,05 %. Deze oplossing wordt bereid als op blz. 165 aangegeven.

Gaat men van één voedselsoort (b.v. *Polytoma*) op een andere over (b.v. *Chlamidomonas*), dan worden de dieren (althans *Pterodina elliptica* Ehrbg.) tweeslachtig, anders planten ze zich meest parthenogenetisch voort. (Biol. Zent. 46, 1926).

*Oef. 165.*¹⁾ In de ontlasting vindt men vrij dikwijls parasieten, die meestal onschuldig zijn.

Een handige methode tot onderzoek is de volgende (Fritze 1929). In een spits eindigend wijnglas brengt men fysiologische zoutoplossing (0,9 %).

Hierop brengt men, boven in het glas, een beetje van de te onderzoeken faeces, hetzij op een propje watten of, wat beter is, in een zakje van planktongaas. Na enige uren vindt men zeer vele infusoriën onder in het glas. Ze kunnen dan met een pipet worden afgezogen. Kleuren met floxinrhodamin-opaalblauw (uit de handel).

Ontlasting van gezonde, met moedermelk gevoede babies, bestaat bijna geheel uit een „reinkultuur” van *Lactobacillus bifidus* = *Bacterium bifidum* Tissier.

Oef. 166. Urine-onderzoek. Naast een chemisch onderzoek (o.a. op eiwitten en suikers) in de urine bestaat een mikroskopisch. In de normale urine vindt men verschillende bestanddelen, die men 't beste krijgt door te centrifugeren, doch ook wel krijgen door het bezinksel te nemen als de urine enige tijd heeft gestaan (er komen dan vele bacteriën in). Men kan de bestanddelen vrij gemakkelijk aan de kristalvorm herkennen (zie ook Hoofdstuk IV: Mikrochemie).

Ook celvormen komen in de urine voor, maar bij nier- en blaasziekten ziet men ook andere elementen en de gewone in grotere hoeveelheden. Met een klein beetje joodjoodkalium-oplossing kleuren de cylinders zich geel. Overigens doet men 't beste het bezinksel te mengen met een gelijke hoeveelheid van het volgende mengsel: kristalviolet (0,1 gr. op 50 cc. water) 20 ccm, 5 ccm ijs-

¹⁾ Enkele van de volgende oefeningen vereisen geen mikroskoop, maar zij zijn opgenomen, omdat verondersteld wordt dat de „mikroskopist in huis” ook deze vormen van ontlasting- en urine-onderzoek zelf zal willen uitvoeren. — A. S.



Fig. 107

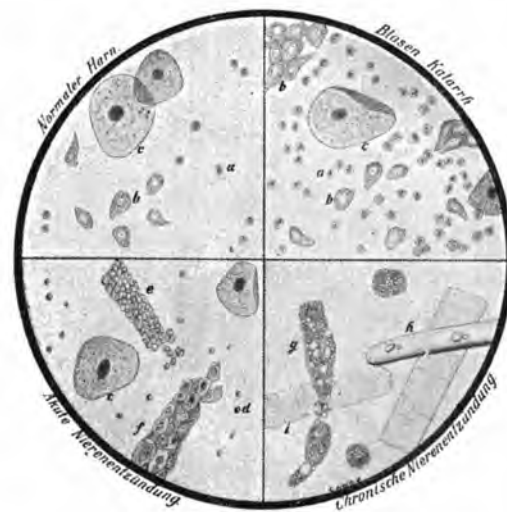


Fig. 108

Bestanddelen van de normale urine (fig. 107) en van de abnormale (fig. 108). *a.* Amoeboïde cellen, *b.* kleine, *c.* grote epitheelcellen van de wanden der urinewegen, *d.* bloedlichaampjes, *e.* afgietsel van een urinebuisje gevormd door bloedlichaampjes (bloedcellen-cylinder), *f.* epitheelcellen-cylinder, *g.* vette degeneratie hiervan, *h.* hyaliene (glasheldere) cylinder, *i.* wasachtige cylinder.

n. Kahn. *Leben des Menschen.*

azijn en 75 ccm water. Hyaliene cylinders worden lila, was-cylinders donkerder. Kernen donker lila, protoplasma lichter (fig. 107 en 108).

Oef. 167. Onderzoek van mestschimmels. Roer de mest met water tot een dikke pastei. Voeg wat bloedmeel of *gepoederde chitine* ($\pm 0,05\%$) toe en sporen K_2HPO_4 (zuur kaliumfosfaat) en $MgSO_4$ (magnesiumsulfaat).

Breng in een petri-schaal een vierkant stukje verband en leg hierop in 't midden de mestkoek, tot ± 1 cm hoog. Klap hierna de randen van 't gaas, alsof het een briefomslag is, over de koek dicht. Draai de koek om zodat de gladde vlakte boven komt. Breng op de koek in 't midden een stukje planktongaas (0,5—1 mm gaaswijdte, eerst goed uitwassen in heet water). Nu laat men de koek luchtdroog worden (deksel eraf) en steriliseert (deksel erop) bij 100—120° C. Het verdampste water aanvullen, door 't nog kokend te druppelen op de rand van het verbandgaas (deksel haast niet optillen!). Nu ent men sporen of stukjes mycelium op het verbandgaas en laat de mycelia groeien b.v. tot ze fructificeren, na ± 10 dagen. Dan neemt men het planktongaas (of delen ervan) eruit en kan deze kultuurtjes fixeren. 't Beste met Flemming; kleuren met karmijn-aluin of (beter) met lichtgroen safranine. Zie hoofdst. VIII § 2.

Oef. 168. Kweek Amoeben volgens Gerö. Breng in een kolfje met wijde hals (afgesloten door watten!)

250 cc. water

5 gr. manniet

0,25 gr. zuur kaliumfosfaat (KH_2PO_4)

0,25 gr. magnesiumfosfaat ($MgHPO_4$).

Ent hierin een mespunt aarde. Na 6—8 dagen komt de kaam met Amoeben (New Biology 10).

Oef. 169. Kweek Amoeba's als volgt.

Neem 1000 cc. water, breng hierbij 40 gr. schoongemaakte sla. Filtreer dit sla-infuus. Steriliseer $3 \times$ een uur op de damp. Breng hiervan 100 cc. + 1,5 gr. agar in petrischalen. Ent hierop uit de kultuur van oef. 169 met een platina-oogje.

Er ontstaan Bacterie-kolonies met eromheen een kring van Amoeba's (vaak geëncystreerd). Ent hieruit weer in sla-infuus, dan zijn na 3 dagen talloze Amoeba's aan het oppervlak aanwezig (niet schudden!).

Oef. 170. Vele *wieren* laten zich als volgt kweken:

Breng in hoge cylinderglazen (b.v. oude weckflessen) op de bodem eerst één theelepel gedroogd kippeëiwit (albumen ex ovo); daarop een laagje van 5 cm steriele aarde (te verkrijgen door aarde met kokend water te overgieten en vlug te drogen) en daarop een laagje eveneens gesteriliseerd zand.

Zet de flessen, bijgevuld tot enige cm onder de rand met water voor een raam op het Noorden. Zo laten zich goed kweken: *Micrasterias*, *Cosmarium*, *Closterium* etc.

Heeft men de aarde niet gesteriliseerd, maar gewone genomen (liefst na het mesten!) dan verschijnt meestal na 3—4 weken een dun wit laagje even boven de bodem (diffusiegrens) bestaande uit *Polytoma uvella* (oef. 164). In de volgende vloeistoffen kweekt men de erbij genoemde organismen. Men moet ze eerst steriliseren. Zie uitvoeriger volgende hoofdstuk! (Voor *Euglena* zie *New Biology* 19, voor *Chorella* *New Biology* 15).

Wieren (n. Benecke).

0,2 gr.	NH_4NO_3 .	(gekryst. ammonium-nitraat)
0,1 gr.	CaCl_2 .	(watervrij calcium-chloride)
0,1 gr.	K_2HPO_4 .	(tweebasisch of zuurkalium-fosfaat)
0,1 gr.	MgSO_4 .	(magnesium-sulfaat)
1 drup 1 %	FeCl_3	oplossing (ijzerchloride)
1000 gr.	gedist. water.	

Euglena is in water met 0,25 % Liebig's vleesextract gemakkelijk te kweken; *Spirogyra*, *Zygnema* en *Chara* in aquaria met zandbodem. *Oedogonium* in gewoon water, waarin een roestige spijker. Als men de kultuur een tijdje in 't donker houdt, ontstaan dikwijls zwerm-sporen.

Ook in vrij gec. zoutoplossingen vindt men organismen b.v. *Dunaliella*, te kweken in 100 cc. water met 5 gr. keukenzout (NaCl), 0,05 gr. 2 basisch of zuurkalium-fosfaat (K_2HPO_4) 0,05 gr. kaliumnitraat (KNO_3).

Hiermee voedt zich weer een Kreeftje (*Artemia*), waarvan de eieren vele jaren droog te bewaren zijn.

Schimmels wensen meest een zuur medium. Leg gedroogde pruimen 24 uur in zoveel water, dat ze juist bedekt zijn. Filtreer dit water, en dik in tot een stroop. Van deze stroop een beetje in water, geeft voor vele schimmels een goed kultuurmedium.

Gist

Moutextract	5 gr.
pepton	0,2 gr.
gelatine	10 gr.
water	100 cc.

Bacteriën (Zie ook volgend Hoofdstuk!)

water	100 cc.
pepton gedroogd	1 gr.
Liebigs vleesextract	1 gr.
keukenzout	0,5 gr.
(een beetje soda, zodat een lakmoespapiertje juist blauw wordt).	

Vele recepten in:

Moll. *Handboek der Mikrographie*. Groningen.

Kolkwitz. *Pflanzenphysiologie*. Jena.

Kostka. *Kultur der Mikro-organismen*.

Voor plantenziekten zie:

Erickson. *Die Pilzkrankheiten der landwirtschaftlichen Kulturgewächse*.

Idem: *Gartengewächse*. Stuttgart.

Verschillende deeltjes in de landbouwbibliotheek van Wolters: *Ziekten en beschadigingen onzer landbouwgewassen*. Idem van vruchtbomen, enz.

Oef. 171. Onderzoek van visziekten. De algemene gang van het onderzoek is: strijk van voor naar achter over een aan een ziekte lijdende vis en onderzoek dit materiaal op Eencelligen (voor kleuringen zie Hoofdstuk VIII).

De „schimmel” is meest een Achlya of een Saprolegnia en ziet er dan ongeveer uit als die afgebeeld in fig. 98.

Dikwijls zijn ook ééncelligen de schuldigen, en wel bij „Witte puntjes”-ziekte een *Ichthyophthirius*, terwijl o.a. ook veel voorkomen: *Chilodon cyprini* en *Cyclochaeta domerguei*. *Chilodon* ziet er wel wat uit als een jockeypet, terwijl *Cyclochaeta* voorzien is van een ring van haakjes, en aan de buitenrand van een krans van trilharen.

Literatuur:

Roth. *Die Krankheiten der Aquarienfische und ihre Bekämpfung*. Stuttgart.
C. v. Duijn Jr. *Diseases of Fishes*. London, 1956.

Wilhelm Schäperclaus: *Fischkrankheiten*. 3. Aufl. Akademie-Verlag, Berlin, 1954.

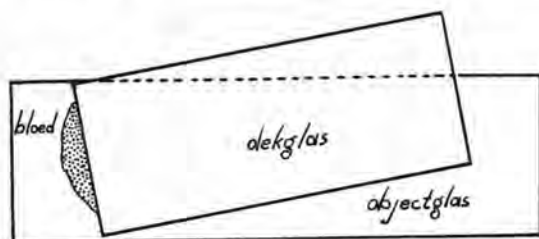
Mooie series prep. zowel uit 't dieren- als 't plantenrijk zijn in de handel. Tot de fraaiste behoren die van Sigmund (Franckh'sche Verl. Stuttgart).

HOOFDSTUK VII

BLOED EN BACTERIËN

Oef. 172. Methode om een bloedprep. te maken. ¹⁾ Op een zeer goed schoongemaakt objektglas een druppel bloed. Met een ander objektglas, met niet te ruwe rand, dit *uitstrijken* (fig. 109). Enige minuten laten liggen (luchtdroog). Nu $5 \times$ langzaam door de spiritusvlam halen, of beter 2 à 3 min. in methylalcohol leggen (dit is nodig voor de Giemsa-kleuring).

Fig. 109



Giemsa-kleuring (een methyleenblauw-eosine oplossing) gaat als volgt:

Een druppel Giemsa-kleurstof in 1 cc. gedist. water. Hiermee het bloedprep. bedekken. 15—20 min. laten inwerken, met spuitfles afspoelen en „afvloeien” (zachtjes! niet wrijven). Nu weer luchtdroog maken of $3 \times$ langzaam door de vlam. Druppel canadabalsem erop en dekglas.

Een aardig instrumentje, speciaal voor Giemsa-kleuring is de Roto-trofer. (Holborn, Leipzig). De inhoud is 15 cc., de vloeistof wordt uitgeperst door zijdelingse druk. Werkt zeer zuinig!

Voor parasieten in het bloed: Giemsa met azuurblauw (B.R.A.M., B.W. of R.A.L. kleuren, of Grübler). Zie Mikrok. '17/18, p. 98 en aldaar '19/20, p. 92. Karmijnkleuringen aldaar '19/20, p. 168 (verg. oef. 60).

De Giesma-kleuring gelukt het beste met een zeer nauwkeurig samengestelde oplossing, die een pH van 5,4 moet bezitten (dus enigszins zuur).

¹⁾ Zie over de historie van het bloedonderzoek: Schierbeek, *Bloed- en bloedvaten*, Utrecht 1950 (hierin veel lit.).

Er zijn fijnkorrelige, neutrofiele, leukocyten. Deze moeten zacht rose zijn gekleurd. De pathologische korrels (granula) zijn dan pikzwart. Om de goede pH te houden voegt men een bufferoplossing toe, o.a. verkrijgbaar bij Holborn, Leipzig.

Normaal vindt men per mm^3 4000—10.000 leukocyten en wel:

	in ‰
basofiele	0—1
eosinofiele	2—4
jonge staafvormige neutrofiele	0—1
staafkernige neutrofiele	3—5
segmentkernige neutrofiele	54—72
lymfocyten	21—35
monocyten	4—8

Om parasieten te vinden is het 't beste dat de pH 7,5 is (dus iets alkalisch, bijna neutraal). Men voegt hiertoe 2 cm^3 van 1/10 normaal natronloog, aan 100 cm^3 „gebufferd” water. Zie uitvoeriger Tieman in *Microwereld* juli 1950 (V, 7) en dec. 1950 (V, 12).

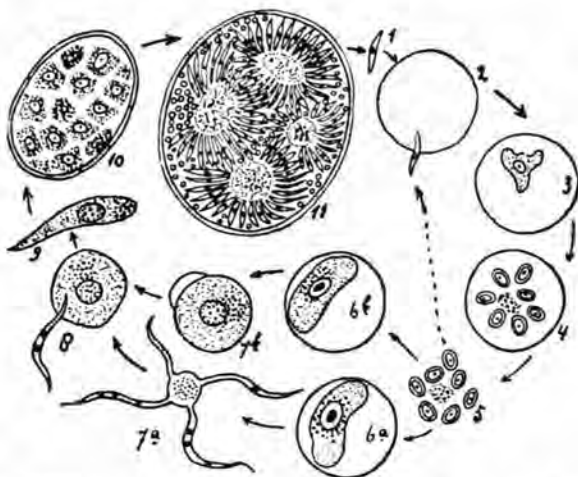


Fig. 110. Ontwikkeling van *Plasmodium malariae* (*n. Selenka*); 1 sporozoïd, 2 het indringen in een bloedlichaampje, 3—5 schizogonie in het bloedlichaampje, 6a en 7a ontwikkeling van de mikrogametocyten, 6b en 7b idem der makrogametocyten, 8 bevruchting, 9 oökieneet, 10 vorming der sporoblasten, 11 vorming der sporocyten.

Oef. 173. Methode Blumenthal.

Bloedprep. luchtdroog. Hierbij zoveel Giesma (1 deel Giesma op 3 dln. methylalcohol = methanol), dat prep. goed bedekt is ($\pm$ 20 druppels); 3—5 min. laten inwerken, dan 20 druppels gedist. water toevoegen, vloeistof wat heen en weer laten lopen, vlug afspoelen met gedist. water, drogen (zo nodig met gedist. water differentiëren).

Oef. 174. Vers bloed is goed te onderzoeken op de volgende wijze:

Maak een objektglas goed schoon (blz. 43) en breng hierop aan de éne zijde een drupje chloorethyl. Het aangeslagen water aan de andere zijde befrist. Leg hierop het dekglas (dus aan de zijkant!). Op het midden van het objektglas brengt men nu een heel klein druppeltje bloed en schuift er het dekglas over en drukt in 't midden nog eens goed aan. Dit preparaat kan men (direkt!) met een immersiestelsel onderzoeken, voor het stolt.

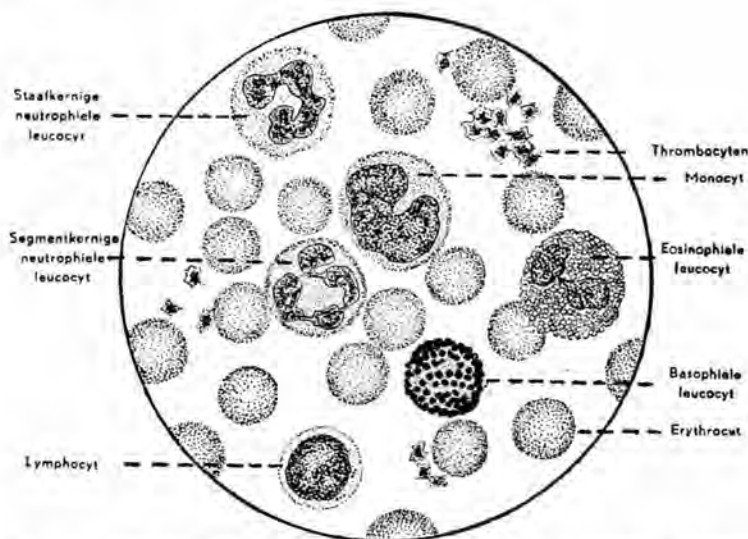


Fig. 111. Verschillende soorten bloedlichaampjes; leukocyten zijn witte, erythrocyten zijn rode bloedlichaampjes; thrombocyten zijn bloedplaatjes.

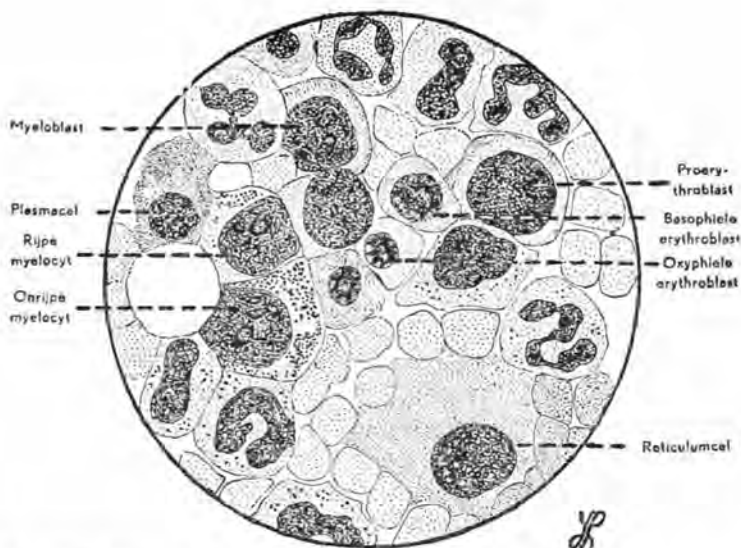


Fig. 112. Uitstrijkpreparaat van het rode beenmerg. Erythroblast = cel waaruit zich rode bloedlichaampjes ontwikkelen; reticulumcel = cel van de bekleding. (Uit Schierbeek. Bloed en Bloedvaten, tekeningen H. Lawant).

Oef. 175. Kleuring van bloed volgens Pappenheim.

Bloedpreparaat uitstrijken, niet fixeren, maar bedekken met een oplossing van eosinzure-methyleenblauw-oplossing volgens Hollborn in methylalcohol (methanol). Hierin 3 min. laten staan. Verdunnen met 1—5 druppels gedist. water en hierin 1 min. laten staan. Daarna Giemsa-kleuring 10—20 min., waarbij men de eerste kleurstof niet moet wegspoelen. Daarop drogen. De kernen worden violetblauw, de eosinofiele granula lakrood, basofiele blauw-violet, protoplasma der leucocyten lichtblauw, soms met fijne purperrode granula, erythrocyten roodachtig, de polychrome vormen hiervan blauwachtig, basofiele puntjes hierin cobaltblauw, bloedplaatjes of thrombocyten blauw met binnenin violetrode gedeelten (fig. 111 en 112).

Oef. 175a. Vorming der bloedlichaampjes. Reeds Malpighi, Swammerdam en Leeuwenhoek zagen de „bloedglobulen” (resp.

in 1661; vermoedelijk $\pm$ 1665, 1674), maar eerst in 1868 ontdekte E. Neumann, dat de rode bloedlichaampjes in het rode beenmerg gevormd worden. Men kan van een slager bijv. een vers borstbeen krijgen en ze hierin, in een „strijkpreparaat” vinden. De witte bloedlichaampjes worden in de milt en de lymfklieren gevormd. De rode leven ca. 130 dagen.

Literatuur:

M. Bessis, *Cytologie sanguine normale et pathologique*. Masson & Cie. Paris, 1948.

J. V. Dacey, *Practical haematology*. Churchill Ltd, London 1950.

H. G. Hansen & Alexander Rominger, *Das Phasenkontrastverfahren in der Haematologie*. Nordmark-Werke, Uutersen, Holstein, 1953.



Fig. 113. Bacteriën van het Tandslijm.
a *Bacillus buccalis* en *Leptothrix buccalis*, a* idem na jodiumbehandeling, b *Micrococcus*, c *Spirochaeta dentium* na jodiumbehandeling, d *Spirillum putigenum*. 800 $\times$.

n. Strasburger.

Bacteriën

Oef. 176. ¹⁾ Bacteriën van het Tandslijm. Krab met de nagel een beetje wit beslag van de tanden en kiezen. Strijk dit uit op een goed schoon objektglas. Breng hierbij een druppel water en bezie met een sterke vergroting deze bacteriën.

Sommige bewegen zich vrij sterk. Met een 100 $\times$ vergroting (Tamí) zijn de grootste bacteriën al te zien. Voor een nauwkeurig onderzoek is een immersiestelsel vereist! Van Leeuwenhoek zag deze tandslijm-bacteriën in 1683 (fig. 113) en in 1676 reeds bacteriën in een peperinfuus.

¹⁾ Het kweken van bacteriën bergt uiteraard gevaren in zich, zodat men uiterst voorzichtig moet zijn!

Oef. 177. Breng Bacteriën van het tandslim of die van een bacteriekultuur (b.v. het kaamvlies dat zich vormt op een kultuur met rottend hooi van *Bacterium subtilis*, of het kaamvlies dat zich vormt bij de zuurkoolbereiding, melkzuurbacteriën en *Oospora lactis*, schimmel; en in 't begin ook *Bact. subtilis*, *Escherichia coli*, daarbij een gist *Saccharomyces acidae brassicae*) op het objektglas en kleur de bacteriën:

- a. met jodium (joodjoodkalium, beter is echter joodwater, d.i. een druppel jodiumtinctuur in een horlogeglas met water).
- b. breng in de holte van een holgeslepen objektglas wat O.I. inkt (b.v. Pelikantusche 541 van Grübler) en smeer om de rand wat vaseline. Breng daarna op een dekglas met een platina-oogje wat materiaal uit een bacteriekultuur. De bacteriën komen dan licht uit tegen een donkere achtergrond.
- c. De meest algemeen bacteriekleuring is als volgt. Breng de bacteriën op het objektglas en wrijf het materiaal wat uit. Haal het objektglas langzaam (met een snelheid alsof men brood snijdt) $3 \times$ door een niet gekleurde gasvlam of door een spiritusvlam, met de bacteriën naar boven. Hierdoor zijn ze gefixeerd. Breng op het objektglas nu een flinke druppel methyleenblauw (heel klein beetje oplossen in water, de oplossing is diepblauw). Gentiaan-violet, fuchsine en vaak zelfs een druppel water met wat inktpotlood geven ook goede resultaten! Verhit nu boven de vlam (vasthouden van het objektglas met een Ehrlich's pincet is 't gemakkelijkst) tot de methyleenblauwoplossing *even dampen* afgeeft. Spoel af met water. Vloei af (N.B. niet wrijven!), laat goed droog worden. Breng er een druppel canadabalsem en een dekglas op, of onderzoek met een immersiestelsel en breng dan de cederolie direkt op 't preparaat. (Later flink met xyleen afspoelen!)

Een indeling der Bacteriën.

Men onderscheidt de volgende groepen:

Coccen (= Kokken). Deze zijn rond; *Staphylococcen* zijn iets langwerpig en liggen bij hoopjes; *Gonococcen* zijn koffieboonvormig; *Pneumococcen* hebben enigszins de vorm van een kaarsvlam.

Staafjes-Bacteriën zijn vrij lang; de sporenvormende staafjes-bacteriën heten *Bacillen*. De anaerobe *Bacillen*, die dus zonder aanwezigheid van zuurstof kunnen leven heten *Clostridiën*.

Spirochaeten zijn buigzaam, kurketrekkervormig. Zij bewegen zich voort door kronkelingen van het lichaam en dus niet door trilharen.

Spirillen zijn kurketrekkervormig en hebben een star lichaam. Zij bewegen zich voort door middel van trilharen.

Oef. 178. Kleuring van Sommerfeld. Kleur het preparaat op de aangegeven wijze met waterige methyleenblauwoplossing. Spoel af. Trek de kleur uit (differentieer) tot, met 't blote oog gezien (dus makroskopisch), geen blauw meer zichtbaar is, met ethanol 96 % en formaline, gelijke delen. Spoel met water af. Breng 't prep. 10 sec. in een waterige eosine oplossing. Spoel af, droog etc. als in oef. 177.

Oef. 179. Gonococcen (Kokken, Neisseria) zijn z.g. Gramnegatief. Dit kan met aniline-water-gentiaan-violet, maar beter met de (houdbare!) 0,5 % methylvioletooplossing 6 B met joodjoodkalium (1 : 2 : 100) en nakleuring met 0,1 % neutraalrood. Nog eenvoudiger is het volgende: op het preparaat met de gonococcen legt men een filtreerpapiertje, drenkt dit met 1 % gentiaanviolet in water en laat dit enige tijd inwerken. *Micrococcus*, *Diplococcus* enz. zijn Gram-positief, Gonokokken nemen alleen de tegenkleuring aan. *Streptococci* liggen in hoopjes bij elkaar.

Oef. 180. Kleuring van Ziehl-Neelsen voor zuurvaste bacteriën (o.a. tuberkelbacillen).

Fixeer het materiaal als in oef. 177.

Kleur met fenolfuchsine (wrijf in een mortier 1 gr. fuchsine met 5 gr. fenolkristallen = phenolum crist. en een beetje gedist. water. Spoel dit mengsel met 10 gr. alcoh. absol. (ethanol) en de rest van 100 gr. gedist. water in een flesje), gedurende $\pm$ 2 min. onder verwarming, zodat dampen opstijgen.

Spoel af met water. Breng 't prep. 5 sec. in 20 % salpeterzuur en daarna in ethanol 60 % tot de kleur makroskopisch verdwenen is. Spoel af met water, en druppel daarna 30 sec. verdunde waterige methyleen-oplossing op het prep. Spoel af met water, droog etc. als in oef. 177. De tuberkelbacillen zijn rood, de andere blauw.

Oef. 181. Tuberkelbacillen in sputum. De methode van oef. 180 kan nog verbeterd worden als volgt. Voeg bij het sputum (speek-

sel, slijm) normaal kaliloog. Verwarm op een waterbad bij 50° en centrifugeer. Kleur het luchtdroge preparaat (uitstrijksel) met fenolfuchsine en ontkleur met zoutzure ethanol (1 % HCl, desnoods met gewone brandspiritus inplaats van ethanol 96 %). Nakleuring met haematoxyline en koude verzadigde oplossing van lithiumcarbonaat, ieder 1 deel; ethanol en gedist. water ieder 20 dln. Afspoelen. Ontkleur even met ijzerchloride-oplossing: de tuberkelbacillen zijn groenrood, de elastische vezels blauwgroen.

Oef. 182. Kleuring van Bacteriekapsels volgens Johne. Verwarm het gefixeerde prep. (oef. 177) met 2 % waterige methyleenblauw-oplossing tot dampen ontstaan. Spoel af met water. Breng 't prep. 10 sec. in 2 % azijnzuur. Spoel af met water. Onderzoek in water. Deze methode is verouderd, maar voor „amateurs” nog heel bruikbaar.

Oef. 182a. Kleuring van Bacteriekapsels volgens A. Novelli (1952). Droog dunne, vlak uitgespreide laagjes in de lucht. Fixeer door passage in de vlam (oef. 177). Bedek de laag bacteriën met een verdunde oplossing van Alcian Blue 8GN 150, 1 gr. opgelost in alc. abs. (ethanol) 100 cm³. Kleur 1 minuut. Spoel af in leidingwater. Kleur met verdunde oplossing (1 : 100) Ziehl-Neelsen (oef. 180) (3—5 fenolfuchsine). Spoel zeer goed af in leidingwater. Droog het prep. en sluit in.

Oef. 183. Kleuring van Bacterie-trilharen volgens Löffler. Strijk 't bacteriemateriaal uit in gedist. water. Droog 't prep. hoog in de vlam. Beits 1 min. in Löffler'se beits, tot dampen komen. Löffler's beits is:

10 cc. verzadigde fuchsine-oplossing.

50 cc. koud verzadigde ferrosulfaatoplossing.

100 cc. van een 20 % waterige tannineoplossing.

enige druppels 1 % natronoplossing.

Spoel goed af in water, dan in ethanol 96 %. Kleur met aniline-water-fuchsine-oplossing, d.i.: veel fuchsine in 100 cc. gedistilleerd water, waarin reeds 5 cc. zuivere aniline is gebracht. Schud de oplossing en filtreer. Voeg nu enige druppels natronloog 1 : 1000 toe, tot een lichte troebeling ontstaat. Spoel af met water, droog

en breng in canadabalsem of Caedax (oef. 177). Deze methode is verouderd, maar voor „amateurs” nog heel bruikbaar.

Oef. 184. Kleuren van trilharen van Bacteriën volgens Slootweg. Deze Haagse amateur gaf de volgende nieuwe methode:

1. Breng op een vetvrij objektglas een druppel zoutsolutie met wat Bacteriemateriaal. Laat dit circa 15 min. rustig staan.
 2. Breng op een 2de objektglas een druppel zoutsolutie met 3 mm³ (3 oogjes) osmiumzuur 2 %.
 3. Breng uit druppel 1 iets over in druppel 2 en spreid zeer voorzichtig uit.
 4. Laat luchtdroog worden.
 5. Fixeer met Ruge (ijsazijn 1 ccm, formaline 40 % 20 ccm, gedist. water 100 ccm). 2 × vernieuwen, gedurende 1 min.
 6. Spoel met waterstraaltjes 2 min.
 7. Laat aan de lucht drogen.
 8. Beits onder zachte verwarming, tot dampvorming boven de vlam of waterbad (60—80° C), gedurende 3 min. (beitsvloeistof: 20 % waterige tannine-oplossing 10 ccm; verzadigde opl. van sublimaat 5 ccm; verzadigde opl. van aluin 5 ccm; fenol-gentiaanviolet 5 ccm). Deze laatste als volgt te bereiden: gentiaanviolet 5 gr in ethanol 96 % 95 ccm. Hiervan 10 ccm bij 90 ccm van een oplossing van 1 gr gekrist. fenol in 100 gr water.
 9. Goed uitspoelen onder waterstraal. 2—5 min.
 10. Aan de lucht laten drogen.
 11. Kleuren met formaline-kristalviolet onder zachte verwarming. Hierbij mag de vloeistof niet koken! Gedurende 5 min. iedere minuut 1 × verwarmen, tot dampvorming. Kleurstof van Slootweg: formaline 40 % 200 ccm; kaliumhydroxyde 1 % 2 ccm; kristalviolet 9½ gram.
 12. Afspoelen onder waterstraal (kort).
 13. Drogen.
 14. Insluiten in Canada-balsem of beter in Caedax.
- Deze methode geeft betere resultaten dan de moderne methode van Zettnow of die van Muir.

Einar Leifson, *Atlas of bacterial flagellation*. Academic Press, New York & London, 1959.

Oef. 185. Bacteriën kleuren met kolloïdaal zilver (Collargol v. d. Heyden; Dresden). Oplossing maken van 1—2 % (een beetje, want zo niet te bewaren!).

Ieder zilverdeeltje heeft een middellijn van $\pm 0,00002$ mm, zodat de oplossing schijnbaar homogeen is. Laat het prep. (b.v. tand-slijm, wortelknolletjes der Vlinderbloemigen) 2×24 uur liggen in Collargol 1 %. Breng nu het prep. even in 2 % fixeernatron (van de fotografie), spoel met water af en droog aan de lucht. De bruine kleur is nu veranderd in staalblauw. Zeer geschikt voor projectie!

Oef. 186. Kweek bacteriën op de wijze, genoemd in onderstaande werken. Hiertoe is 't nodig het kultuurmedium te steriliseren. Het beste geschiedt dit met een autoclaaf, een toestel waarbij onder hoge druk water wordt gekookt. De temperatuur stijgt hierbij wel tot 120° . Beschikt men niet over een autoclaaf, dan kan men het kultuurmedium (verg. blz. 166) op twee of drie achtereenvolgende dagen een uur lang koken. Men kan ook voedingsbodems gereed kopen (Blomberg, Haag).

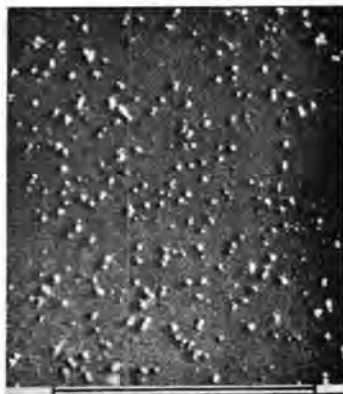


Fig. 114 en 115. *Bacterium thyposum*, opgenomen met een elektronenmikroskoop en haemocyanine moleculen $\pm 35.000 \times$. De maatstreepjes geven 1μ aan.

Oef. 187. Een aardige methode is de *streepjes methode* van Brohmer. Op een gesteriliseerd dekglas brengt men zeer weinig vloeistof uit een gemengde bacterie-, gist- of schimmelcultuur, met behulp van een tekenpen of een tandenstoker, door kleine streepjes te zetten. Men legt daarna het dekglas omgekeerd op een hol geslepen objektglas met wat vaseline aan de rand.

Men kan nu ook gemakkelijk één soort isoleren (*reinkultuur*), door met een zeer sterke vergroting de verschillende streepjes na te gaan en te zien in welk zich het gezochte organisme bevindt. Dit merken met een inktstreepje en daarna 't dekglas omkeren en uit het aldus aangegeven streepje materiaal nemen met een gesteriliseerde platinadraad (n.b. eerst door de vlam halen) en brengen in gesteriliseerde voedingsbodem-oplossing (fig. 116 en 117).



Fig. 116. Streepjeskultuur. Zie tekst.

n. Brohmer-Lindner.

Oef. 188. Aardig is b.v. het onderzoek van zure melk. De vetbolletjes hebben een middellijn van $1,5-5 \mu$. Goede melk mag geen tuberkelbacillen bevatten en hoogstens 10.000 kiemen van onschadelijke bacteriën per cc. (Slechte bevat dikwijls meer dan 300.000 per cc).

Men vindt o.a. Melkzuur-diplococci (*Streptococcus lactis*) en Melkzuur-bacteriën (*Bacterium caucasicum* en *Thermobacterium delbrücki*; bij room-verzuring: *Thermobacterium bulgaricum*); in „kefir” komt *Bact. caucasicus* voor. De eerste komt verreweg 't meeste voor. Kleuren volgens Gram-Barke: *a.* drie minuten kleuren met 1 % methyl-violet-oplossing (100 cc van deze oplossing met 5 druppels van een 5 % natrium bicarbonaat-oplossing).

b. Afspoelen met oplossing van Lugol (1 dl. Jodium, 2 dln. Joodkalium, 300 dln. gedist. water). 1 Minuut hierin laten. *c.* Daarna afspoelen met leidingwater. *d.* Laten drogen tot 't prep. nog iets vochtig is. *e.* 10 sec. in ether-aceton (1 : 3) tot geen kleur meer afgegeven wordt. *f.* Laten drogen en nakleuren met 2 % safranine oplossing in water. *g.* Afspoelen. *h.* Goed drogen. *i.* Xyleen en dan in canadabalsem of caedax. Het laatste is beter (Thaber 1939).



Fig. 117. Maken van preparaat volgens de streepjesmethode van Brodsky.

Oef. 189. Spirillen uit Varkensmest. Breng wat varkensmest in een hoog cilinderglas met water. Laat enige dagen staan. Dan komt de kaam. Hieronder mooie grote spirillen. Vooral te zien bij toepassing van O.I. inkt (*oef. 177*).

Oef. 190. *Fenolbacteriën.* Behalve door selekteren op voedingsbodems kan men bepaalde bacteriën ook krijgen door de *ophopingsmethode* (wet van Beyerinck: alles is overal, het milieu selekteert). H. Nicol (1939) geeft het volgende voorbeeld. Neem 8 (beter 2×8) hoge glazen en vul het eerste met het onderstaande mengsel; doe een theelepel gekrist. fenol („carbol”) in 1 liter water, en los dit goed op. Neem een kopje of glas waarin ongeveer de helft van de inhoud der hoge glazen en doe in alle hoge glazen,

behalve de eerste, zo'n klein kopje met water, en in de eerste twee kopjes van de fenoloplossing. Giet dan één kopje uit glas 1 in glas 2; uit het mengsel van glas 2 weer de helft in glas 3, enz. tot glas 8. Men heeft dan dus de standaardoplossing en deze verdund tot $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$, $\frac{1}{16}$, $\frac{1}{32}$, $\frac{1}{64}$, $\frac{1}{128}$. Neem nu een theelepeltje aarde uit de tuin of uit een bloempot, voeg hierbij een halve theelepel dikaliumfosfaat (K_2HPO_4) en een theelepel ammoniumsulfaat ($(NH_4)_2SO_4$). Schud dit mengsel in een fles met water en laat de grove bestanddelen bezinken. Neem een kopje met dit mengsel en voeg dit bij de inhoud der glazen (ieder een kopje). Na verloop van enige tijd (b.v. een week) zijn de middelste hoge flessen troebel: de hoogste concentraties zijn te sterk, de laagste te zwak voor deze fenol aantastende bacteriën!

N.B. H. Waterman ontdekte in 1912, dat verschillende schimmels fenol als koolstofbron kunnen gebruiken.

Oef. 191. Bodembacteriën volgens Cholodny 1930. Men maakt een gleuf in de bodem, waar een goed gereinigd objektglas in past, in de lengte of in de hoogte, en geeft de plaats aan met enkele stokjes. Na enkele dagen haalt men deze glaasjes (liefst vrij vele gebruiken) voorzichtig uit de grond, waarbij men aan één zijde alles onaangeroerd laat. De andere zijde wordt gereinigd. Men zet de glasplaatjes nu met de aarde-zijde naar boven een korte tijd in water, zodat de aardedeeltjes eraf gaan en haalt de objektglazen met de aarde-zijde naar boven door de vlam van een Bunsenbrander. Men kleurt nu $\pm$ ($\frac{1}{2}$ uur) met fenol-erythrosine volgens Winogradsky (Grübler), laat drogen en voegt Canadabalsem toe of laat het prep. luchtdroog. Blijft jaren goed!

Zie J. Smit, *Mikrobiologie van de akker*.

Door vitaalkleuring met Akridine-oranje (blz. 189) kan men vaak veel bodembacteriën vinden (Sturgger 1944).

M. Alexander, *Introduction to Soil Microbiology*, London 1961.

Oef. 192. Azotobacter is een *Bacillus*, die stikstof weet vast te leggen uit de lucht. Breng in een Erlenmeyer van 500 ccm, 200 ccm van de volgende voedingsoplossing (op 100 ccm leidingwater 2 gr. glucose en 0,02 gr. dikaliumfosfaat, K_2HPO_4 ; de oplossing reageert alkalisch). Ent met 5 gr. goede tuin- of akker-aarde, sluit de huls met een wattenprop en laat op een warme ($27-30^\circ C$) plaats

een week staan. Er vormt zich een kaamvlies dat aan de glaswanden omhoog kruipt; dit bestaat uit gistachtige cellen van *Azotobacter*, met slijm omgeven. Maak prep. in O.I. inkt, en kleur met oplossing van Lugol (oef. 188). *Azotobacter* wordt geel. Meest vindt men kleine bacteriën en flagellaten om de *Azotobacter*.

Oef. 193. Kernkleuring van Bacteriën. Tulasne en Vendrely geven op (*Nature*, 1947 No. 4059), dat men bij *Escherichia coli* en *Bacillus anthracis* een prachtige kernkleuring kan krijgen. Fixeer met de vloeistof van Chabaud (ethanol 80 % 60 cm³, fenolium crist. 15 gram, formaline 5 cm³, azijnzuur 2 cm³). Voeg daarna een 2 % oplossing toe van ribonuclease bij 60° C, en spoel daarop met water en kleur met Giemsa (oef. 172). Hierop drogen.

Oef. 194. Spirochaeten uit een oester. Snijd de sluitspier van een oester door en sla één klep van de schaal op. De maag ligt tussen de sluitspier en de slotrand (de verbindingsplaats der schalen) en is bijna altijd door de lever bedekt. Open de maag met een fijn schaartje en breng iets van de inhoud in fysiologische zoutoplossing (0,75 %), op een objectglas. Zoek de Spirochaeten op (*Sp. balbiani* is bijna altijd aanwezig) en maak een uitstrijkpreparaat door een beetje van de maaginhoud uit te strijken als in fig. 109. Fixeer met sublimaat-ethanol en kleur met karmijn (zie hoofdst. VIII). De z.g. „kern” is dan duidelijk als een spiraalvormige draad door het gehele lichaam te zien. Insluiten via ethanol en xyleen in Canadabalsem. De „kern” bestaat uit verspreide korreltjes desoxy ribo-nucleïnezuur, een stof die ook in de chromosomen van de hogere organismen voorkomt, maar men is niet geheel zeker dat deze stof hier dezelfde functie heeft (zie Hoofdstuk VIII).

Literatuur:

Van de vele boeken over bacteriologie wordt de aandacht gevestigd op slechts enkele:

Een aardig boekje voor beginners is nog steeds: M. Oettli, *Versuche mit lebenden Bakterien*. (Franckh. Stuttgart). Uitvoeriger zijn:

E. Beinicker, *App. und Arbeitsmethoden d. Bakteriologie* (serumonderzoek).

A. Reitz, *App. und Arbeitsmethoden der Bakteriologie*.

Kostka, *Die Kultur der Mikro-organismen*. Handb. prakt. naturw. Arbeit. (verg. Mikrok. 1927/28, p. 25, Slijkkulturen) Franckh. Stuttgart.

A. Calmette e.a., *Manuel technique de Mikrobiologie et Sérologie*, Paris.
 Veel kultuurvoorschriften in Moll: *Handbuch d. Mikrophie*.
 R. Abel, *Bakteriologisches Taschenbuch*, Würzburg.
 Knöll, *Bakteriologie für Jedermann*. Stuttgart 1935.
Practicum der Bakteriologie und Protozoologie. I. Teil. *Bakteriologie*,
 Dr. Karl Kisskalt. II. Teil. *Protozoologie*, Prof. Dr. M. Hartmann.
 G. Fischer, Jena.
 O. Olsen, *Bakteriolog. Taschenbuch*. Leipzig.
 Janke and Zikes, *Arbeitsmethoden der Mikrobiologie*. Dresden 1928.
 A. Selman Waksman, *Principles of Soil Microbiology*. Baltimore 1927.
 H. Sandon, *The Composition and Distribution of the Protozoan Fauna
 of the Soil*. London 1927.
 H. Nicol, *Microbes by the Million*. London Pelican 1930.
 P. Lindner, *Atlas der mikroskopischen Grundlagen der Gärungskunde mit
 besonderer Berücksichtigung der biologischen Betriebskontrolle*. III. Aufl.
 Berlin 1927.
 Sir Arthur Shipley, *Hunting under the Microscope*. London 1928.
 A. J. Kluyver and C. B. van Niel, *The Microbe's Contribution to Biology*.
 Harvard-Cambridge. 1956.
 L. E. den Dooren de Jong, *De microben als vriend en vijand van de mens*,
 1959 (2 dln.).

*Om teleurstellingen te voorkomen wordt uitdrukkelijk de aandacht
 erop gevestigd: 1e. dat men voor bacteriekulturen bijna steeds een
 t h e r m o s t a t nodig heeft (Hoofdstuk VIII); 2e. dat het zeer
 moeilijk is om alle voorzorgen in acht te nemen, opdat men
 werkelijk één soort bacterie kweekt (reinkultuur) en niet een ver-
 ontreinigde mengcultuur! 3e. dat men moet oppassen geen ge-
 vaarlijke bacterie te kweken!*

In plaats van de wattenproppen op de buisjes met kulturen van
 Bacteriën, heeft men de aluminium-sluiting van Kapsenberg (1940)
 en de glasstolp van Knöll (1941). Het voordeel is dat de kultuur-
 media niet uitdrogen.

Mooie Bacterie-prep. zijn in de handel b.v.:
 Sigmund (Stuttgart Franckh'sche Verl.), Spaltpilze.
 Turtox (Chicago).

Zij, die zich interesseren voor de historie der ontdekkingen op
 mikroskopisch gebied, mogen verwezen worden naar Schierbeek's
monografieën over Leeuwenhoek en Swammerdam (1950/51 en
 1947). Zie verder de Kruijff, *Bacteriejagers*.

HOOFDSTUK VIII

BLIJVENDE PREPARATEN, KLEURINGEN

§ 1. *Bewaren der preparaten*

Het kleuren der preparaten en het goed conserveren ervan is vrij ingewikkeld en valt daardoor ten dele buiten dit boekje. Verschillende wenken voor hen, die het willen proberen volgen hier. *Zeer zuiver werken, geen stof of vuil! Direkt een etiket opplakken. Behandeling etc. ook aantekenen!*

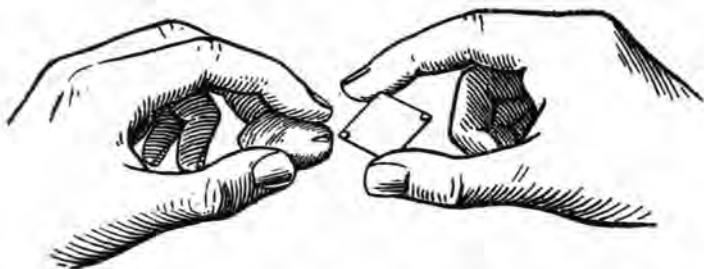


Fig. 118. Het maken van wasvoetjes, door beetjes was af te krabben van het wasblok. n. Günther.

- I. Vlinderschubben etc. *in lucht*. Langs de randen van het dekglas een rand van canadabalsem, verdund met xyleen.
- II. *In vloeistof*. Als het prep. te dik is, maakt men in de hoeken *wasvoetjes*, door een beetje was, ter grootte van een speldeknoop aan het dekglas te hechten (afschrappen!).
- Is het preparaat nog dikker, dan maakt men *steunlijsten*. Dit kan:

- a. kleine strookjes glas, op het objektglas vastkitten met canadabalsem. Dit zijn steunlijsten (van 4 zulke steunlijsten kan men ook een vochtige kamer maken!) Daarna *afsluiten* met:
- b. paraffine, gesmolten, hierover b.v. schellak in ethanol.
- c. asfaltlak (zie bij e). N.B. niet direkt met glycerol in aanraking brengen!

- d. *Canadabalsem*¹⁾ opgelost in terpentijn (of in chloroform, benzeen of nagelolie) tot een stroop. Met een *dun glasstaafje* herhaaldelijk de canadabalsem erop brengen, bij kleine beetjes. (Op deze wijze ook de asfaltlak erop brengen, als 't dun vloeibaar is met een *penseel*). Na afloop wat asfaltlak.
- e. was, waskaars even aansteken en af laten druipen. Men gebruikt hierbij vaak een toestelletje als in fig. 119 aangegeven:

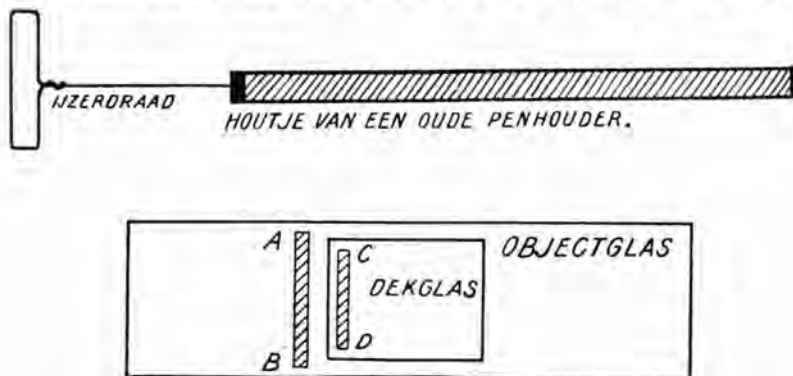


Fig. 119.

Nog beter voldoet een koperen plaatje, dat iets breder is dan een dekglas.

Men verwarmt dit in de vlam (spiritus-, of niet-gekleurde gasvlam) en steekt dit in de was. Nu de streep op het objektglas, dat goed schoon moet zijn. Om het dekglas de 4 strepen (zoals *AB*). Daarna op het dekglas (*CD*). Als dit aan alle 4 kanten gebeurd is (strepen zowat 2 à 3 mm van de rand), dan de tussenruimte *opvullen met asfaltlak* (Maskenlak III van Grübler) of Deckglaskitt van Krönig (met spatel). Bij ronde dekglazen de ringen b.v. maken met behulp van een buis van de goede grootte (in de was dopen), of met een draaitafeltje (goed model in: Günther, *Mikroskopie f. Jedermann*. Franckh. Verl. p. 95; naar *Mikrokosmos* 1912/12, Heft 8), dat men zelf kan maken:

¹⁾ Afkomstig van *Abies balsamea* en ook wel van *A. fraseri*, soms zelfs van *Tsuga canadensis*.

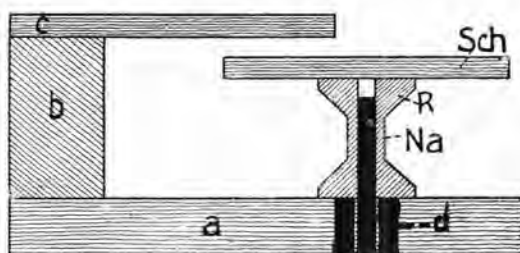


Fig. 120. Lengtedoorsnede door de draaischijf van Wönthoff. Op $\pm \frac{1}{2}$ nat. gr. (n. Günther). Na = spil (spijker), d koperen buisje, a, b en c onderwand, opstaande wand en bovenplankje, Sch = draaischijf, R = garenklosje.

Het garenklosje met de hand draaien. Op de schijf het preparaat met behulp van klemmen vastzetten. De plank c is ook aan de zijkanten ondersteund.



Fig. 121. Toestel van fig. 120 geheel klaar.

a. is 22×13 cm; b. is 6 cm; c. is 14 cm lang, pl.m. 1 cm dik. De schijf heeft midd. van 12 cm.

Glycerolprep. kan men 't best omranden met canadabalsem in terpentijn. Dit hecht ook op een vuil dekglas, en asfaltlak niet goed. Niet te veel vloeistof nemen!

Glycerolprep. geven vaak moeilijkheden bij het bewaren. Aanbevolen wordt de „voetjes” onder het dekglas te maken van dekglas-splintertjes en dan te omranden met *Goldsize* (= Goldgrund) van Holborn of Japanse Mikroskoperlack (van Troplowitz, Eisenach). Dit is een lijnolievernis. Met een dun glasstaafje langs en onder het dekglas te brengen. De rand van het dekglas moet ook hierbij absoluut schoon zijn!

Opgegeven wordt dat 't volgende afdoende is (Kousal, 1937): Wrijf in een vuurvast porceleinen schaalte in lijnolie zoveel menie, dat een vaste pasta ontstaat. Verhit dit mengsel, op een gaasje, 2—4 uur, terwijl de lijnolie kookt. Als de kleur dan helder is geworden en de olie niet meer zo vloeibaar is, voeg dan zoveel

kleine stukjes bijenwas toe als gemakkelijk gaat; alles moet goed oplossen. Roer nog steeds om, boven de vlam (voorzichtig!). Voeg enkele brokken dammarhars toe (van enkele cm³), steeds roerend tot het mengsel aan het houten roerstaafje blijft kleven en niet weer afdruipt. Neem met het bekende driehoekspateltje hier wat vanaf (nadat de pasta afgekoeld is), na dit spateltje goed verwarmd te hebben. Zet eerst twee lijsten tegenover elkaar, dan pas de aansluitende randen. Het hindert niet of er wat glycerol bij de randen lag! (fig. 119).

Een andere methode voor *glycerol-* en *formaline-prep.* is wellicht nog beter. 1e. Breng op het objektglas een ring aan van warme gelatine. 2e. Breng hierin, na afkoeling, het prep. in glycerol of formaline. 3e. Dek dit toe met een dekglas van b.v. 18 mm, dat buiten de ring uitsteekt. 4e. Druk met een zachte klem (b.v. zelf van een koperdraadspiraal te maken) het dekglas wat aan, zodat het goed op de ring past. 5e. Spoel met een zacht straaltje ethanol de glycerol buiten de ring weg. 6e. Breng nu onder de rand canadabalsem of Goldsize.

Spence gaf (*Microwereld*, mei 1950) aan, dat men een objekt in een waterig medium kan insluiten door het prep. te omranden met een brede ring vaseling, later een tweede ring van Schellak. Het prep. wort het best gebracht in glycerol 3 dln., water 1 deel. In het algemeen voldoen prep. in water of glycerol niet op de duur. B. Brouwer gaf een methode aan (*Microwereld*, mei 1949) o.m. met behulp van twee dekglazen. De prep. bevinden zich in glycerol, tussen een klein en een groot dekglas. Aldus laat men ze zakken in een dikke druppel Canadabalsem, die dan de vrije rand met het grotere dekglas opvult.

Kit volgens R. du Noyer. Voor insluiten in waterhoudende media (b.v. planktonprep. gefixeerd in 4 % formaline) kan men de „lut de R. du Noyer” zeer goed gebruiken (*Microwereld*, p. 798). Deze kit bereidt men door 20 gr. watervrije *Lanoline* (wolvet) te verhitten in een porceleinen of metalen schaalje tot al het eventueel nog aanwezige water verdampt is. Daarna voegt men 80 gr. *Colophonium* bij en verhit tot alles gesmolten is, onder voortdurend omroeren. Met het in fig. 119 afgebeelde werktuigje, dat

eerst goed verwarmd is, neemt men een beetje van deze kit (uitgegoten in een ondiepe blikken doos) en brengt zo vlug mogelijk (de kit stolt snel!) een rand van circa 3 mm op het objektglas en het daaropliggende dekglas, waaronder het prep. zich bevindt. Daarna de rand glad maken. Deze kit is niet kleverig en kan tegen een stootje. Steunlijsten zijn niet nodig.

Door E. Dujardin wordt tevens aangeraden plankton te bewaren in laktofenolkoperoplossing, vooral als er organismen bij zijn met chlorofyl.

III. *In glycerol-gelatine*

Voor steunlijsten etc. zie sub. II.

Los 3 gr. gelatine op in 15 cc. warm water. Voeg 15 cc. glycerol toe, en later 1 druppel 10 % fenol. Laat afkoelen. Neem een blokje van het mengsel. Leg dit naast het prep. op het objektglas (Prep. in glycerol, of water). Verwarm het objektglas en laat de glycerol-gelatine om het prep. vloeien. Dan dekglas er op. Na pl.m. $\frac{1}{2}$ jaar omranden met canadabalsem in terpentijn, zoals sub. II aangegeven, of met Goldsize. (Ook kan men voorzichtig poeder van loodoxyd er omheen strooien (Mikrok. '16/17 p. 90) en zacht er tegen wrijven).

IV. *Diatomeeën*, wier kiezelpantser ongeveer dezelfde brekings-index heeft als het gewone insluitmateriaal, sluit men in *styrax-balsem*, in lucht of in *Einschluss-medium nach Kolbe-Wislauch* van de firma Paul Altman, Berlin. Ook is goed *Tolufix* I (nD = 1,5437); *Tolufix* II (nD = 1,5900); *Diatomeeën-medium* H. I (nD = 1,6503; *Diatomeeën-medium* H. II (nD = 1,5986). De beide laatste voor zéér dunne schalen. Fa. Dr. Karl Holborn u. Söhne. Leipzig.

De brekingsindex van de verschillende insluitmedia loopt nogal uiteen:

<i>Canadabalsem</i>	. . .	nD 1,526	
<i>Styrax</i>		1,582	(Europa, <i>Liquidambar orientalis</i>)
<i>Styrax</i>		1,63	(Amerika, „ <i>styraciflua</i>)
<i>Sirax</i>		1,66	
<i>Hyrax</i>		1,71	
<i>Realgar</i>		2,549	

Hyrax en *Sirax* van de firma Watson, London, en van Flatters & Garnett, Manchester, voldoen zeer goed.

Zeer goed is de insluitthars: *turttox*, waarbij geen gehele ontwatering nodig is. Men kan dan preparaten in ethanol 96 % dadelijk hierin overbrengen (Biol. Supply House, 2800 South Ave, Chicago 20).

Zeer goede resultaten geeft *Octachloordiphenyl* ($n_D = 1,75-1,8$). Diatomeeën op het objektglas, druppel vloeistof op het dekglas, dit er voorzichtig opleggen en licht verwarmen, eventueel verdunnen met benzeen, toluol, of xyleen. Voorzichtig met deze stof op de huid, ze irriteert vrij sterk!

Het zgn. *Wit-medium* ($n_D = 1,7$) is ook aan te raden, maar alleen voor zeer fijne soorten. Men bereidt dit als volgt: 8 gr. glycerol koken met 40 gr. tinchloride tot de massa helder wordt, in een reageerbuis (n.b. slechts tot $\frac{1}{4}$ vullen, daar de massa erg spat!). Verwerken als Canadabalsem; daar de massa hygroscopisch is, moet men de prep. omranden!

Realgar (As_2S_3) in arsenicum-tribromide ($AsBr_3$) is uiterst giftig en dus voor gewoon gebruik zeer ongeschikt, maar voor Diatomeeën wel het beste insluitmateriaal.

Diatomeeën hebben een brekingsindex van 1,43 en men moet natuurlijk een medium kiezen, dat een zeer afwijkende brekingsindex heeft.

Voor Titanium-dioxyde ($n = 2,67$) zie *Microwereld* 1950 onder Spence.

Voor de firma J. M. Moeller brengt prachtige rij- en cirkelprep. van Diatomeeën in de handel. Eens werden zelfs 4000 soorten Diatomeeën in een prep. verwerkt! Ook Turttox levert zulke prep.

V. In *canadabalsem*, *caedux*, enz.

Doorsneden van planten krullen vaak om bij het insluiten.

Paraffine-doorsneden mogen bij het strekken wel „glazig” worden, maar zij mogen niet smelten. In *Microwereld* 11 (mei 1947), wordt aanbevolen de coupes, vooraf bv. gekleurd met Haemaluin, te brengen in ethanol 96 %. Hieraan om de 5 min. toevoegen terpineol, tot de verhouding ethanol : terpineol ongeveer 1 : 1 is geworden. Daarop zacht verwarmen tot de ethanol verdampt is

(ca. 2 uur). Hierop overbrengen in 100 % terpineol. Daarop druppelsgewijze xyleen toevoegen, tot overmaat xyleen is ontstaan. Hieruit in zuivere xyleen, nog eens verversen en daarna in Caedax. Zie verder § 5.

§ 2. Kleuren der preparaten.¹⁾

Indien men een prep. goed wil kleuren, moet het eerst goed gefixeerd zijn. Er zijn talloze methoden bekend en iedere kleuring vereist dikwijls een bepaalde *fixatie*, die enige uren tot een dag kan duren. Aan te raden is een stel cassettes. Vooral gebruikt worden:

1. *Zenker*. Kaliumbichromaat 2,5 gr., natriumsulfaat 1 gr., sublimaat 5 gr., water 100 ccm, ijsazijn 5 ccm.
2. *Flemming*. Chroomzuur 1 % 15 ccm, Osmiumzuur 2 % 4 cc, ijsazijn 1 ccm.
3. Alcohol (ethanol) absoluut, 96 %, 70 %.
4. Formaline 4 %.
5. Chroomzuur 1 %.
6. Pikrinezuur, waterige bij 20° C verzadigde oplossing.
7. Mengsel van ethanol abs. 6 dln., chloroform 3 dln., ijsazijn 1 dl.
8. Mengsel van ethanol abs. 5 dln., chloroform 2 dln., ijsazijn 4 dln.

Vooral de nummers 2, 7 en 8 zijn voor een amateur aan te raden. *Kleuringen* zijn meestal te moeilijk voor beginners. Voor de firma's zie blz. 204. Reeds aardige resultaten bereikt men echter met:

Eosine, opgelost in water of in ethanol 70 %. Ook met *haemaluin*: 5—10 min. in horlogeglas met oplossing van haemaluin. Is de kleur te sterk dan uittrekken (differentiëren) met zoutzuur 1 : 500. Is de kleur goed, dan in water met 1 : 500 ammoniak. Dit uitspoelen $\frac{1}{2}$ u. met gedist. water. Langzaam overvoeren in ethanol abs. en insluiten. Voor bacterie-kleuren zie hoofdstuk VII.

Naast eosine bij planten ook *erythrosine*.

Haemaluin bereidt men (naar P. Mayer) als volgt:

¹⁾ Swammerdam kleurde de gehele objecten waarschijnlijk reeds in 1667 (gepubliceerd 1737); Leeuwenhoek kleurde doorsneden (nadat ze in brandewijn hadden gelegen) met saffraan in 1714.

1 gr. Haematine oplossen in 50 cc. warme ethanol 90 %. 50 gr. aluin oplossen in 1 liter gedist. water. Samengieten, koud laten worden, filtreren en wat thymol toevoegen. Prep. kleuren en daarna 10 min. spoelen in leidingwater.

Kernen kleurt men mooi met azijnzuur 1—2 %, waarin zoveel *methylgroen*, dat de oplossing donkergroen wordt.

The British Drug Stores Ltd. (B. D. H. Poole, Dorset, Engeland) geven een buitengewoon aardige brochure uit over hun Standard Stains en de beste wijze van gebruiken. Agent: R. R. Brunswick, Amsterdam (zie ook blz. 204).

Oef. 195. Men kan ook levende organismen kleuren (*vitaal-kleuring*). Betrekkelijk eenvoudig is dit met 0,001 % *methyleenblauw* in water. Hierin $\frac{1}{2}$ u. laten, dan in methyleenblauw 0,1 %. Ook mooi vitaal te kleuren met *neutraalrood*, b.v. *Daphnia*! (1 : 10.000 tot 1 : 1.000.000). Het beste is in donker, duurt enkele dagen. Men kan beide kleuringen combineren! Ook Bismarckbruin (Vesuvine) lukt wel, maar is tamelijk giftig. Rhodamine B. (0,1 % opl. in water) kleurt het protoplasma vitaal.

Men maakt voor vitaalkleuringen in het algemeen 1 % moederoplossingen en verdunt deze voor het gebruik tot 1 : 10.000 of 1 : 1.000.000. Zeer fraai is Neutraalrood, vermengd met methyleenblauw. Goed resultaat eerst na ongeveer 24 uur.

Mooie vitaalkleuring kan men verkrijgen met Akridine-oranje 1 : 10.000. Men kan dan daarna fluorescentie onderzoeken: levend protoplasma fluoresceert groen, dood: rood; vacuolewand: sterker groen; insluitsels in protaplasma (phycocceen? vet?) koperrood. Vaak reeds mooi met inktpotlood of gewone rode inkt uit de handel, bekijken in glycerol; fixeren b.v. in de vlam als het een prep. betreft gekleurd met inktpotlood in water.

Oef. 196. Brohmer und Stehli, *Mikroskopie in der Schule* geeft een nieuwe kleurmethode voor *ééncelligen* en *spermatozoa*:

Mengsel van 10 % opl. opaalblauw grl. 1 cc. met 4—6 druppels van 6,5 % opl. phloxinhodamin S1a. (Klaar kopen Franckh'sche Verl. Stuttgart).

Kleine druppel met veel infusiediertjes. Hiernaast even grote

druppel van het mengsel, vermengen en druppel dan uitstrijken (b.v. met een koperdraadje of glasstaafje).

Luchtdroog laten worden en in canadabalsem, dan dekglas (n. Bresslau).

Droogt het prep. niet snel genoeg, dan de „Föhn“ erover!

Men raadt ook wel Nigrosin (wasserlöslich, Grübler) aan, juist zo te behandelen.

Oef. 197. Een zeer eenvoudige kleur- en fixeermethode van basaal- en nevenlichaampjes en trichocysten is die van W. Bau-meister (1940). Neem een Joh. Faber Apollo Kopier-Mittelweichpotlood. Haal de schrijfstift hieruit en los deze op in Osmiumzuur 2 % in water. Er ontstaat een fixeerkleurmengsel. Voeg hiervan een druppel toe aan een druppel met veel Eencelligen (b.v. Col-poda).

Oef. 198. Vrij eenvoudig is het kleuren van *pollenmoedercellen*, waarbij de *chromosomen* te zien zijn bij verschillende planten o.a. bij Hyacint, lelie, tulp, Tradescantia.

Open een bloemknop voorzichtig (goed stadium uitzoeken!) Neem enige meeldraden eruit, aanvatten bij helmdraad. Snijd de helmknop met scheermes dwars door, er treedt enige inhoud uit, zonder dat men op de helmknop drukt. Strijk deze inhoud vlug uit, in één streek, zonder te drukken en giet hierop een druppel „Flemming-Benda Meves“ (uit handel, o.a. Mikrokosmos) spoel af en breng prep. in geconc. oplossing van Safranine in anilinewater. Kleur 12 uur, spoel af in ethanol 96 % en sluit in als in § 5 is aan-gegeven (no. 25—28, blz. 202).

Chromosomen zijn rood, protoplasma en kernspoel groen. Men kan zo, zonder mikrotroom, de chromosomen bestuderen! Ver-groting wel $\pm 400\times$. (zie oef. 200a).

Oef. 199. Dr. Heitz (Z. f. Bot. 1926) gaf de volgende methode aan om Chromosomen te zien. Fixeer het objekt in kokende Carnoy oplossing I (4 dln. ethanol abs. en 2 dln. gec. ijsazijn), gedurende enkele minuten. Pluk het objekt op een objektglas uiteen met behulp van een paar naalden. Voeg de kleuroplossing toe (45 % azijnzuur, kokend verzadigd met karmijn en gefiltreerd).

Kook op het objektglas (met herhaalde bijvoeging van de kleur-oplossing!) tot alles goed rood is gekleurd. Leg vóór of na het koken een dekglas op het prep. en druk zo nodig hierop wat (beslist recht van boven om verschuivingen te vermijden), tot men alle details goed ziet. De chromosomen zijn zeer intensief gekleurd, het protoplasma bijna niet (Meeldraden, eitjes in de stampers, vegetatiepunten).

Er is een verband tussen de grootte van het knopstadium en het aantal en de stadia der celdelingen, zodat men wel verschillende knoppen moet proberen.

Oef. 200. Verschillende objecten vertonen de celdeling vaak mooi zonder kleuring; b.v. haren van *Tradescantia virginica* uit knoppen van ± 5 mm. Het beste te onderzoeken in vloeibare paraffine of rietsuiker 3 %. Ook de epidermiscellen aan de basis van bladeren (3—5 cm) van deze plant geven een fraai beeld.

Verschillende pollenmoedercellen en stuifmeelbuizen geven ook mooie beelden. Het beste te kleuren volgens oef. 196.

Oef. 200a. Chromosomenkleuren volgens Mevr. Dr. A. Koopmans.

De techniek van een „smear” of liever een „squash” (omdat het meer op pletten dan op uitsmeren berust) is vrij eenvoudig. Hier-voor wordt een mengsel gebruikt dat tegelijkertijd fixeert en kleurt: aceto-orceïne of aceto-karmijn. Van beide kan men een stam-oplossing maken, die bij gebruik verdund wordt.

Neem 4 gram orceïne en voeg hieraan toe 100 cc heet ijsazijn (bij kookpunt). Hiermee heeft men de stamoplossing. Neem bij gebruik $4\frac{1}{2}$ cc opl. en voeg hieraan toe $5\frac{1}{2}$ cc aqua dest. Men krijgt dan een 45 % opl. azijnzuur, die juist een goede brekings-index heeft. Azijnzuur fixeert en orceïne geeft de kleuring.

Voor aceto-karmijn wordt een overmaat genomen (5 gram) vanwege de slechte oplosbaarheid. Karmijn wordt met ijsazijn (100 cc) gedurende drie uur gekookt (met terugkoeler). Daarna wordt de oplossing gefiltreerd. De niet opgeloste karmijn kan weer gebruikt worden. Nu de techniek:

Neem een helmknop (bv. van *Tradescantia*, omdat die grote chromosomen heeft). Voeg hieraan toe 1 druppel aceto-orceïne. Tik met een staafje enige malen op de helmknop, zodat de pollen-

moedercellen naar buiten komen. Doe een dekglas op het preparaat en filtreer af met filtreerpapier door even over het preparaat te strijken (erg drukken is niet nodig). Men kan zo een goed beeld krijgen van de reductiedeling in de pollenmoedercellen.

Oef. 200b. De *Feulgen reactie*. Er zijn heel wat recepten voor de Feulgen reactie. Mevr. Dr. A. Koopmans gebruikt het volgende:

- a. Hydrolyse in 1 normaal zoutzuur bij 60° C. De tijdsduur is afhankelijk van het fixatiemiddel. In het algemeen na chroomzuur bevattende mengsels 15—20 min., na Carnoy 4—6 min. Te korte of te lange hydrolyse geeft geen optimale kleuring.
- b. Kleuren in basisch-fuchsine oplossing gedurende 2—3 uren. Bereiding: 1 gram basisch fuchsine oplossen in 200 cc kokend water (niet door laten koken). Afkoelen tot 50° C, daarna filtreren en 20 cc 1 normaal zoutzuur toevoegen. Na afkoeling tot 25° C, 2 gram watervrij $K_2S_2O_5$ toevoegen. Oplossing laten ontkleuren in goed gesloten fles in het donker gedurende 24 uur. Daarna 0,5 gr. norit toevoegen, 1 min. schudden en snel filtreren door grof filtreerpapier. Deze oplossing in het donker, in goed gesloten fles bewaren.
- c. Na kleuring gedurende 15 min. spoelen in stromend water.
- d. Vervolgens de preparaten door 2 baden ethanol 96 %, 2 baden ethanol abs., 2 baden xyleen.
- e. Afsluiten met Canadabalsem (of een of andere neutrale balsem, zoals bv. permount).

De basische fuchsine uit de handel is lang niet altijd geschikt voor de Feulgen reactie. Aan te bevelen is die van de firma George Gurr (men kleurt feitelijk desoxyribonucleïne).

Oef. 201. *Zaadknop* van *Torenia*-soorten. In verschillende kas-sen kweekt men deze planten. Prepareer de zaadknop voorzichtig uit en leg het prep. in suikerwater 2—3 %.

Een tweede prep. in joodjoodkalium. De embryozak is zeer duidelijk!

Oef. 201a. Onderzoek de kiemontwikkeling bijv. in de zaden van het Herderstasje (insluiten in paraffine en met de (hand)-mikro-toom (blz. 197) snijden).

Oef. 202. Om goede kerndelingen te krijgen kan men uien laten kiemen. Zet als de worteltjes reeds wat ontwikkeld zijn de bol 's nachts koud; de volgende ochtend zet men ze goed warm, en fixeert na 3 uren 5 mm lange stukken in Carnoy II (d.w.z. 60 cc ethanol abs., 30 cc. chloroform en 10 cc. ijsazijn) gedurende $\frac{1}{2}$ u.; daarna direkt ethanol abs. en spoedig in xyleen.

Vicia (boon) 10 μ dik snijden, kleuren met Heidenhain of ijzerhaematoxyline van Dr. Holboom. Verg. oef. 38.

Oef. 203. Methode van G. W. Shaw (1950). Fixeer worteltoppen, meeldraden enz. gedurende 12—24 uur in Nawashin's vloeistof. Plaats ze daarna op een goed schoon objektglas, bedekt met een laagje eiwit volgens Mayer in een druppel macererende vloeistof (1 dl zoutzuur op 1 dl. ethanol 95 %). Verwarm boven een spiritusvlam gedurende 1 minuut. Druk de objecten plat met een mesje en spreidt de massa uit tot een „smear" (zie oef. 200a). Kleur $\frac{1}{2}$ —1 uur met 1 % waterige oplossing van kristalviolet, en spoel daarna met water. Laat de objektglazen daarop gaan, tweemaal achtereen, door Cellosolve (ethyleen-glycol-mono-ethyl-ether. een dehydratiemiddel, dat zeer goed werkt), waarin de eerste keer een spoortje „lichtgroen" of eosine is opgelost. Dit moet 4—5 sec. geschieden, maar bij eosine vaak slechts 3 sec. Breng het prep. over in xyleen, tweemaal verversen, en monteer in Canadabalsem. Zie ook *Microwereld* V 9, sept. 1950, artikel B. Brouwer.

Oef. 204. Voor onderzoek in vloeibare paraffine, ongekleurd leent zich ook een uitstrijkpreparaat van de manlijke klieren (testes) van een sprinkhaan in midden juli—half aug. De testes zijn lange buisvormige organen in de buikholte. Het dier doden door de kop af te knippen. Zoek de spermatozoa. (Leeuwenhoek ontdekte in 1677 de spermatozoa).

Oef. 205. De eiklieving is ook wel goed te bestuderen: Knip een Worm (*Lumbricus terrestris*) in stukjes van 0,5 cm; leg deze in vochtige (niet natte) tuinaarde in een schoteltje op een hoopje en zet een ander schoteltje erover. Houd dit alles wat vochtig. Na 4 dagen (bij 19° C, bij lagere temp. langer, bij hogere korter) is de aarde breiig en vol 3—4 mm wormpjes (Nematoden):

Rhabditis (Pellodera) pello, die anders in de nephridiën leeft. Let op ventiel, achter slokdarm.

Neem een ♀ (♂ is kleiner) in fysiол. keukenzout opl. NaCl (0,75 %), ontleed dit dier hierin met naalden! Zoek de eicellen. Let op de rijpingsdeling.

Goede delingen in ± 10 min. Men kan dit prep. zelfs projecteren met tussenschakeling van een koelkuvette met Mohr's zout. (1000 ccc water; 200 gr. Mohr's zout = Ferro-ammonium sulfaat = $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 5 cc. zwavelz. 25 %; filtreren, alleen in glas, niet in metaal!).

Oef. 206. Mooie kernen in speekselklieren van Chironomus (een mugje); lichaam doorsnijden na 2e ring, de speekselklier komt als helder blaasje voor de dag, met naald eruit prepareren.

Zeer fraai gelukt kleuring met Gallocyanine: Men brengt het uitstrijksel eerst in sublimaat-ijsazijn ter fixatie en daarna 4 min. in een vers bereide oplossing van 0,15 gr. gallocyanine met 100 ccm van een 5 % chroomaluin oplossing. In te sluiten over ethanol in Caedax. Onder goede omstandigheden is de opbouw der chromosomen bij 't levende prep. ook wel te zien zonder kleuring. De meeste Diptera (Tweevleugeligen) hebben zeer grote chromosomen in de speekselklieren (o.a. Drosophila, Chironomus, Sciara, Bibio). (Afwijkende chromosomen bij veel Amphibiën, met zij-uitsteeksels).

Oef. 207. Plankton kleuren. Wrijf 4 gr. borax met 3 gr. karmijn in een mortier. Los dit op in 93 cc. gedist. water, dan 100 cc. ethanol 70 % toevoegen, krachtig schudden en na 24 uur filtreren. Zo nodig differentiëren met 0,5 % zoutzuur in 70 % ethanol, uitwassen in 70 % ethanol.

Oef. 208. Algen kleuren. Fixeren in 2—4 % formaline of met Bonin (verzad. pikrinezuur in water 30 cc., formaline 40 % 10 cc., geconc. azijnz. 2 cc.); 48 u spoelen (liefst wat stromen of vaak wisselen!); dan gedist. water 4—8 u.; hierop kleuren met aluinyglycerol haematine (Rawitz) ged. 24 uren (0,5 gr haematine onder verwarmen in 100 cc. gedist. water, nog warm erbij 3 gr ammoniaaluin, na afkoelen 100 gr. glycerol, filtreren. Zeer goed houdbaar! Verdunnen met water tot donkerrood). Dan 1 u. gedist. water

(wisselen!). Vervolgens leidingwater tot *blauwe* kleuring optreedt, 12—24 u., maar na 12 u. reeds wat glycerol erbij; langzaam meer.

Oef. 209. Leg een „*algenherbarium*” aan. Zie lit. pag. 151.

Voor vele Kryptogamen is uitmuntend: Kaliumacetaat in 10—15 % opl. bij 55—65° C laten inwerken. Breng hiertoe $\pm$ 30 cc. in een porceleinen schaaltje, verhit tot de genoemde temp. en breng het objekt erin, eventueel in gaas gewikkeld.

Bewaren in deze vloeistof (voor grotere objekten).

Oef. 210. *Grotere algen* bringe men in een vlakke schaal met water. Op de bodem een vel *herbarium* papier. Haal dit langzaam omhoog, zodat de stand goed blijft. Laat afdruipe en leg het gehele vel (met de algen boven!) op filtreerpapier. De meeste algen kleven zelf goed vast.

Als dekblad is het wattenachtige W.C.-papier uitmuntend!

Oef. 211. Kleinere algen luchtdroog laten worden op kleine glimmerplaatjes. Is er een slijmhulsel dan eerst wat formaline bij de vloeistof en daarna overbrengen in een stroop-dikke oplossing van Arabische gom op een glimmerplaatje (vgl. Migula).

Oef. 212. Voor *algen* is door Lindauer verder de volgende methode aanbevolen.

Breng op een goed schoon objektglas een klein druppeltje (warme) vloeibare glycerol-gelatine. Breng hierbij het reeds gefixeerde en gekleurde materiaal in glycerol-water, spreid het uit met een verwarmde naald en bedek het met een dekglas 10—12 mm. De rest van de gelatine verwijderen met een penseel met warm water. Laat koud worden. Als het kleine dekglas wat vaster zit, dan hierop een drup canadabalsem en hierover een dekglas 18 mm. Horizontaal laten liggen tot het hard is!

't Best conserveren in formol; dan kleuren en langzaam glycerol toevoegen.

§ 3. *Mikromanipulator.*

Het is voor sommige proeven gewenst om bijv. de kern uit een cel weg te nemen of één bacterie te isoleren. Het is onze landgenoot Dr. S. L. Schouten geweest die het eerst zulk een mikro-

manipulator konstrueerde (in 1899); tegenwoordig brengen tal van firma's zulke, meest dure, instrumenten in de handel (Microwereld p. 1439). Liefhebbers, die zelf een vrij behoorlijke willen konstrueren, kunnen deze vervaardigen naar R. J. Goldacre (Nature nr. 4932, 2 jan. 1954, overgenomen in Microwereld, p. 1736, en een andere ibidem p. 1757 naar Jhr. W. F. Alewijn, p. 1757). Voor de meeste doeleinden zijn deze zelfgemaakte instrumenten uitstekend geschikt!

§ 4. *Mikrotoom.*

Wil men weefsels enz. zeer nauwkeurig onderzoeken, dan gebruikt men een *mikrotoom*. Het is hiertoe meestal nodig de prep. in te sluiten in paraffine, celloïdien (resp. Cedukol van Hollborn) of ze

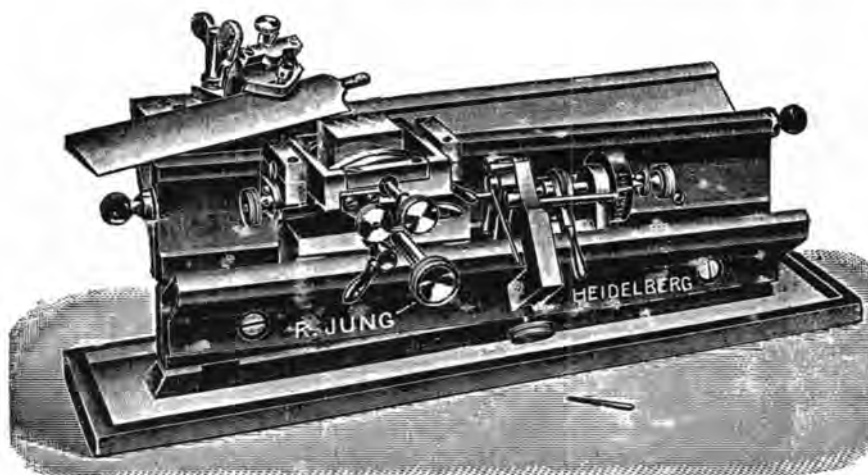


Fig. 122. Mikrotoom van Minot-Jung.

n. Strasburger.

te bevrozen met chloorethyl (zie aanstonds). In de eerste gevallen slaagt men er dan in doorsneden te maken tot zelfs van $2\ \mu$. De paraffine smelt dan een beetje en zo worden de sneden tot één samenhangend lint verenigd! Om de prep. in paraffine in te sluiten is een broedstoof vereist.

De onderzijde van het mes moet evenwijdig staan met het snijvlak! Men moet dit eerst proberen op een blokje paraffine (van dezelfde soort!) celloïdine, enz.

De techniek hiervan is nogal lastig voor beginners. Zij, die er zich voor interesseren, mogen verwezen worden naar de lit. genoemd aan 't eind van dit hoofdstuk.

Het beginsel van een mikrotoom is, dat het prep. na iedere gemaakte doorsnede, een heel klein eindje verschoven wordt. (Soms wordt 't mes verschoven).

Met de Keilschnitt-Mikrotom van Von Ardenne, 1939 (volgens Minot) kan men sneden maken die aan de randen minder dan $1\ \mu$ zijn, de dunste zelfs tot $0,002\ \mu$.

Er zijn eenvoudige handmikrotomen, waarbij het preparaat door het draaien aan een schroef omhoog wordt gebracht. Een zeer goede werd onder de naam Cylindermikrotom door Leitz (Wetzlar) in de handel gebracht (wordt niet meer gemaakt), een ander door Turtox, Chicago, U.S.A. Deze snijdt tot op $10\ \mu$, doch kost \$ 40.—



Fig. 123. Turtox Handmikrotoom.

(fig. 123). Men kan ook zelf proberen een handmikrotoom te maken; Klein gaf een model aan in *Microwereld* p. 999, waarmee men reeksen goede doorsneden kan maken van $40\text{--}50\ \mu$, terwijl een nog eenvoudiger, ook zelf te maken, instrument beschreven is in *Microwereld* p. 1743 door P. A. Leeftang.

Er worden ook mikrotomen in de handel gebracht, waarbij het

objekt (in verse toestand) snel bevroren wordt. Zo is er b.v. een goed instrument, het „kleines Gefriermikrotom” (type 1213) naar Schultz-Brauns van Leitz (Wetzlar). Zie fig. 124.

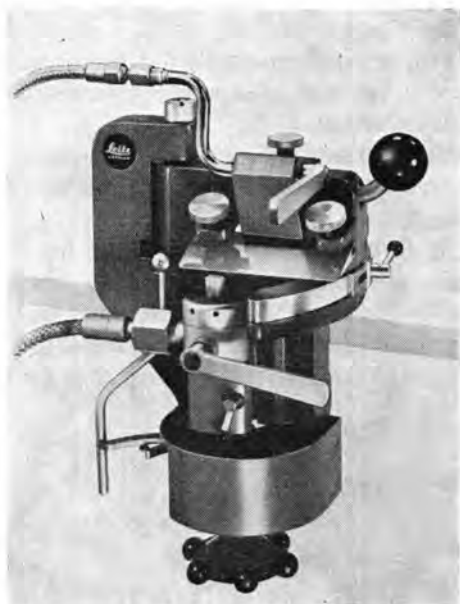


Fig. 124. „Gefriermikrotom” (Leitz).

Literatuur:

Histologie:

Geoffrey Bourne, *An introduction to functional histology*. 2nd Ed. Churchill Ltd, London.

William E. Windle, *Textbook of histology*. McGraw-Hill, London—New York, 1960.

John C. Finert & E. V. Cowdry, *A textbook of histology*. 5th Ed. 1960.

A. G. Everson Pearse, *Histochemistry*. 2nd Ed. 1960. Churchill Ltd, London.

E. C. Clayden, *Practical section cutting and staining*. 3rd Ed. Churchill Ltd. London.

§ 5. *Broedstoof (thermostaat).*

Indien men bacterie-kultures bij bepaalde temperaturen moet kweken en indien men voorwerpen moet insmelten in paraffine (voor 't snijden met een mikrotroom), is het nodig een *thermostaat* te bezitten (fig. 125).

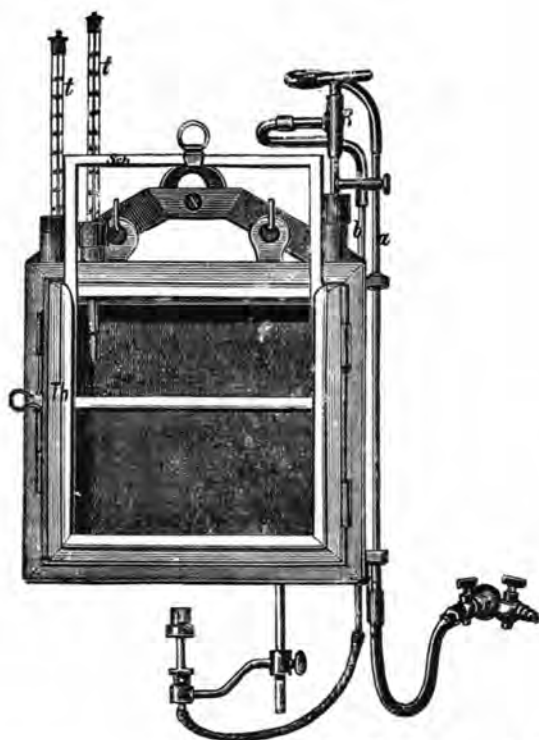


Fig. 125. Broedstoof.

n. Strasburger.

Meestal een koperen toestel met dubbele wand, waarin water. De deur b.v. met asbest opvullen, zeer goed sluitend maken. Een ouderwets type is het duidelijkst uit te leggen. In de bovenwand enige gaten: 1e voor thermometer, 2e (in de dubbele wand of in de binnenruimte) voor een *thermoreguleur*. Het gas komt bij *a*

binnen en verlaat die buis door een scheef afgesneden opening, die in 't kwik geduwd wordt. De hoogte van dit kwik (en dus de gastoevoer) wordt met een schroef geregeld. Het gas ontwijkt door buis *b*, en gaat dan naar de brander. Wordt de temperatuur te hoog, dan zet het kwik uit en duwt de opening meer dicht, en sluit dus automatisch 't gas wat af. Daalt de temperatuur, dan wordt de opening groter en komt er meer gastoevoer. De temperatuur zal dus konstant blijven. De stijgbuis dient om te kontroleren hoe hoog 't water in de dubbele wand staat. Er zijn ook elektrische thermostaten in de handel, deze zijn tegenwoordig algemeen in gebruik, maar het principe is gemakkelijker uit te leggen bij een gas-thermostaat (als een vlam eenmaal uit is, blijft die uit!).

Is het alleen nodig om enige uren de prep. op een bepaalde temperatuur te houden, dan kan men het objekt bevestigen aan de kurk van een thermosfles. Ook kan men door de kurk van een thermosfles een reageerbuisje brengen en dit zelf weer afsluiten met een kurk (event. zelfs weer een thermometer hierin brengen). Men houdt zo de temperatuur wel 6—8 uren vrij konstant.

§ 6. *Gekleurd preparaat uit de handel. Insluiten in canada-balsem, caedax, etc.*

Om te laten zien, hoe een *gekleurd preparaat* vroeger meest gemaakt werd, dient het volgende schema. Voor een particulier is dat vaak gemakkelijker het gehele objekt eerst te kleuren. Tegenwoordig zijn er allerlei variaties op dat schema.

Fixeren

1. ethanol—ijsazijn (ethanol abs. 3 dln., ijsazijn 1 dl.) 24 uur ¹⁾

Uitwassen

2. drie of 4 × verversen met ethanol abs. (N.B. al het water moet uit 't prep. verdwenen zijn),
3. in ethanol met chloroform (1 à 2 dagen),
4. chloroform (1 à 2 dagen),
5. chloroform met paraffine.

¹⁾ Of 75 dln. geconc. waterige pikrinezuur opl.
20 dln. formaline 40 %.
5 dln. ijsazijn.

6. paraffine (2 à 4 dagen).
7. Uitgieten, blokje bijsnijden.
8. *Met mikrotroom een lint snijden.* (Dit is feitelijk alleen nodig als men doorlopende series doorsneden wil hebben!).
9. Objektglas inwrijven met kippeëiwit-glycerol (met wat kamfer).
10. Op objektglas wat water, hierop de sneden.
11. Strecken der sneden (verwarmen), op tafeltje van fig. 126, ¹⁾ of de sneden op wat lauw water, op een objektglas opvissen!

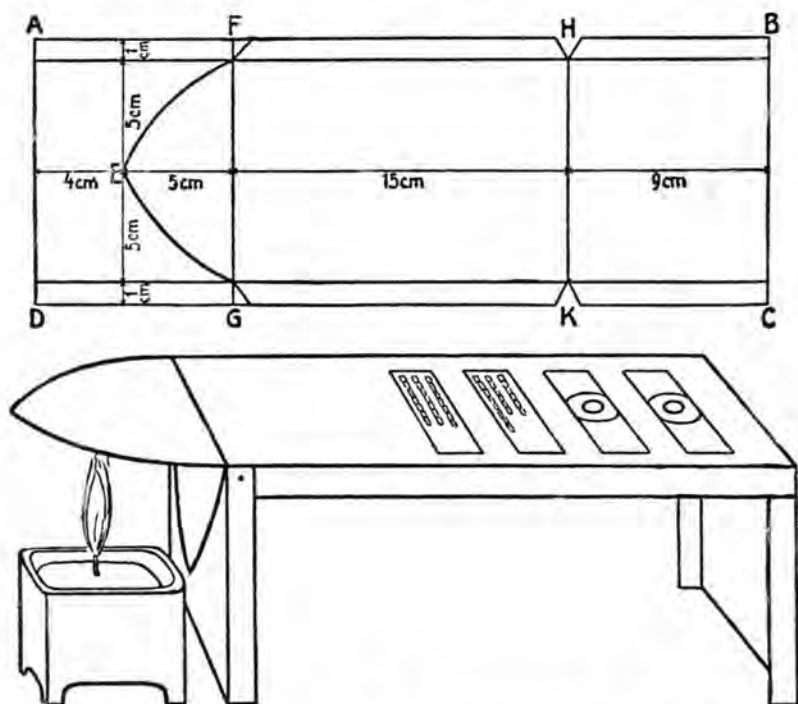


Fig. 126a en b. Tafeltje om paraffinesneden te strekken.

n. Günther, Mikr. f. Jederm.

¹⁾ Dit tafeltje is uitmuntend in het gebruik. De hoekpunten F. G. H. K met kleine nietjes vastzetten.

12. 12—24 uur in thermostaat, hierdoor plakken de sneden vast. Nu paraffine eruit:
13. *Xyleen* (5—10 min. of langer) of chloroform.
14. ethanol absol. (zo nodig direkt No. 15).
15. ethanol 96 %.
16. ethanol 70 %.
17. ethanol 35 %.

Kleuren (het preparaat mag nooit droogstaan!).

- 18a. Soms eerst in 3 % waterstofsuperoxyde „Flemming”.
- 18b. ijzeraluin 3 % enige uren.
19. spoelen in stromend leidingwater (5 min.).
20. haematoxyline-oplossing (n. Heidenhain). $\frac{1}{2}$ uur of langer (voor amateurs is kleuren volgens *Delafield* beter!).
21. afspoelen met water, soms kleur uittrekken (differentiëren) met ijzeraluin (N.B. andere haematoxylinesoorten worden uitgetrokken met gedist. water en gefixeerd met leidingwater!).
22. minstens 10 min. spoelen in stromend water.
23. ethanol 35 %, even.
24. ethanol 70 %, zo nodig met eosine.
25. ethanol 96 % even. (N.B. al het water moet weer uit het prep.!).
26. *kruidnagelolie* (heldert op) zo nodig lang (of ethanol abs. en xyleen, of aceton of methylbenzonaat).
27. zo veel mogelijk af laten druipen en dan canadabalsem.
28. dekglas er op.

Een andere methode gaat wat vlugger (Graupner und Weinberger, 1932). Breng het prep. uit water, formol of ethanol in een beker-glas waarin op de bodem chloorcalcium bedekt met filterpapier, en hierboven dioxaan (van Gröbler & Co). Laat het 3—24 uur hierin, en herhaal dit minstens 1 $\times$. Breng het prep. daarna in 1 deel dioxaan (een diaethyleendioxyd) + 2 dln. paraffine en laat het enige uren hierin. Daarna in zuivere paraffine met smeltpunt 50—55° C in een thermostaat.

Inplaats van *canadabalsem*, die wat zuur reageert, wordt aanbevolen: *Caedax* van Holboom, Leipzig. Deze stof is neutraal!

Hartosol wordt wel gebruikt in plaats van ethylalcohol (doch niet bij insluiting in celloïdine!).

Het mengt zich in iedere verhouding met water, glycerol, ethanol, xyleen, zonder troebeling. Vooral uitmuntend voor *Algen* (doch niet voor *Volvox*, *Eudorina*) en voor *Flagellaten*, b.v.

Hartosol $3 \times 1-5$ min.

Xyleen $2-3 \times 1$ min.

10 % Canadabalsem Xyleen of Caedax Xyleen.

Canadabalsem of Caedax.

of *Hartosol* $3 \times 1-5$ min.

10 % Venet. Terpentijn. *Hartosol*.

Venet. Terpentijn.

Hartosol, bij sneden in celloïdine. Dan moet na *Hartosol* verdunde Cedukoplossing (Hollborn) komen, die de *Hartosol* bij enkele malen verversing geheel eruit haalt.

Hartosol heeft het voordeel, dat het in iedere verhouding zowel met water als met xyleen mengbaar is en dan helder blijft. Terpeneol (P. Mayer 1912) wordt ook wel aangeraden, maar dit wordt heel moeilijk hard, terwijl b.v. Raderdiertjes hierdoor beslist van vorm veranderen, daarom veel tussenstadia nemen.

Veel worden aanbevolen: Dammarhars, Euparol, Celodal (I. G. Farben). Een bezwaar van dit laatste is dat men de lucht met een luchtpomp uit moet drijven. De firma Hollborn, Leipzig brengt ook insluitmedia in de handel die de hogere temperatuur bij het projékteren kunnen doorslaan (Projektionsmedium *a* en *b* volgens Eckert).

Voor Paraffine-sneden neemt men ethanol 92 %, *Hartosol* (1 dag). $3 \times$ verversen van de *Hartosol*, *Hartosol*-chloroform 1 : 1 en dan verder gewoon insluiten. Het is dan geheel ontwaterd.

Meedol-balsem 'Michrome Brand' heeft soms ook voordelen boven canadabalsem (fa. K. F. Peters, Amsterdam). Voor geringe vergrotingen kan men insluiten in plastic (perspex), fa. ten Brammelaar, Den Haag).

Inplaats van ethanol abs. gebruikt men ook wel *Dioxaan*, dat zich goed mengt met water, met ethanol (bij het differentiëren, b.v. na eosine in ethanol 70 %), met benzeen en met xyleen. Men brengt het prep dus uit xyleen in dioxaan en dan in water, en teruggaand b.v. uit ethanol 70 % + eosine in ethanol 70 % → dioxaan → dioxaan + xyleen → xyleen → canadabalsem. Een bezwaar is, dat het schadelijk voor de gezondheid is, ook de dampen. Dus zeer goed luchten en er kort mee werken!

Men *kleurt* ook wel met haematoxyline en in plaats van eosine samen met b.v. Ammonium-rubinpikraat, dan kleurt men de kernen blauw, spieren en steunweefsel geel, protoplasma en sommige klieren rood. Iedere diergroep en ieder weefsel heeft zijn speciale behandelingswijze!

Zeer goede resultaten geeft de *kleuring* van Ehrlich—Biondi (Basisch methylgroen, zure Fuchsine-S en zuur Oranje-G). Fixatie in ethanol of in ethanol-chloroform, ijsazijn, zie blz. 194. De oplossing is te krijgen bij Grübler en bij Mikrokosmos. De kernen worden groen, het protoplasma rood.

Behalve in paraffine smelt men vaak in celloïdine. Ook bevriest men 't voorwerp wel met chloorethyl.

Kleurstoffen van Dr. Grübler of uit de fabriek B.R.A.M. of RAL, B.W. of Hollborn.

Uitstekende kleurstoffen zijn in de handel gebracht door The British Drug Houses Ltd (B.D.H.) in samenwerking met Imperial Chemical Industry Ltd (I.C.I.). Vooral de Standard Stains (S.S.) zijn verbazend goed. Ook 'Michrome-Brand' (fa. E. Gurr) heeft uitnemende kleurstoffen, die geïmporteerd worden door de fa. F. K. Peters, Amsterdam. Brocades en Stheeman (Brocapharm) brengen thans kleurstoffen voor de amateur in de handel, in kleine hoeveelheden.

B.W. brengt afgepaste hoeveelheden kleurstof in de handel, voor liefhebbers zeer geschikt.

De meeste benodigdheden verkrijgbaar: Mikrokosmos Franckh'sche Verlagshandl. Stuttgart en bij de groothandelaren in Pharmaceutische artikelen en bij Turtox (zie blz. 93).

Een methode om gemakkelijk objecten van de ene vloeistof in de andere over te voeren is als volgt:

In een reageerbuisje brengt men voorzichtig de lagen van de verschillende vloeistoffen. Uit de ethanol abs. brengt men de

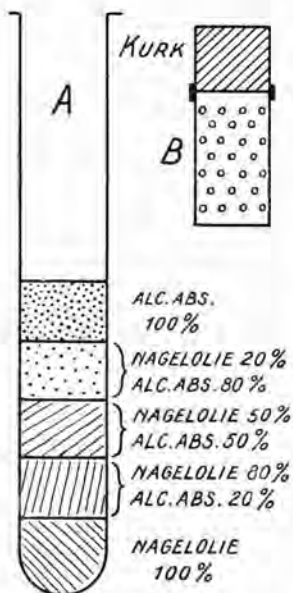


Fig. 127 A en B.

preparaten in de reageerbuis. Ze zakken dan langzaam door tot onderin toe, en blijven een halve dag daarin. Ze zijn dan geheel opgehelderd. Dan overbrengen in canadabalsem.

Een methode die minder vloeistof kost is de volgende: in een porseleinen buisje met gaatjes (zie fig. 127B), met een kurk gesloten brengt men het objekt. Dit geheel voert men over van een vloeistof in de andere (goed laten uitdruipen!).

Mooie series prep. in de handel b.v. van Moeller, Schlüter (Halle a. S.) en van Sigmund (kernen met haematoxyline, protopl. met eosine), met uitvoerige beschrijvingen.

Voor hen, die het moeilijke werk van „insmelten” kleuren, snijden eens willen proberen volgen hier nog enkele aanwijzingen.

Literatuur:

Een goede opgave om oude prep. te herstellen in *Mikrokosmos* 1916/17, p. 13. Een zelf te bouwen eenvoudige *mikrotoom*, ook aldaar p. 25, een ander model voor een *mikrotoom* (*Mikrok.* 1918/19, p. 135, verbetering p. 167), een ander model '27/28 p. 63, nog een ander aldaar p. 9. Dit laatste model zag ik in gebruik. Het voldeed uitmuntend. De doorsneden van bladeren en stengels waren $\pm 30-50 \mu$ dik. — Methode voor insluiten in paraffine, aldaar 519/20 p. 119. Slijpen van een scheermes, aldaar '19/20 p. 206.

Een zelfgebouwde mikromanipulator is beschreven in *Mikrokosmos* XXV, 1936, p. 35.

Een eenvoudige, zelf te maken thermostaat: zie *Mikrok.* '27/28, p. 7.
Zie hiervoor verder:

Stehli, *Das Mikrotom und die Mikrotomtechnik.*

Strasburger, *Das botanische Praktikum.*

Romeis, Böhm und Oppel, *Taschenbuch Mikrosk. Technik.*

Schürig, *Biolog. Experimente.* Quelle Leipzig.

Stöhr, *Histologie des Menschen.*

McClung e.a., *Handbook of Microsc. Technique.* Hoeber N.-York.

G. C. v. Walsem, *Leitfaden der mikrosk.-anat. Untersuchung pathol. Objekte, des Blutes und des Zentralnervensystems.* 1932, Leipzig.

Vele handigheidjes in *Mikrokosmos* en in *Microwereld.*

H. A. Davenport, *Histological and Histochemical Technics,* London, 1960.

H. F. Steedman, *Section Cutting in Microscopy,* Oxford, 1960.

INHOUD

Voorbericht	5
Hoofdstuk I. <i>Bouw en gebruik van een mikroskoop</i>	9
§ 1. Inrichting van een mikroskoop, geschiedenis, numerische apertuur, oplossend vermogen, theorie van Abbe, fasen-mikroskoop van Zernike, interferentie-mikroskoop	9
§ 2. Bepaling van de vergroting en het oplossend vermogen, teken-apparaat	30
§ 3. Wenken voor 't werken bij kunstlicht, methode van Köhler	35
§ 4. Donkerveldbelichting, contrastfilters, reliëfbelichting, fluorescentie	37
§ 5. Gesteente-onderzoek	42
§ 6. Wenken bij 't mikroskopiseren, mikrofotografie	42
Hoofdstuk II. <i>Plantkundige preparaten</i>	55
§ 1. Eenvoudige preparaten	55
Pollenonderzoek	69
§ 2. Bouw van stengel, wortel, blad, hout	70
Aanhangsel I. Onderzoek van papier	94
Aanhangsel II. Onderzoek van poeders	95
Aanhangsel III. Universele kleuring (planten)	96
Hoofdstuk III. <i>Dierkundige preparaten</i>	97
§ 1. Eenvoudige preparaten (o.a. Insecten)	97
§ 2. Oefeningen voor meer gevorderden	111
Ontwikkelingsgeschiedenis	114
Histologie	117
Hoofdstuk IV. <i>Kristallen en Mikrochemische reacties</i>	119
Hoofdstuk V. <i>Planktonstudie</i>	130
Hoofdstuk VI. <i>Het onderzoeken en kweken van lagere organismen</i>	152
Hoofdstuk VII. <i>Bloed en Bacteriën</i>	167
Hoofdstuk VIII. <i>Blijvende preparaten, Kleuringen</i>	182
§ 1. Bewaren der preparaten	182
§ 2. Kleuren der preparaten	188
§ 3. Mikromanipulator	195
§ 4. Mikrotoom	196
§ 5. Broedstoof (thermostaat)	199
§ 6. Gekleurde prep. uit de handel	200
Register, Reagentiën, Instrumenten	208

REGISTER

De instrumenten zijn gespatieerd aangegeven, de *reagentiën* zijn *cursief* gedrukt. De eerstgenoemde blz. geeft de plaats aan, waar is aangegeven hoe de reagentiën *bereid* moeten worden.

A

Aal, schubben	98
aaltjes	150, 193
a a n w i j z e r	13
aardappel	56, 61
aardappelziekte	157
Abbe's theorie	16, 20
aberratie	13
accommoderen	50
<i>aceto-karmijn</i>	191
a c h r o m a a t	13
aerenchym	75, 81
<i>akridine-oranje</i>	49, 189
<i>alcohol</i> , zie <i>ethanol</i>	
aleuronkorrels	62, 63
Alewijn	68, 196
algen	150, 165, 166, 194
Allwörden	97
aminozuur	122, 128
ammoniak	121
amm. rubin, pikraat	204
Amoebe	152, 164
a m p l i t u d o - r o o s t e r	22
Anopheles	105
antheridium	157
apertuur	16
a p o c h r o m a a t	13
aquarium	148
archegonium	157, 159
Artemia	165
ascorbine	123
<i>asfaltlak</i>	183
asparagine	122
astigmatisme	13
a u t o c l a a f	176
Azotobacter	179
<i>azuurblauw</i>	167
<i>azijnzuur</i>	68, 124, 174

B

Bacteriën	147, 152, 171 vlg.
„ indeling	172
„ kapsels	174

„ kleuren	172
„ kweken	176
„ zuurvaste	175
B a k e r, interferentie	25
mikroskoop	157
basidiën	85
bast	110
Bathia	9
Beeckman	13
b e e l d k r o m m i n g	150
beerdertjes	106
bedwants	174
beits	161, 165
Benecke	42
b e n o d i g d h e d e n	125
<i>benzedine</i>	116
Berlese	48, 75, 81
beschrijven	169, 198
bevriezen	52, 182
bewaren van prep.	178
Beyerinck	71
bicollateraal	75
bies	35
b i n o c u l a i r m i k r	82
blaasjeskruid	77
blad	103, 106
bladluis	81, 83
bladval	147, 155
Blauwwieren	167, vlg.
bloed	124
„ in ontlasting	98
bloedsomloop	170
bloedvorming	83
bloembladeren, witte	69
Blumenthal	92
bloemknop	149
bloemvazen	133, 137, 179
bodemdieren	
boeken over:	
algen	147
bacteriën	166, 180
bloed	171
dierkunde	118
kleuringen	198, 204
mikroskopen	23, 29, 32, 51, 54

mikrotoom	205
papier	94, 95
plankton	265
plantk.	93
schimmels	157, 166
techniek	205
visziekten	166
bolvormige afw.	13
Bonin	194
brandharen	59, 60
brekingsindex	187
Bresslau	190
broedstoof	117, 197
Brohmer	178
Brouwer	68, 89, 185
Brown'se beweging	33, 61
brucine	122
Bryozoen	113
bufferoplossing	168
buigweerstand	71
bij	103

C

Cädax	187, 202
calcium	120
calciumoxalaat	74, 80
calciumfosfaat	58, 126
calyptra	59
cambium	72, 84
canadahalsem	183, vlg., 187, 202
capillairen	98
carbolbacteriën	178
carbolfuchsine	173
carmijnjelatine	118
carnoy	190, 192, 193
carotine	63, 123
cederolie	12, 16, 38
celdeling	191
celdruk	65
celloidine	203
cellosolve	192
cellulose	55, 87
centraal diafragma	38
centrifuge	132, 162
Chabaud	180
chemotaxis	159
chinosol	133
Chironomus	194
chitine	126
chloor	120, 156

chloorethyl	169, 198
chloorzinkjodium	55
chloralhydraat	73
Cholodny	179
Chondrioderma	153
chromatische afw.	13
chromatoforen	98
chromosomen	190, vlg.
chroomzuur	56
citroen	157
collargol	176
collateraal	71
collenchym	71
colophonium	185
coma	13
compensatie-oculair	13
composieten	49, 92
condensor	10
contrastfilters	38
cribraalsysteem	86
culex	105
cultuurperiodes	69
cultuurvloeistoffen	68, 161, 164, 166

Cyclops	100, 131
cystolithen	120
Cystopus	156

D

Dammarhars	203
daphnia	99, 131, 135
darmvlokken	117
de glazen	15, 29, 43
dennenaald	81
Deutzia	60
diaphanol	110
diaphragma	12, 37, 51
— centraal	38
Diatomeeën	21, 131, 134, 140, 142, 186
dierk. prep.	87
differentiëren	188, 202
diktegroeï	72, 84
dioxaan	203
diphenylamine	122
donkerveld	37, 40, 119
doorsneden	72
doorzuigen (vloeistof)	56
dovenetel	60
draaischijfje	184

Drebbel	9
Drosophila	194
druppelbuisjes	43
drijftillen	75
Dunaliella	165
duindoorn	59
Duyn, C. van	
20, 28, 33 vlg., 123 vlg.	
dwaars	72, 78
dwaarsstreping (spiervezels)	106

E

<i>Eau de Javelle</i>	110
eencelligen 130, vlg., 149 vlg., 194	
eenzaadlobb. stengel	73
Ehrlich	204
ei	114 vlg., 193
eiwit	118, 128
elateren	59
elektronen- mikroskoop	22
els	74
embryologie	114
endodermis	71
<i>eosine</i>	65, 188
epidermis	81
epitheelcel	25
Equisetum	59
<i>erythrosine</i>	188
erwt	62
<i>ethanol</i>	47, 49, 155
Euglena	147, 165
Euphorbia	56
exine	68

F

Fase contrast	24
Fase rooster	23
Faure	110
<i>fenol</i>	37, 117, 139
fenolbacteriën	178
<i>fenolfuchsine</i>	173
<i>ferri aceti</i>	73
Feulgen	119
fibrovasaalstreng	71
fixeren	186, 200
Flemming	164, 190
floëem	70, 84
<i>floroglucine</i>	79, 85

<i>floxinhodamine</i>	162, 189
fluorescentie	40
<i>fluorochroom</i>	40
Foraminiferen	131
<i>formol</i>	133
fosforus	121
fotograferen	44, 48
Frederikse	25
frontlens	15, 50
<i>fuchsine</i>	172, 191, 192
fysiologie, oog	28
fysiol. zoutoplossing	
112, 116, 162, 181, 194	

G

Galilei	9
<i>gallocyanine</i>	194
Gastrotrichen	157
gaylussit	120
geconjugeerde foci	29
<i>gelatine</i>	186
gemmae	157
<i>gentiaan-violet</i>	157, 175
gepolariseerd licht	41, 42
gesloten vaatb.	75
gesteente onderzoek	42
geurschubben	101
Giemsa	167
gips	120
gist	152, 154, 172
globoid	63
<i>glycerine</i> , zie <i>glycerol</i>	
<i>glycerol</i>	55
<i>glycerolgelatine</i>	186
<i>Goldsize</i>	184
gonococcen	179
Gram (+ en -)	173
Gregarinen	158
groei	72, 76
guajac	124

H

Haarlusje	45
haarspatel	46
<i>haemaluin</i>	188
<i>haematoxyline</i>	90, 202
haft	109
half verzilverd	25
half doorlatend	63

hand-mikrotoom	197
hangende drup	66, 157
haren	60, 97, 110
hars	125
hartosol	203
Hartridge	28
Heath' reagens	82
helm	81
hennep	53
herderstasje	192
histologie	117, 193
honingbij	103
hoofdluis	105
hoogveen	93
hooikultuur	172
hout	84
houtstofreactie	55, 125
houtvaten	70
huidmondjes	66, 77
Huygens oculair	12
Hydra	113
hyrax	186

I

Immersiestelsel	15, 17, 19
infuus	165, 172
inktpotlood	190
insecten	101, vlg.
insluiten	182, vlg.
instellen	50
intercalare	76
intercellulair	75
interferentie mikr.	25
intine	68
inuline	57, 125
irisdiaphragma	12
isotonische coeff.	65

J

Jaarring	84, 90
Janssen	9
Javelle (eau de)	110
Johne	174
joodjoodkalium	35, 55, 172
joodfenol	55
joodwater	172

K

kaam	172
kaardebol	149

kakkerlak	158
kaliloog	60, 79, 111
kalium	121
kaliumchloraat	87
kaliumnitraat	64
kalk	120
kamervlieg	101
kanadabalsem	183
kapsels (bacteriën)	174
karmijngelatine	118
karmijn	191, 194
katoen	53
kern	62, 63, 77, 98, 180, 190
kernschede	77
kever	105
kieselzuur	56
kikkerbloed	98
kikkereieren	115
kikkerparasieten	157
kippeei	146
kleefkruid	60
kleurfilters	39
kleurreacties	55, 94, 167 vlg., 182 vlg., 200

kleurschifting	13
kleurstoffen	167 vlg., 188, 204
klimeharen	60
Knoll	181
Köhler-methode	36
kokken	173
kolloïdaal zilver	176
kontrastfilters	38
Koopmans	191, 192
koperacetaat	73
koperoxyde ammoniak	35
Kreuztisch	10
kristallen	54, 74, 119
kroos	83
kruidnagelolie	63, 202
kruistafel	10
kunstlicht	35
kunstzijde	53
kurk	84, 126
kwallen	113
kweekvloeistoffen	65, 161, 165
kweepitten	133

L

lampen	35
latent leven	150

Leeflang	
(handmikrotoom)	192
— revolver	29
lelie	67
lenticel	85
leucocyten	168
levendkleuring	117, 189 vlg.
libriform	86
Lieberkühnse kl.	117
Lindauer	195
linde (hout)	87
linnen	53
lint (snijden)	201
Löffler	174
loodoxyd	186
looistof	73, 125
looi zuur	73
luchtbellen	52
luchtwieren	150
Lugol	178
luis	105
lijnolie	184

M

maatlatjes	31
maceratiemiddel dieren	118
maceratiemiddel planten	87
malariamuskiet	105
malariaparasiet	168
magnesium	121
mais	75
maizena	56
maskenlak	183
meedol	203
meeldauw	156
meikever	168
melk	177
melksapvaten	75
melkzuur	110
merg	72
mergstraal	84
mergverbinding	72
meristeem	76
mesosaproob	130
mest	155, 164, 178
methylalcohol	167
methyleenblauw	35, 155, 170, 189
methylgroenazijnzuur	62, 68
mikrochemie	51, 119 vlg.
mikrometer	30, 31

mikrometerschroef	10
mikromanipulator	195
mikroskoop	9
mikrotoom	196
Millon	123, 126, 129
Mohr's zout	194
Molisch	123, 127
mondbeslag	59
mos	57, 150, 157
mosdiertjes	113
mossel	152
Mucor	152, 155
muziekorgaan	107
mijten	100

N

naalden	42
naaktzadigen (hout)	86, 91 vlg.
nachtschade	76
nafthanol	50
nagelolie	63, 202
nauplius	99
Nawaschin	193
Nelson	16
Nematoden	150, 193
nephridiën	111, 194
nerven	79
netelcel	113
neten	105
neutraalrood	189
Nicol	178
nikkelzouten	149
Nillblau BB	123
Nitella	66
nitraten	122
Noyer-kit	185
numerische apertuur	16, 19
numerische apertuur	
bepaling	19, 32, 34
nylon	54

O

objektafstand	41
objektief	13
objektglazen	15, 43, 52
objektmikrometer	30
oculair	12
oculair mikrometer	31
octachloordiphenyl	187
olie	52, 123, 126

oligosaproob	131
ontkieming	57, 131
ontlasting	162
ontwikkelingsgeschiedenis	92, 114, 192
oog	97, 102
<i>oostind. inkt</i>	103, 155, 172
<i>opaalblauw</i>	39, 189
Opalina	157
oplossend vermogen	23, 28, 33, 34
optical index (O.I.)	16
optische eigenschappen	17
Oscillatoria	155
<i>Osmiumzuur</i>	123
osmotische druk	65
overvoeren	56, 117, 205
<i>oxaalzuur</i>	120, 122
oude preparaten	205
Oye, P. v.	146

P

voor ph zie f

Paardestaart	59, 76
paddestoel	157
palissadenparenchym	77
palynologie	67
pankratisch	12
pantoffeldier	138, 152
papier	94
Pappenheim	170
<i>paraffine</i>	196, 201
<i>paraffineolie</i>	16
parasieten	117, 158, 167
parenchym	61, 70, 72
pectine	126
peen	63
Penicillium	152, 154
peristoom	59
perlon	53
Pilobolus	155
pincet	43, 172
Pinus hout	91
Pinus stuifmeel	68
plankton	130, vlg.
— bus	133
— kleuren	194
— net	131
— organismen	134 vlg.
plantenziekten	157, 166

Plasmodium	168
plasmolyse	63 vlg.
<i>platinachloride</i>	121
Pleurosigma	33
poeders	95
polarisatie	42 vlg.
poliep	112, 113
pollenmoedercel	190
pollenontkieming	66
pollenonderzoek	68, 69
Polygonum	73
polysaproob	130
Polytoma	161
Postma, C. (mikrofotografie)	48, 49
prothallium	159
protoplasma:	
— kleurings	64
— stromings	65
— pseudopodiën	152
purperbacteriën	147

Q

Quantitatief plankt.ond.	132
----------------------------------	-----

R

Raderdiertjes	150, 161
radiaal	72, 85
radula	111
Ramsden-oculair	12
raphiden	74, 83
<i>realgar</i>	186
recordspuit	118
regenworm	111, 158, 193
reinkultuur	177, 178
relief-belichting	40
revolver	29
rhizoiden	161
Ribes	62
Ricinus	63
Roepke	110
roofkever	106
rooster	21
Ruge	175
rup	110

S

<i>Safranine</i>	39, 90
salamanderei	115

<i>salpeterzuur</i>	87
<i>Saprolegnia</i>	155
schaduwblad	61, 81
scheef licht	21, 40
scheermes	43, 46
— riem	43, 46
— slijpen	46
— snijden	46, 61
scherpte-diepte	17
schimmels	152, 155, 164
schoonmaken:	
glazen	43
lenzen	52
schors	71, 85
Schouten	195
schubben	53, 59, 98, 101
Schulze	87
semipermeabel	63
sferokristallen	50
<i>siriusblauw</i>	54
skeletjes	118
sklerenchym	62, 71
slak	111, 114
Slootweg	175
sluitcellen	77
slijkbeflag	147
slijmzwam	153
smeeralg	155
smeearprep.	191, 193
sneeuw	119
Sommerfeld	173
Spaltmikroskoop	38
speeksellichaampjes	33
speekselklieren	194
spermatozoiden	115, 189, 193
Sphagnum	61
spiegel	10
spiegelcondensor	38
spiervezels	106
spin	107
Spirillen	178
Spirochaeten	180
Sponsen	157
sponsparenchym	77
sporangia	58, 159
sprinkhaan	107
sputum	173
squash	191
statief	9
statoblasten	114
steekmug	104

Steinmetz-kleuring	96
stempels	67, 70
stengel	71
steriliseren	176
steunlijsten	184
stevigheidsweefsel	72, 86
stigma	116
stikstof	122, 179
stippels	61, 75, 85
stoma	77
stralengang	14, 26
streepjesmethode	177, 178
strekken (paraffine)	201
streptokokken	173
stuifmeelbuis	66, 191
stuifmeelkorrels	68, 69
stijfsel	57
<i>styraxbalsem</i>	186
<i>Sudan III</i>	63, 127
suiker	124, 127
<i>suikerwater</i>	67
<i>syrax</i>	186

T

Tami	12, 37, 50
tandslijm	171
tangentiaal	72, 85
tarwekorrels	56, 62
tekenapparaat	30, 31, 48, 50, 75
telkamer	132
tentakels	45, 60, 113, 114
terpentijn	184
terpineol	187
testes	193
Testplatte (Abbe)	32
tetraden	69
Tetranychus	100
thee	74
thermostaat	181, 199
Thrips	107
Thysanoptera	107
<i>titaniumdioxide</i>	187
<i>tolufix</i>	186
toorts	60
tor	106
Torenia	192
tracheaal systeem	86
tracheeën	106
tracheiden	86, 91

tracheekieuwen	109
Tradescantia	63, 66
trichocysten	149, 190
trilhaar	152, 174, 175
tropenplankton	146
tuberkelbacillen	173
tubus	9
tubuslengte	29, 64
turgor	65
Turttox	93, 187
tweezaadlobbige stengel	70
tympanaal orgaan	107
Type n p l a t t e	33, 34

U

Ui	63, 193
uittrekken v. paraffine	202
u l t r a - m i k r o s k o o p	20
universele kleuring	96, 189
urine	124, 162

V

vaatbundel	79 vlg.
vacuole	63
Vallisneria	66
varens	58, 79, 159
vaten	70 vlg.
vazen, water in	149
veenmol	107
veenmos	61, 69
veer	97
vergroting	60
vergrotingbepaling	20
vetkleuring	63, 78, 82, 123
vezels	53, 87
violieren	60
viooltje	61
visschubben	98
visziekten	166
vitaalkleuring	100, 189 vlg.
vitamine	123
vleesvlieg	107
vlieg	101, 155
vliermerg	47, 61, 79
vlindereieren	107
vlinderschubben	33, 101, 182
vlindertong	106
vlo	109
vochtige kamer	66, 105, 154, 182

voedingsoplossingen

voedingsoptellingen	68, 77, 161, 164, 165, 166
volutine	129
voorkiem	159
voorwerpglazen	

Vorticella	152
vruchtpluis	61

W

wants	106
wasvoetjes	182, 183
waterbloei	147, 149
waterlelie	81
waterroofkever	106
waterpest	60
wieren	165, 194
wilg	74
winterplankton	147
wit-medium	183
witte kleur	83, 88
wit slijten	98
wol	53, 97
wolfsmelk	58, 76
wonderboon	63
wormen	111, 193
wortel	77, 193
wrijfplaat	111
wijnsteenzuur	122

X

xyleem	70, 84 vlg.
xyleen	54, 182 vlg.
xylol (zie xyleen)	

IJ

ijzer	120
ijzeraluin	202
ijlsazijn	175, 188, 200

Z

zaadknop	192
zeeappels	115
zeefvat	71
zeekomkommers	33
zeewaterplankton	140
zelfreiniging	130

<i>Zenker</i>	188
zetmeel	55
zetmeelschede	71
Zernike	21
Ziehl-Neelsen	173
zilver	176
<i>zilvernitraat</i>	117, 123
zonneblad	66, 81
zonnedauw	60
zoetwaterplankton	130 vlg.
zoetwaterpoliep	112
zoetwaterspons	157
<i>zoutoplossing</i>	54
<i>zoutzuur</i>	51
zustercel	71
zuurkool	172
zwavel	122
zwavelbacteriën	147
zwavelzuur	55, 87
zwerm sporen	157
zijde	53