

Do-It-Yourself Dauerpräparate**Teil 1 von 3:****Einfache Einbettung und Färbung größerer Tier- und Pflanzenteile**

Klassenstufe	Thema	Niveau	Vorbereitungszeit
Sek II	Mikroskopie	• • •	• •

Inhalt dieser Anleitung

In dieser Anleitung lernen Lehrkräfte sowie Ihre Schülerinnen und Schüler fortgeschrittene Techniken der Herstellung von Mikropräparaten und erhalten einen Einblick in die Herstellung von Dauerpräparaten. Insbesondere lernen sie eine Färbetechnik und das Einschließen des Präparates kennen.

Einleitung

Neue methodische Arbeitspläne ermöglichen es, sofort und ohne besondere Vorkenntnisse, einfache mikroskopische Dauerpräparate anzufertigen. Das Aneignen dieser handwerklichen Fertigkeiten bietet Schülerinnen und Schülern einen vertieften Kontakt mit Mikropräparaten im Mikroskopischen Praktikum. Darüber hinaus ermöglicht es Lehrkräften, sich selbst einen kleinen, eigenen Fundus an Präparaten anzulegen.

Achtung!

Wegen eines nötigen Arbeitsschrittes mit stark gesundheitsschädlichen und potentiell krebserregenden Stoffen (Xylol sowie Xylol- Ersatzprodukte) wird hier auf eine Einbettung mit Harzen verzichtet und hierfür ausschließlich die Einbettung mit Glyzeringelatine beschrieben. Auf eine Formalinlösung zum Fixieren wird hier ebenfalls verzichtet. Dies ermöglicht es auch Schülerinnen und Schülern bedenkenlos Dauerpräparate herzustellen zu lassen.

Bitte informieren Sie sich über die Bestimmungen Ihres Landes bzw. Bundeslandes bezüglich der Gefahrstoffverordnung und den Erwerb der Chemikalien, sollten Sie dennoch Dauerpräparate in Harze einschließen oder Formalin zur Fixierung verwenden wollen. Auch wenn Sie dies nur für die Biologiesammlung vorhaben.

Durchführung

Material

- Alkohol 96%ig - Brennspritus
- Alkohol 70%ig - diesen kann man sich aus einer Mischung von 3 Teilen Brennspritus und 1 Teil destilliertem Wasser selbst herstellen.
- Alkohol 100%ig - Isopropylalkohol
- Destilliertes Wasser (auch demineralisiertes Wasser).
- Salzsaurer Alkohol (auf 50 ml 70%igen Alkohol kommen einige Tropfen Salzsäure).
- Präparategläser um Präparate in die Chemikalien einzulegen. Gut ersetzbar durch Petrischalen oder ähnlichen, flachen Schälchen.
- Eindeckmedium: Glyzeringelatine.
- Safraninlösung zur Färbung der Präparate.
- Rasierklinge
- Präparationsbesteck
- Objektträger und Deckgläschen
- Feuerzeug oder Spiritusbrenner, um die Glyzeringelatine zu schmelzen. Alternative: In einem Becherglas im heißen Wasserbad. Hierzu werden zusätzlich Pipetten benötigt.
- Lack zum Abdichten des Deckgläschens. Hier genügt handelsüblicher klarer Nagellack.
- Uhrglas. Alternativ: Ein Objektträger.



Allgemeines zur Präparation

- Von Vorteil ist, wenn das Präparateglas, in dem sich das Objekt gerade befindet, während der Behandlungsdauer von Zeit zu Zeit leicht bewegt wird (nicht schütteln!). Dadurch wird eine schnellere Durchdringung des Objektes mit der jeweiligen Flüssigkeit erreicht.
- Prinzipiell sollten alle Flüssigkeiten nur einmal verwendet werden. Lediglich die Farblösungen können, falls sie nicht verdünnt werden mussten, in die Vorratsflaschen zurückgegossen werden. Verdünnte Farblösungen nicht in die Vorratsflaschen zurückgießen! Besser ist immer die Verwendung neuer, ungebrauchter Farblösungen.
- Es lohnt sich, die Objektträger, kurz vor der Einbettung, mit Alkohol zu desinfizieren. Dies vermeidet den Miteinschluss von Bakterien und Pilzsporen, welche die Haltbarkeit der Präparate beeinträchtigen.

Arbeitsplan Nr. 1

Einfaches Entwässerungspräparat, ungefärbt. Beispiele: Textilien und Fasern, Haare, Insektenteile (Flügel, Beine), dünne Schnitte durch Kork oder Holz usw.

Es handelt sich um eine Präparation von Objekten, die von Natur aus eine gewisse Eigenfarbe besitzen und daher nicht gefärbt zu werden brauchen. Beispiele hierfür sind Textilien und Fasern, Haare, durchsichtige Insektenteile wie Flügel, auch Stückchen eines Schmetterlingsflügels, sowie dünne Schnitte durch Kork oder Holz, die mit einer Rasierklinge angefertigt wurden.



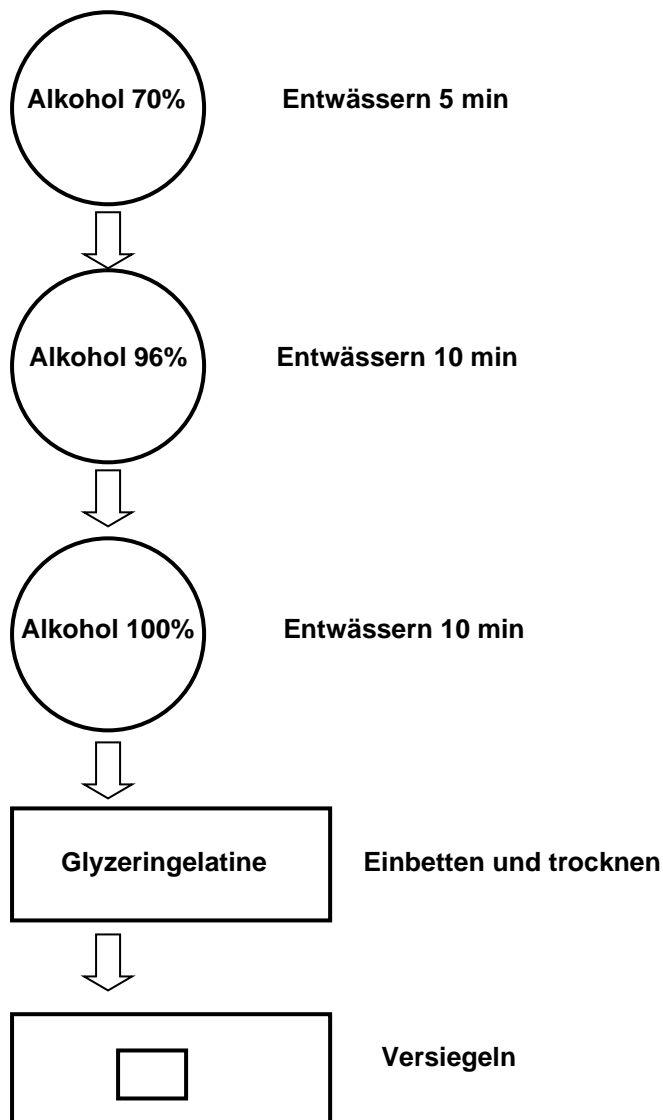
Erstes Ziel ist es, vor dem Einbetten Bakterien und Pilzsporen abzutöten, welche später das Präparat zersetzen oder schimmeln lassen könnten. Der Wasserentzug kann manche Objekte schrumpfen lassen:

- Es werden 3 separate Präparategläser mit 70%igen, 96%igen und 100%igen Alkohol gefüllt.
- Mit einer Pinzette wird Objekt in aufsteigender Alkoholkonzentration in jeweils 70%igen (5 min), 96%igen (10 min) und 100%igen (10 min) Alkohol eingelegt. Dabei ersetzt der Alkohol stufenweise das in den Objekten enthaltene Wasser, bis die Objekte in 100%igen (wasserfreien) Isopropylalkohol liegen.

Einbettung:

- Die Glyzeringelatine wird vorbereitet. Verwendet wird ein Stück in der Größe einer halben Erbse. Entweder wird das Stück direkt auf dem Objektträger vorsichtig über einer Feuerzeug-Flamme geschmolzen (Methode 1) oder eine größere Menge in einem heißen Wasserbad (Methode 2). Sie schmilzt ab 60°C. Nicht kochen!

- Mit der Pinzette wird das Objekt in die flüssige, abkühlende Glyzeringelatine auf dem Objektträger (Methode 1) gelegt - Bzw. nach Ablage auf den Objektträger mittels Pipette mit Glyzeringelatine eingedeckt (Methode 2).
- Ein sauberes, steriles Deckgläschen wird mit der Pinzette langsam auf das Objekt gelegt. Bläschenbildung vermeiden. Die Glyzeringelatine sollte den gesamten Raum unter dem Deckgläschen füllen, sie darf an den Rändern austreten.
- Die Präparate werden Waagrecht (!) einige Minuten an der Luft getrocknet, bis die Glyzeringelatine erstarrt.
- Überstehende Reste werden mit einer Rasierklinge vorsichtig von Objektträger entfernt.
- Das Deckgläschen wird an seinem Rand mit Lack versiegelt.



Mit freundlicher Unterstützung von

LIEDER
MADE IN GERMANY

- Seite 4 -

Arbeitsplan Nr. 2

Tierisches und pflanzliches Material allgemein, Einfachfärbung mit Safranin. Beispiele: Wasserflöhe, Mückenlarven, kleine Wurmarten (Leberegel, Tubifex), Süßwasserpolymp Hydra, Medusen, andere Kleintiere, Zwiebelhäutchen, Pflanzenteile, Holzschnitte usw.

Viele mikroskopisch kleine Objekte haben eine so geringe Eigenfärbung, dass die Strukturen nach dem Einbetten nur noch sehr schwach und unvollständig zu erkennen wären. Deswegen müssen die meisten Objekte vor ihrer mikroskopischen Untersuchung mit Farblösungen behandelt werden, die in der Lage sind, die unterschiedlichen Strukturen der Untersuchungsobjekte dauerhaft anzufärben.

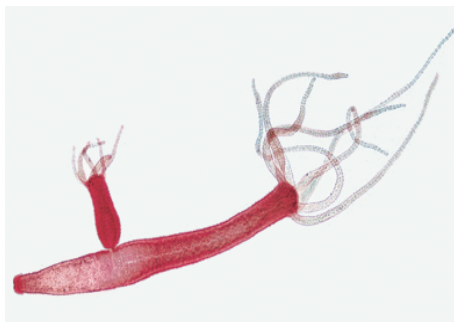


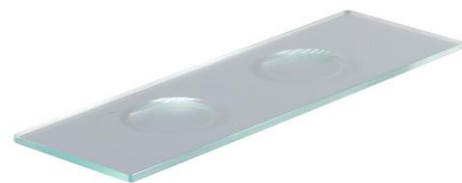
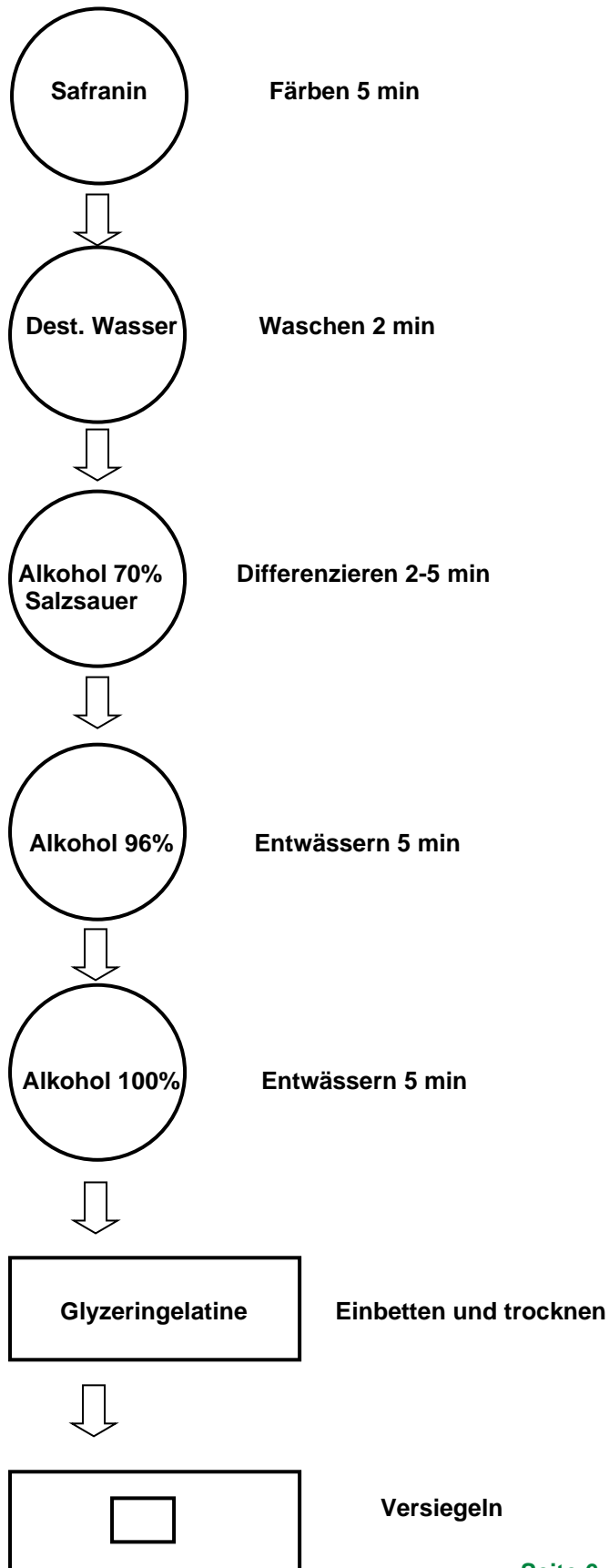
5 Präparategläser werden wie folgt gefüllt und das Objekt nacheinander darin eingelegt:

- Eine Safraninlösung, die vor der Verwendung noch mit destilliertem Wasser im Verhältnis 1:5 verdünnt werden kann (5-10 min).
- Destilliertes Wasser zum Auswaschen überschüssiger Färbung (2min).
- Salzsaurer Alkohol zum Differenzieren des Färbegrads – von Zeit zu Zeit das Objekt auf Uhrglas oder Objektträger in 70%igen Alkohol überführen und den Grad der gewünschten Färbung unter einem Mikroskop oder einer Streulupe prüfen (Zeit individuell).

Hinweis: Falls sich bei der Betrachtung herausstellt, dass die Differenzierung schon zu weit fortgeschritten ist, dem Gewebe also schon zu viel Farbe entzogen worden ist, kann der Färbvorgang ohne weiteres ab dem Präparateglas 1 wiederholt werden.

- Ist das gewünschte Maß erreicht, wird der Schnitt in das nächste Präparateglas überführt, welches 96%igen Alkohol enthält und in dem die Differenzierung bald zum Stillstand kommt (5 min).
- 100%iger Alkohol (5 min).
- Die Einbettung erfolgt nun wie in Arbeitsplan Nr. 1 beschrieben.





Mit freundlicher Unterstützung von

LIEDER
MADE IN GERMANY

Datenanalyse

Auswertung der Ergebnisse

Die Effektivität der Färbung und Differenzierung unterschiedlicher Gewebeteile im Objekt sind auswertbare und diskutierbare Ergebnisse. Auch für den Unterricht lässt sich über Faktoren wie Licht, Temperatur, undichter Einschluss sowie Kontamination mit Mikroorganismen als Problemstellungen anbringen.

Haltbarkeit von Dauerpräparaten

Der Begriff „Dauerpräparate“ kann ein wenig irreführend aufgenommen werden, da die Färbungen der Präparate mit der Zeit verblassen, sowie das Einschlussmittel Bläschen bilden und Einrüben kann. Die „Dauer“ in welcher ein selbst erstelltes Präparat ohne größeren Qualitätsverlust verwendet werden kann, schwankt individuell je nach technischem Aufwand und der Methodik.

Glyceringelatine ist weniger Haltbar als die Einbettung in Kunst- oder Naturharze (z.B. Entellan). Die Versiegelung mit Lack, welche bei einer Einbettung in Harze wegfällt, ist nie vollständig dicht.

Ausblick

In Teil 2 erwarten Sie: Anleitungen der Dünnschnitte für Lignin und Zellulose, sowie Histologische Schnitte mitsamt doppelten Färbungen.

