

Mikroskopisches Kollegium Bonn

**Schnelle Pflanzenschnitte mit dem
Haga Allmikro-
Rasierklingenmikrotom**

Rolf-Dieter Müller und Jörg Weiß

17.06.2011

www.mikroskopie-bonn.de

Kontakt: info@mikroskopie-bonn.de



*Rolf-Dieter Müller mit dem
Haga Rasierklingen-
mikrotom*

Die Fürther Firma Haga Metallwarenfabrik bietet schon seit vielen Jahren unter der Marke Allmikro ein Rasierklingenmikrotom [1] an, das zu einem im Vergleich zu [Schlitten-](#) oder [Rotationsmikrotomen](#) günstigen Preis zu haben ist. Die damit minimal zu erreichende Schnittdicke ist mit 25 µm angegeben.

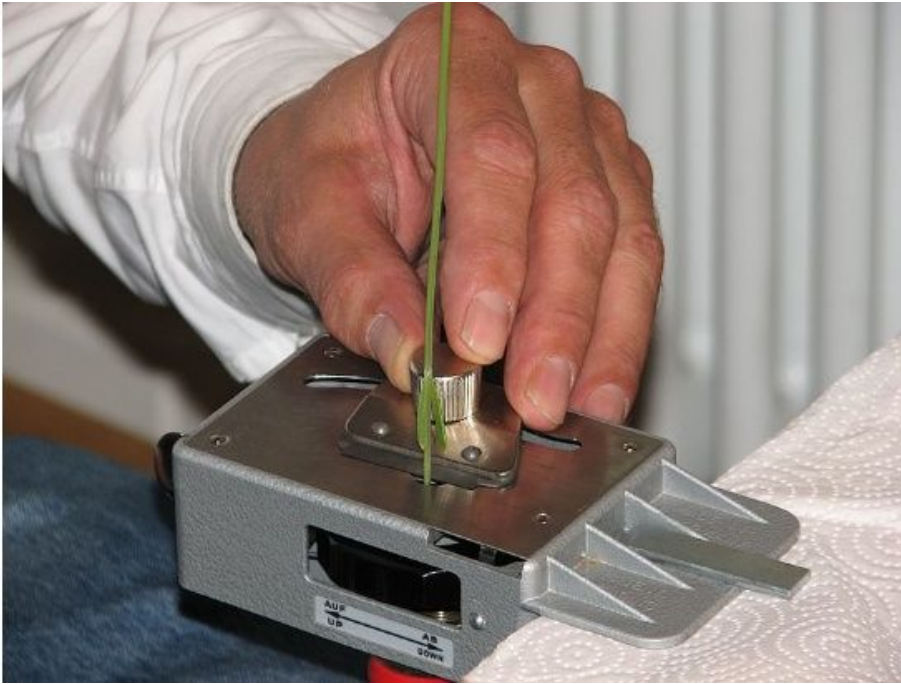
Im Vergleich zu einem klassischen [Hand-zylindermikrotom](#), das mit der meist untauglichen "Messerbeigabe" deutlich günstiger ist und mit einem brauchbaren Klingenhalter [2] und passenden Einmalklingen (z.B. Leica Nr. 110143) die gleiche Preisregion erreicht, ergeben sich einige Vorteile, aber auch verschiedene Einschränkungen.

Hier die - subjektiven - Vorteile des kleinen Geräts

- geringere Verletzungsgefahr durch fest montierten Messerschlitten
- einfachere Handhabung durch vorgegebene Schnittführung und Objektträgerhalter
- kostengünstige Nutzung normaler Rasierklingen
- integrierte Tischhalterung

Aber auch die ebenso subjektiven Einschränkungen:

- Schnittdicke nur in Stufen einstellbar, Zwischenschritte wegen Rastung problematisch
- problematische Fixierung der zu schneidenden Probe durch den Klemmmechanismus
- einfacher Schnitt nur bei krautigen Proben mit ausreichender Länge von mindestens 6 - 7 cm
- streuende Schnittdicke aufgrund des Spiels der mechanischen Komponenten, Schnittdicke kann zwischen 25 bis 40 µm variieren



Das Haga Allmikro Mikrotom - auch Kasten- oder Rasierklingenmikrotom - beim Anschnitt einer frischen Probe

Beachtet man die Beschränkung auf krautige - also nicht zu stark verholzte - Pflanzensprosse und hält sich an die hier vorgestellten Kniffe bei der Handhabung des Mikrotoms, können ohne großen Aufwand Schnitte mit einer Dicke ab 25µm erstellt werden.

Die Probe wird dabei frisch geschnitten. Die für die Färbung und die Erstellung von Dauerpräparaten notwendige [Fixierung](#) erfolgt somit an den Schnitten (Schnittfixierung im Gegensatz zur Objektfixierung, bei der die Probe vor dem Schnitt als Ganzes fixiert wird).

Vorbereitungen

Wie ist nun vorzugehen? Das Kastenmikrotom wird gemäß der Bedienungsanleitung an der Tischkante des Arbeitsplatzes befestigt und ein Objektträger zur Aufnahme der Schnitte in den Halter eingesteckt. Zusätzlich werden ein Stück Holundermark, ein runder Haltemagnet von einer Magnettafel (Durchmesser 2 bis 3 cm), ein kleines Uhrglas mit Wasser und ein feiner Pinsel (am besten ein Maderhaarpinsel der Größe 000 - der beiliegende Pinsel ist zu dick) gebraucht.

Nun wird der Transportzylinder des Mikrotoms ca. 1/3 der maximal möglichen Länge nach unten gedreht (Markierungen am Vorschubrad des Mikrotoms beachten) und das untere Loch mit dem Magneten verschlossen. Die Probe, z.B. ein Sprosstück vom Lavendel (*Lavandula angustifolia*) wird mit Hilfe des Holundermarks so in der Probenaufnahme fixiert, dass sie unten auf dem Magneten auf- und an der dem Messer abgewandten Seite der Bohrung anliegt. Dazu wird über die gesamte Länge des Holundermarks eine senkrechte Kerbe eingeschnitten, die etwas kleiner sein muss, als der Durchmesser der

Probe. Damit ist sichergestellt, dass die Probe exakt transportiert und nicht über Gebühr gequetscht wird. Eine der eingangs erwähnten Einschränkungen ist somit behoben.

Als nächstes erfolgt der Anschnitt mit einer gebrauchten Rasierklinge. Dazu wird der Klingenshalter einfach einmal über die volle Länge der Schneidebahn geschoben und das Probenstück damit passend abgelängt.

Nun ist unbedingt eine frische unbenutzte Rasierklinge einzulegen! Die Klinge und die Stirnseite der Probe werden mit dem Pinsel und dem Wasser aus dem Uhrglas leicht angefeuchtet und es wird ein Wassertropfen auf den eingespannten Objektträger gegeben, in dem die Schnitte gesammelt werden. Zur Verbesserung der Schnittführung lässt man zusätzlich etwas Wasser unter den Klingenschlitten einziehen.

Bilder zur Vorbereitung des Allmikro Mikrotoms



- Das Allmikro Mikrotom mit Holundermark und Magnet. Je nach Dicke der zu schneidenden Probe bekommt das Holundermark eine passende Kerbe über die gesamte Länge. Damit die Probe sicher gehalten wird, muss die Kerbe immer kleiner sein, als der Probendurchmesser



- Das Holundermark kommt in den Probenzylinder, der von unten mit dem Magneten verschlossen wird



- Einsetzen des Holundermarks von unten in den Probenzylinder. Der Klemmmechanismus muss dabei über den Hebel an der Stirnseite des Geräts geöffnet werden.



- Die Probe ist eingespannt und liegt dabei in der Kerbe des Holundermarks. Dies verhindert, dass sie von der Klemmhalterung des Mikrotoms zu stark gequetscht wird. Mit dem nun folgenden Anschnitt (mit einer gebrauchten Klinge) wird sie auf die richtige Länge gebracht. Proben sollten somit mindestens 6 - 7 cm lang sein.

Das Schneiden

Jetzt kann mit dem Schneiden begonnen werden. Dazu wird die Vorschubschraube zunächst um eine Raste nach oben gedreht und von unten leicht gegen den Probenzylinder mit dem Magneten gedrückt. Der Klingenschlitten wird nun, ebenfalls unter leichten Druck, in einer gleichförmigen Bewegung über die gesamte Länge der Schlittenbahn geschoben. Dabei wird ein dünnes Scheibchen der Probe abgeschnitten und schiebt sich auf die Klinge. Von dort wird es vorsichtig mit dem Pinsel abgenommen und in den Wassertropfen auf dem Objektträger gegeben. Der Klingenschlitten wird nun wieder in die Ausgangsposition gebracht und danach, **d.h. nach jedem Schnitt**, gleich der Anschnitt der Probe wieder mit dem Pinsel befeuchtet. Das Mikrotom ist jetzt bereit für den nächsten Schnitt.

Durch den Druck von unten auf den Probenzylinder und von oben auf den Klingenschlitten ist dabei sicher gestellt, dass die Probe einwandfrei vorgeschoben und direkt über der Kante der Stahl-Basisplatte abgeschnitten wird. Das oben angesprochene mechanische Spiel der beweglichen Bauteile des Mikrotoms wird somit minimiert.

Achtung: nicht zu stark andrücken, da die Basisplatte bei Druck etwas nachgibt, was negative Auswirkungen auf die Schnittdicke hat.

Die ersten ein bis zwei Schnitte sind in aller Regel nicht sehr schön und sollten daher verworfen werden. Dies gilt auch für zu dicke Schnitte (im Wassertropfen müssen die Schnitte durchscheinen, weiße oder gar grüne Stellen deuten auf einen zu dicken Schnitt, was mit einer einfachen Klapplupe kontrolliert werden kann).

Es kann auch passieren, dass bei einem Vorschub nichts abgeschnitten wird. Dies liegt in der Regel an einem zu starken Druck auf den Klingenschlitten beim vorangegangenen Schnitt, der dann auch zu dick ausgefallen sein dürfte. In diesem Fall einfach einen neuen Schnitt durchführen und die Dicke prüfen. Eventuell muss auch dieser Schnitt verworfen werden, der nächste wird dann aber wieder brauchbar sein.

Wenn Schnitte nicht komplett sind, ebenfalls verworfen und neu schneiden, bis gleichmäßige Schnitte kommen. Bleiben die Schnitte unregelmäßig dick oder keilförmig (Lupenkontrolle!) kann es sein, dass die Probe nicht richtig geklemmt oder zu dünn ist und somit der Klinge ausweicht. In diesem Fall sollte die Probe neu eingespannt und angeschnitten werden - ggf. ist dabei ein größerer Durchmesser zu wählen oder die Probe muss wie unter Blattquerschnitte beschrieben eingebettet werden.

Nach der hier beschriebenen Methode kann man mit einer Vorbereitungszeit von wenigen Minuten in einer halben Stunde 30 bis 40 schöne Schnitte erstellen.

Bilder vom Schneiden



- Das Mikrotom vor dem Schnitt



- Im Probenzylinder sieht man die angefeuchtete Anschnittstelle des in unserem Beispiel verwendeten Lavendelsprosses, rechts darüber der Messerschlitten mit der Rasierklinge und unten Links der Objektträger in seinem Halter.



- Zum Schneiden wird der Messerschlitten unter leichtem Druck (auch von unten auf den Magneten am Probenhalter!) über die komplette Länge der Schneidebahn geführt. (Die Technik wurde in einem Workshop des MKB getestet und die einzelnen Arbeitsschritte zur besseren Übersicht auf eine Leinwand projiziert).



- Der Schnitt wird mit dem angefeuchteten Pinsel von der Klinge abgenommen und auf den Objektträger gegeben.

Die Schnittfixierung

Um die eben erstellten Schnitte weiterverarbeiten zu können, müssen sie [fixiert](#) werden. Dazu reicht im einfachsten Falle 70%iges Ethanol aus, bessere Ergebnisse erzielt man jedoch mit dem [AFE-Fixiergemisch](#) aus Ethanol, Essigsäure und Formaldehyd.

Zur Schnittfixierung gibt man etwa 0,5 ml der gewählten Fixierlösung in ein Uhrglas und überträgt die Schnitte vom Objektträger dort hinein. Dazu kann wieder der Pinsel verwendet werden. Wichtig ist, dass die Fixierlösung durch das Wasser auf dem Objektträger nicht zu sehr verdünnt wird. Ggf. muss etwas davon nachgegeben werden.

Nach 5 bis 10 Minuten sind die Schnitte fixiert und bereit für Färbung und Einschluss. Die Weitere Bearbeitung muss aber nicht direkt im Anschluss erfolgen, die Schnitte können in einem dicht schließenden Gefäß in 70%igem Ethanol auch über längere Zeit gelagert werden.

Fazit

Unter Berücksichtigung der oben beschriebenen Einschränkungen und Tipps bei der Handhabung eignet sich das kleine Allmikro Mikrotom gut für die Verarbeitung ausgewählter nicht zu harter Proben. Dies gilt besonders, wenn es darauf ankommt, auch mit ungeübten Anwendern schnell und ohne große Vorbereitung brauchbare Ergebnisse zu erzielen. Damit ist es für den Einsatz an Schulen prädestiniert, wo im Unterricht von den Schülerinnen und Schülern einfach Querschnitte guter Qualität erstellt und weiterverarbeitet werden können.

Wenn härtere Proben geschnitten werden sollen, eine feinere Justierung der Schnittdicke notwendig ist oder die Probe nicht ordnungsgemäß im Probenzylinder des Kastenmikrotoms befestigt werden kann, sollte allerdings auf ein [Zylindermikrotom](#) mit Klingenhalter und Einmalklingen zurückgegriffen werden.

Tipps: Zur weiteren Präparation eignet sich insbesondere die auf der Webseite des MKB beschriebene [Simultanfärbung W3Asim](#).

Ausblick

Neben dem oben beschriebenen Schneiden unverholzter Pflanzenstängel kann der Einsatzbereich des kleinen Rasierklingenmikrotoms durch eigene Experimente und Umbauten erweitert werden. Dazu hier einige Anregungen.

Blattquerschnitte:

Flache Proben, wie z.B. Blätter, könne nicht ohne weiteres in das Kastenmikrotom eingespannt werden, sie benötigen eine Umschließung. Hier kann z.B. auf die weiter unten beschriebene [Möhreneinbettung](#) zurückgegriffen werden.

Dazu sticht man am besten mit einem Korkbohrer aus dem Laborfachhandel einen Möhrenzylinder passender Dicke aus und halbiert diesen mit einer

gebrauchten Rasierklinge. Nun kann ein Blattstück passender Größe eingelegt und das so entstandene Sandwich ins Mikrotom eingespannt werden. Dabei ist wieder darauf zu achten, dass der Möhrenzylinder lang genug ist, um unten auf dem angesetzten Magneten aufzuliegen.

Der eigentliche Schnitt erfolgt wie oben beschrieben. Auch hier kann Frischmaterial geschnitten und anschließend fixiert werden (Schnittfixierung).

Bei der Auswahl der Probe sollte auf nicht zu filigranes Material zurückgegriffen werden. Gut geeignet sind z.B. Blätter von der Lorbeerkirsche (*Prunus laurocerasus*).

Längsschnitte:

Mit dem Allmikro Mikrotom können auch Längsschnitte kleinerer Probenstücke erstellt werden. Allerdings gilt dabei in Bezug auf die einfache Handhabung ebenfalls die Einschränkung auf krautige Pflanzen.

Dazu wird ein Rundholz mit passendem Durchmesser (aus dem Bastel- oder Modellbaubedarf) so abgelängt, dass es bei zu etwa einem Drittel heruntergefahrenem Probenhalter und angesetztem Magnet 2 bis 3 mm **unterhalb** der Edelstahlplatte des Mikrotoms endet.

Die obere Stirnseite wird dünn mit einem beliebigen Sekundenkleber bestrichen. Nach Aushärtung des Sekundenklebers ist es möglich, z.B. Sprossstücke passender Länge ebenfalls mit Sekundenkleber aufzukleben und so zu fixieren. Diese müssen dazu leicht feucht sein, um ein Abbinden des Klebers zu gewährleisten - oft reicht es, die Probe leicht anzuhauen.

Der Holzstempel kann weiter verwendet werden, dazu einfach Reste und Überstände vorheriger Proben abschaben bzw. abschleifen. Die oben beschriebene Erstbehandlung der Stirnseite ist nicht mehr erforderlich.

Vorsicht bei der Handhabung: nur die Probe soll auf dem Holzstempel kleben ...

Umbauanleitung:

In Christian Linkenhelds Mikroskopieforum finden Sie eine Umbauanleitung [3], die es mittels eines selbst erstellten Klemmhalters ermöglicht, auf einfache Weise Paraffinschnitte zu erstellen.

Literatur und Bezugsquellen

[1] [Haga Allmikro Mikrotom](#)
[Haga Metallwarenfabrik](#)
Fürther Straße 174
90429 Nürnberg

[2] Klingenthaler für Einmalklingen wie z.B. Leica 110143
Bezug über Detlef Kramer,
Kontakt über [Christian Linkenhelds Mikroskopie-Forum](#)

[3] [Umbauanleitung für das Allmikro Mikrotom von Haga](#)
Von Michael Siegrist,
Kontakt über Christian Linkenhelds Mikroskopie-Forum