



Lehrerfortbildung Mikroskopie  
2014



# Verschiedene Pflanzenteile des gemeinen Efeus im mikroskopischen Präparat

Rolf-Dieter Müller und Jörg Weiß

# Inhalt

- Organisatorisches
- Ausgangsmaterial
- Präparationstechniken
  - Probennahme
  - Schneiden
  - Fixierung
  - Färben
  - Einschließen
- Hinweise zur Unterrichtsplanung
- Exkurs: Anatomie
- Literatur und Links



# Organisatorisches

- Vorstellung
- Arbeitszeit und Pausen
- Arbeitsmittel
- Ablauf des Workshops
- Sicherheit
- Event. Exkurse:  
Das Mikroskop  
Anatomie  
Fluoreszenz-Mikroskopie



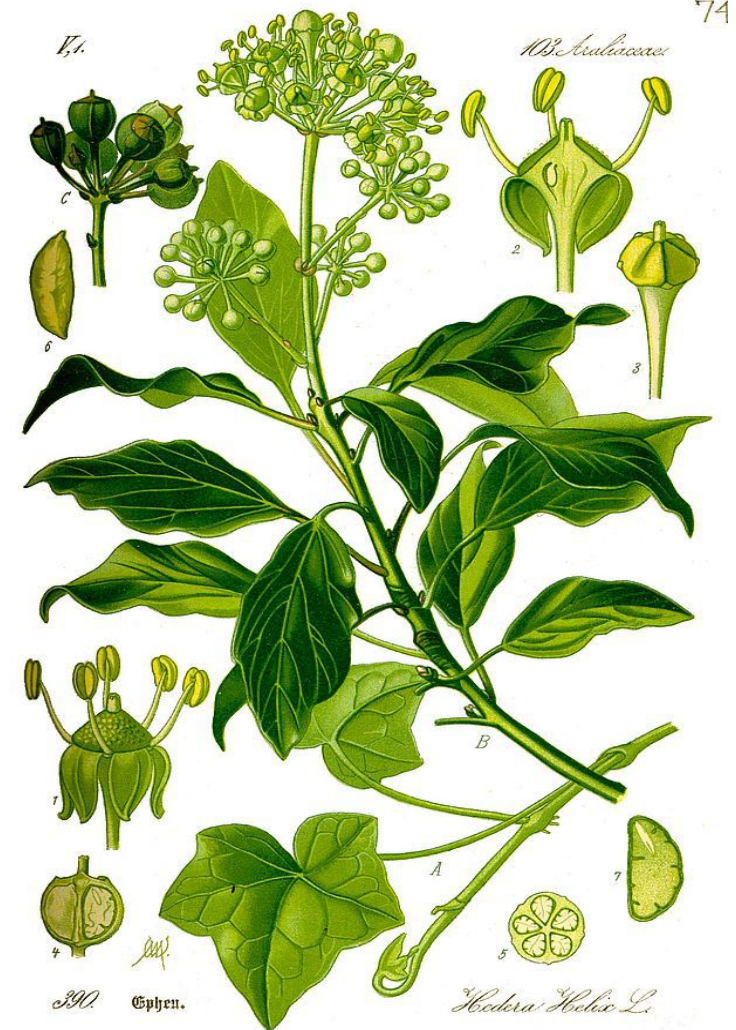
# Sicherheit

- Im Umgang mit einigen der verwendeten Stoffe sind Sicherheitsregeln zu beachten:
- Ethanol 70%, leicht entzündlich, F
- Isopropanol 100%, leicht entzündlich, reizend, Xi
- Formalin 35%, giftig, T  
Bestandteil des AFE
- Essigsäure, ätzend, C  
Bestandteil des AFE
- Xylol 100%, gesundheitsschädlich, Xn  
**Auf gute Belüftung achten, Fenster auf!**
- Aber auch Werkzeuge können tückisch sein:
  - Deckglasbruch im Finger ist sehr unangenehm



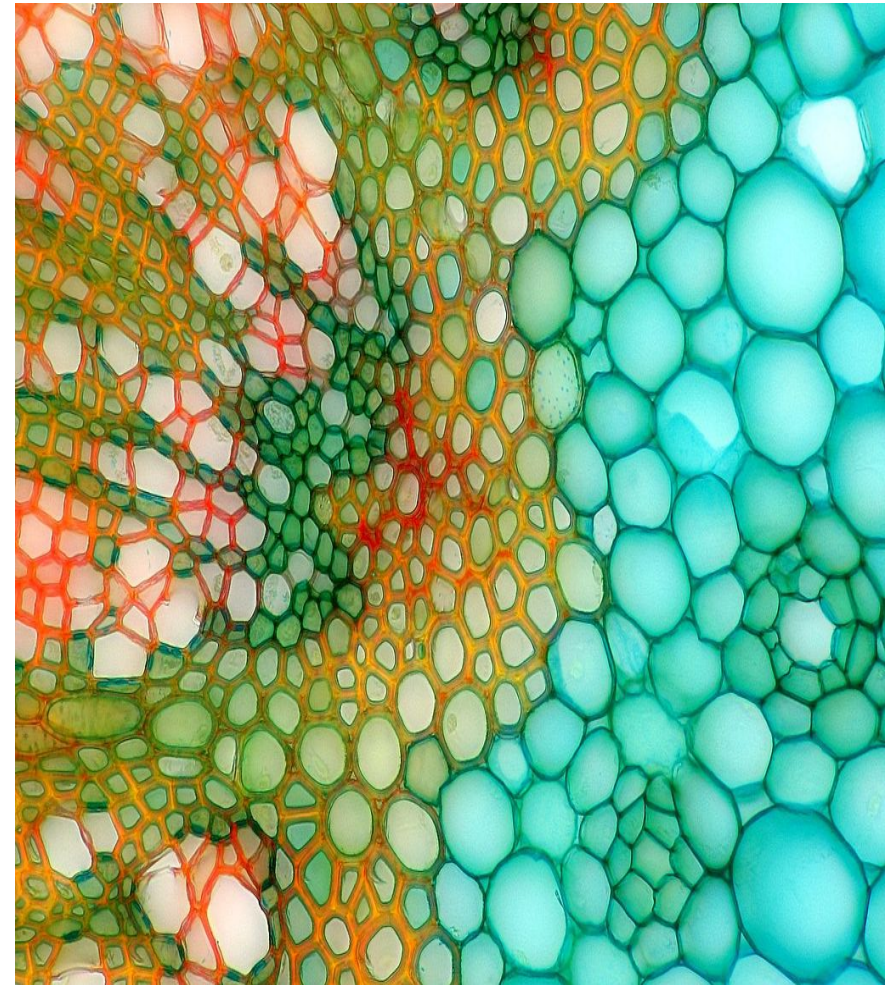
# Ausgangsmaterial

- **Gemeiner Efeu (Hedera helix)**
- Juveniler Spross
- Adulter Spross
- Blattstiel
- Blatt
- Wurzel



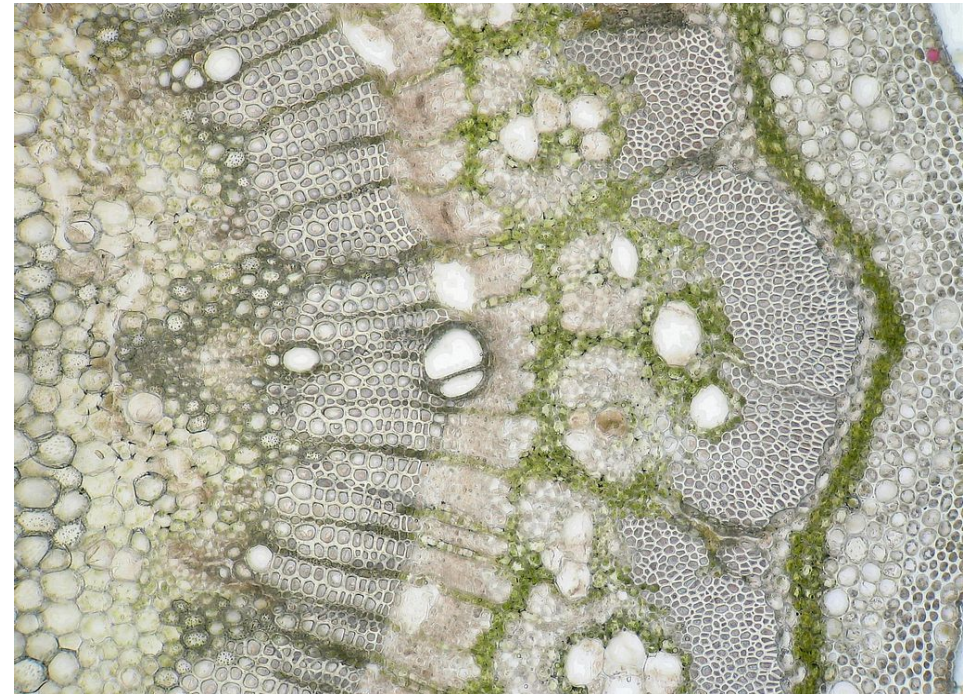
# Präparationstechniken

- **Ziele der Präparation:**
- Weitestgehende Erhaltung der Gewebe
- Vermeidung von Artefakten
- Darstellung der Anatomie der Probe
- Unterscheidbarkeit der einzelnen Gewebearten
- Nachvollziehbarkeit der Ergebnisse



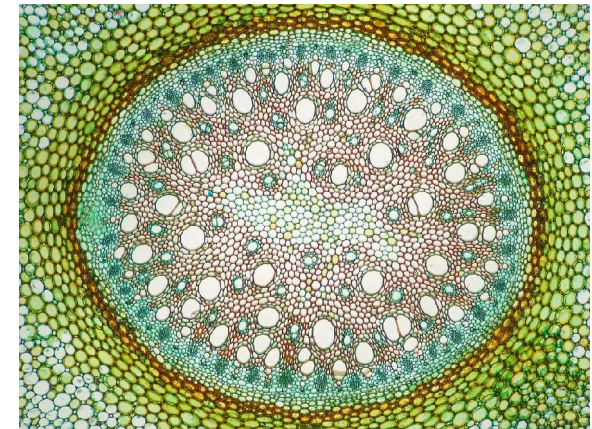
# Präparationstechniken / Probenahme

- Frisches Material ohne Verletzungen
- Ausnahme: Dokumentation von Schädlingsbefall (z.B. Pilze)
- Keine geschützten Arten, nicht in Naturschutzgebieten
- Keine unnötigen Zerstörungen im Umfeld
- Scharfe Werkzeuge (Skalpell, Schere)
- Sofort schneiden oder fixieren



# Präparationstechniken / Schneiden

- Unterschiedliche Schnitttechniken
  - Freihandschnitt mit Umschließung (Holundermark, Möhre)
  - Handschnitt mit dem Zylindermikrotom
  - Rotations- und Schlittenmikrotome
- Schnittdicken ab 100  $\mu\text{m}$ 
  - Freihandschnitt 100 – 50  $\mu\text{m}$ , eventuell auskeilend
  - Zylindermikrotom, Kastenmikrotom 50 – 20  $\mu\text{m}$
  - Rotationsmikrotome bis unter 2  $\mu\text{m}$
- Wir schneiden mit dem Zylindermikrotom und dem Kastenmikrotom (mit 40 bis 50  $\mu\text{m}$  Schnittdicke)
- Quasi alle grundlegenden Erkenntnisse zur Pflanzenanatomie wurden im 19. Jahrhundert anhand von Handschnitten gewonnen (z.B. Haberlandt, Strasburger)



# Präparationstechniken / Fixierung

- Die Fixierung erhält die Gewebestrukturen
  - Unterbrechung der Stoffwechselaktivitäten
  - Abtötung von Mikroorganismen
  - Vermeidung von Gewebeschrumpfung
- Botanische Fixierlösungen:
  - Ethanol 70% (starke Entwässerung)
  - AFE (Ethanol 70%, Formalin 35%, konz. Essigsäure im Volumenverhältnis 90:5:5)
- Schnitifixierung für ca. 10 - 20 Minuten
- Oder: Probenlänge 8 bis 15 mm, saubere Schnitte; Aufbewahrung in Filmdöschen; 2 Tage Minimum, ggf. wechseln, anschließend Lagerung in Ethanol 70%

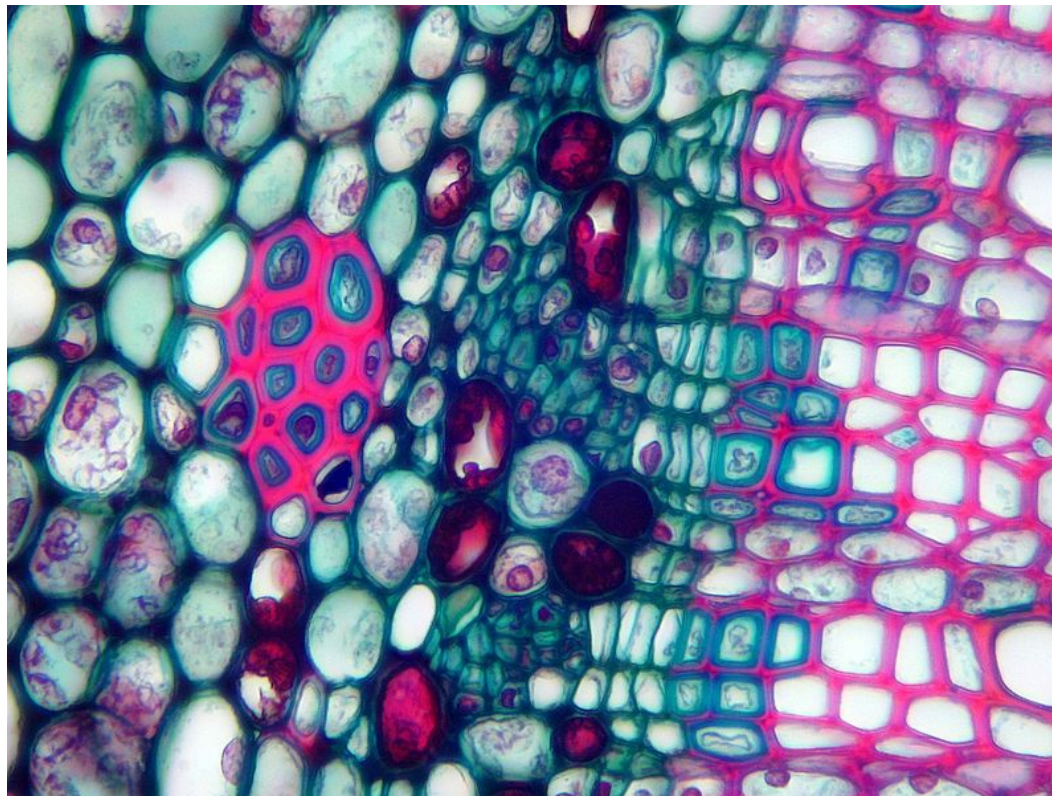


# Präparationstechniken / Färben

- Anfärbung der Schnitte
- Wozu färben?
  - Die Färbung soll die einzelnen Gewebearten des Präparates deutlich differenziert anfärben
  - So lässt sich der Aufbau des Präparates erkennen (Anatomie)
  - Aber auch: attraktive Präparate schaffen Aufmerksamkeit für den Lernstoff
- Zwei Färbungen im Workshop
  - Etzold grün nach Brüggemann
  - W3Asim II nach Rolf-Dieter Müller auf Basis der Wacker W3A Färbung
- Die Bearbeitung der Schnitte erfolgt anhand der Arbeitsblätter zu den Färbungen (werden ausgegeben)
- Die Präparate bleiben im Uhrglas
- Die Reagenzien werden mit der Pipette zugegeben und abgesaugt (eventuell ausziehen)

# Präparationstechniken / Färben

- Etzold grün nach Brüggemann
  - Eine einstufige Färbung mit einem Farbgemisch aus 3 Farbstoffen
  - Chrysoidin, Fuchsin, Acliangrün
  - Besonders geeignet für dickere Handschnitte



Lehrerfortbildung Mikroskopie 2014  
Verschiedene Pflanzenteile des Gemeinen Efeus  
im mikroskopischen Präparat

# Etzold-grün Färbung nach Brüggmann, Einschluss in Euparal

## Reagenzien:

Wasser entmin.,  
70% Ethanol,

Etzold grün Lösung  
(Chrysoidin, Fuchsin, Alciangrün - eine  
Mischung aus Alciangelb und Alcianblau),

100% Isopropylalkohol,

Euparal

## eventuell alternativ:

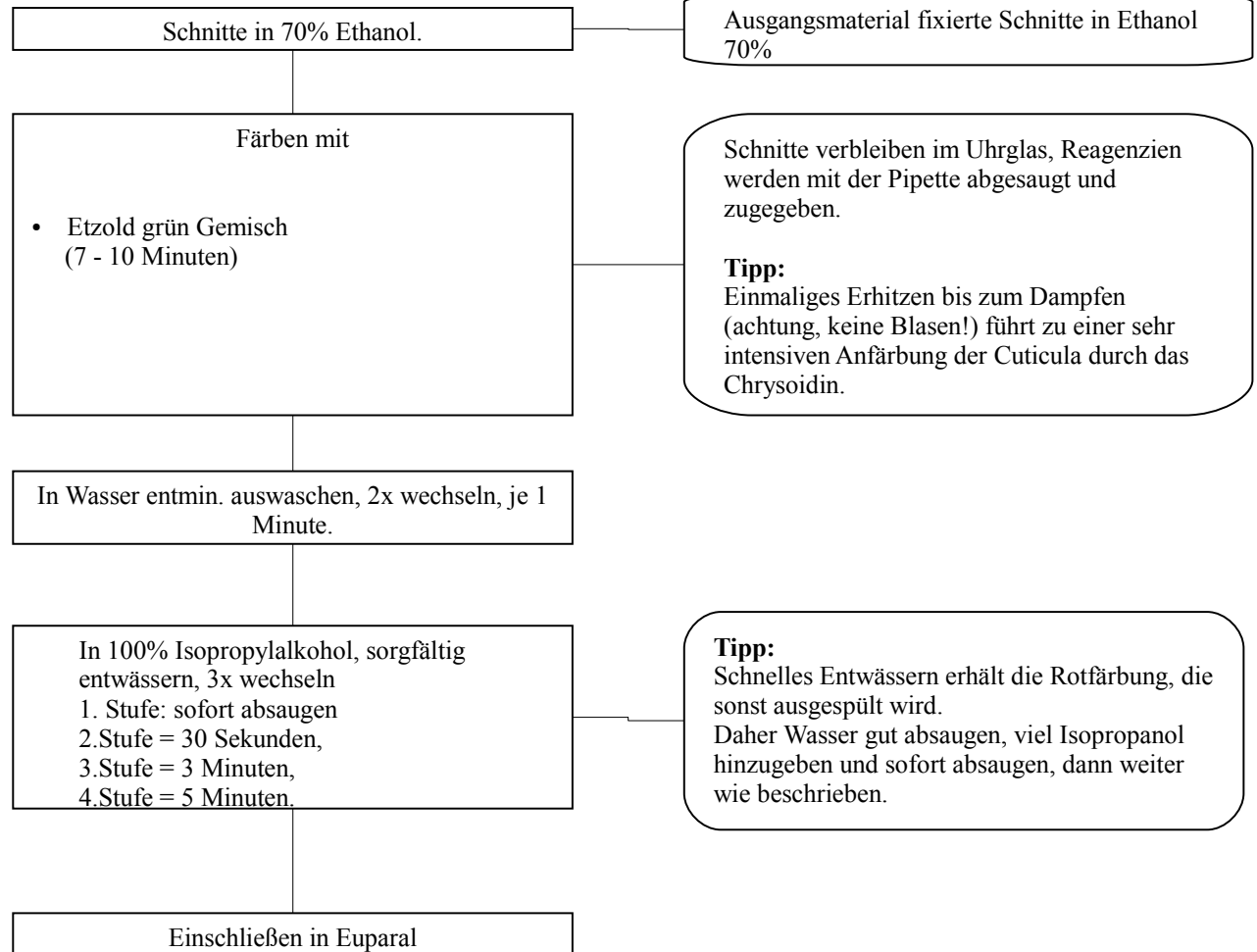
Etzold FCA

## Bezug:

Farbstoffe von WALDECK GmbH & Co  
Division Chroma.

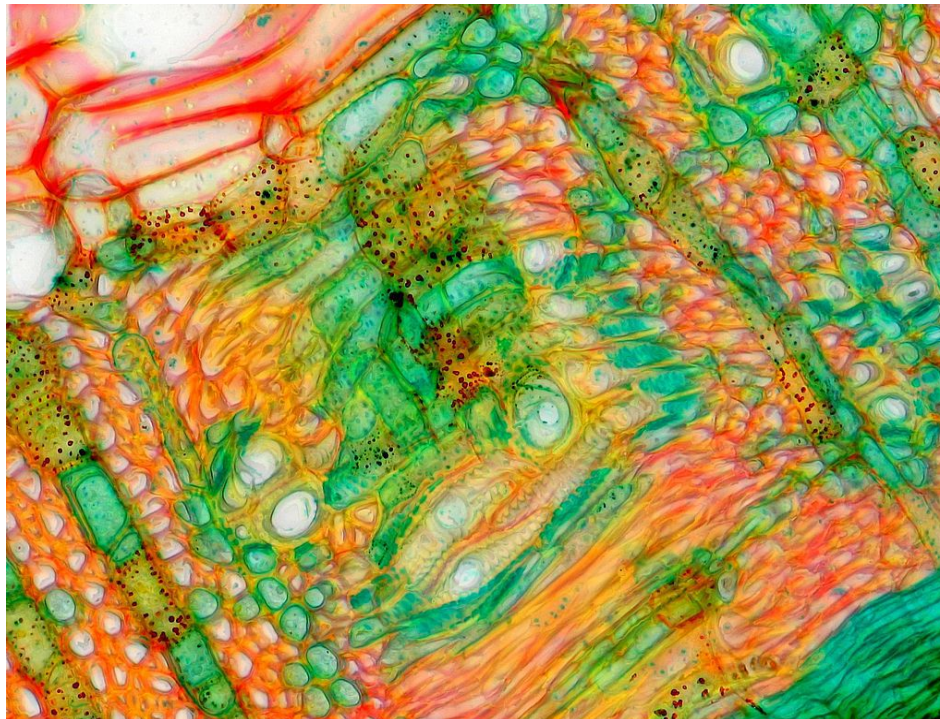
## Literatur:

<http://www.mikroskopie.de/mikforum/read.php?2,46158,46158#msg-46158>



# Präparationstechniken / Färben

- W3Asim II nach Rolf-Dieter Müller
  - Eine einstufige Färbung mit einem Farbgemisch aus 3 Farbstoffen
  - Acridinrot, Acriflavin, Alcianblau
  - Entwickelt für botanische Hand- und Dünnschnitte
  - Einfache Verarbeitung und gute Differenzierung



Lehrerfortbildung Mikroskopie 2014  
Verschiedene Pflanzenteile des Gemeinen Efeus  
im mikroskopischen Präparat

## W3Asim-Färbung, Einschluss in Euparal

### Reagenzien:

Wasser entmin.,  
70% Ethanol,

W3Asim II Lösung  
(Acriflavin, Acridinrot, Alcianblau)

100% Isopropylalkohol,

Euparal

### eventuell alternativ:

-/-

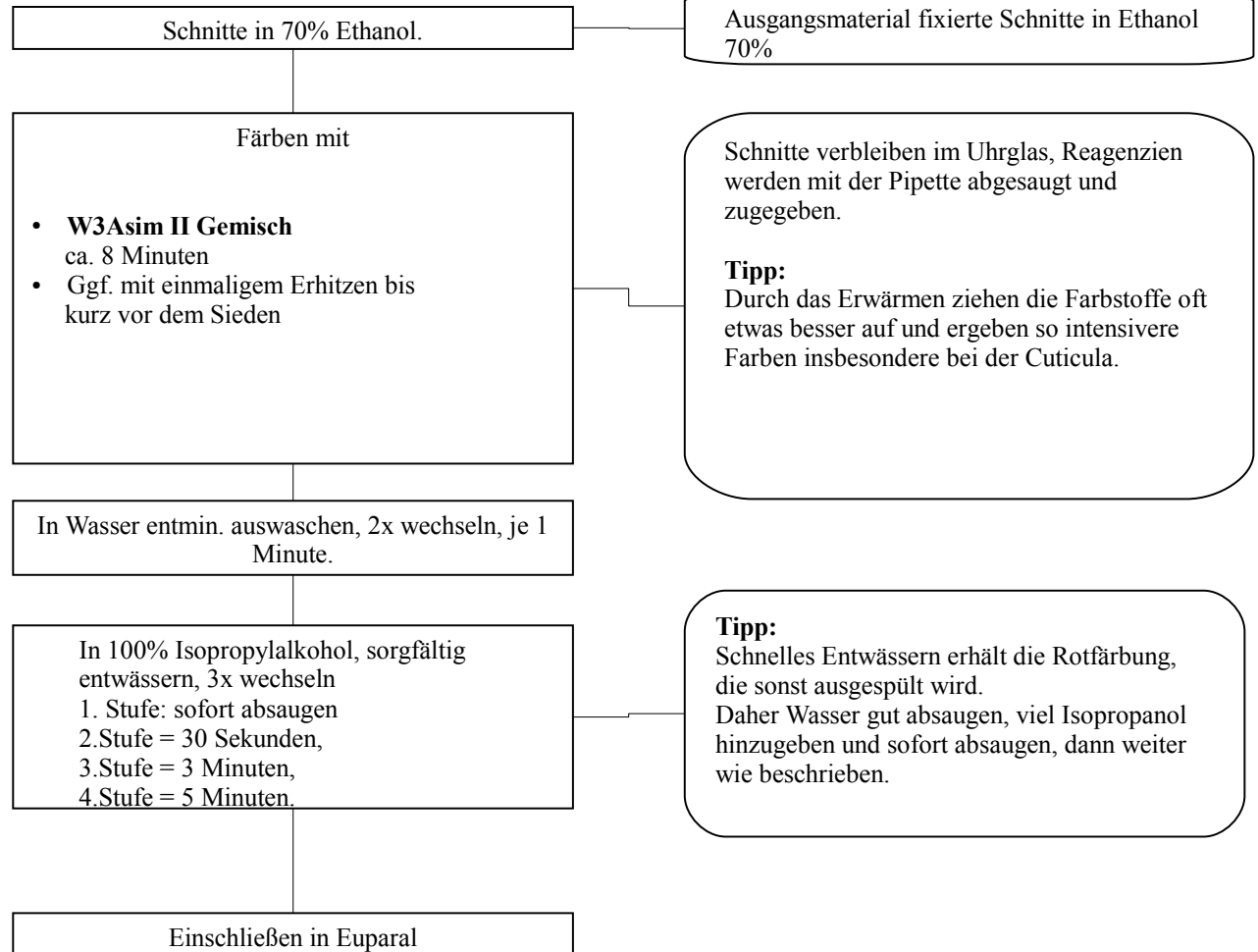
### Bezug:

Farbstoffe von WALDECK GmbH & Co  
Division Chroma.

### Literatur:

„Wacker für alle – neue Simultanfärbungen  
auf der Basis der W3A Färbung von Robin  
Wacker“

Rolf-Dieter Müller und Jörg Weiß; MKB;  
www.mikroskopie-bonn.de



# Präparationstechniken / Einschließen

- Zur Erstellung eines Dauerpräparates müssen die gefärbten Schnitte eingeschlossen werden
- Dazu wird der Schnitt auf einem Objektträger mit dem Einschlusmittel betropft und ein Deckglas aufgelegt
- Haltbarkeit einige 10 Jahre, hauptsächlich abhängig vom Wasseranteil
- Einschlusmittel für botanische Präparate
  - Euparal  
Intermedium Isopropanol, leuchtende Farben, Eigenfluoreszenz, Trockenzeit 7 Tage
  - Malinol  
Intermedium Xylol, keine Eigenfluoreszenz, Trockenzeit 7 Tage
  - Eukitt  
Intermedium Xylol, keine Eigenfluoreszenz, Trockenzeit 2 Stunden

## Präparationstechniken / Einschließen

- Vor dem Einschließen müssen die Schnitte gut mit Isopropanol entwässert werden, siehe Arbeitsanleitung auf den Arbeitsblättern.
- Wir verwenden Euparal, die langen Trocknungszeiten wird durch Isopropanol als Intermedium und vor allem den günstigen Brechungsindex wieder wett gemacht.
- Objektträger und Deckglas müssen sauber sein. Mit Spiritus abreiben.
- Die Schablonen auf den Arbeitsblättern erlauben eine genaue Ausrichtung von Probe und Deckglas

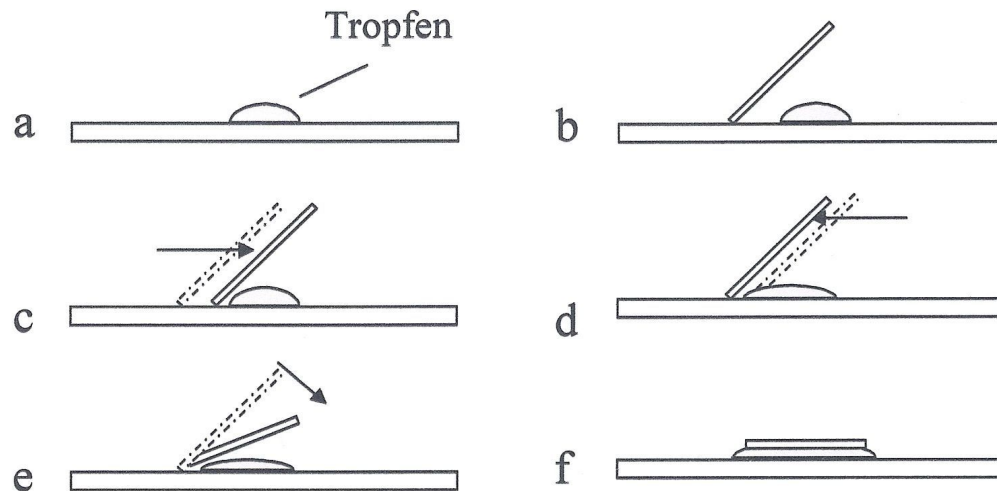
## Präparationstechniken / Einschließen

- Schnitt mit dem Pinsel isopropanolfeucht auf den Objektträger geben
- Mit zwei Tropfen Euparal bedecken (aus geringer Höhe auftropfen, Tropfflasche oder Glasstab/Schaschlikspieß)
- Deckglas mit Flachpinzette aufnehmen
- Unterstützt durch die geöffnete Spitzpinzette gemäß der Markierung auf der Schablone ansetzen
- Langsam absenken, Blasenbildung vermeiden
- „Anziehen lassen“ - das Euparal verteilt sich unter dem Deckglas
- Vorsichtig mit dem Ende des Pinselstiels andrücken
- Präparat markieren (Name und Nummer, Liste der Nummern mit Beschreibung führen)

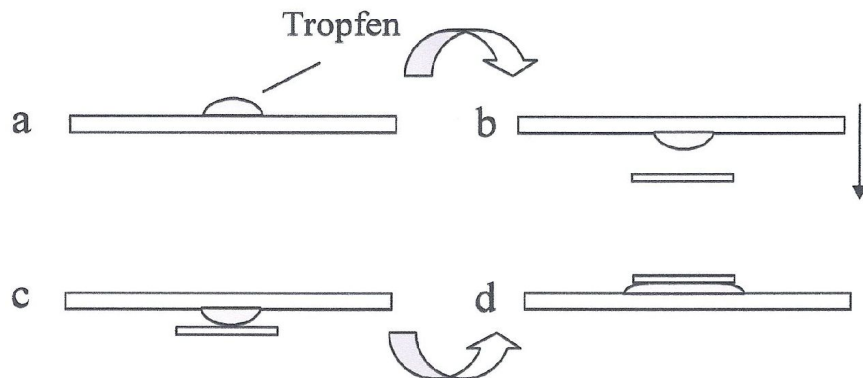
# Präparationstechniken / Einschließen

- Illustrationen zum Auflegen des Deckglases

## Deckglas auflegen nach der herkömmlichen Methode



## Deckglas auflegen nach der "Wacker" Methode



# Präparationstechniken / Einschließen

- Beschriften des Präparates
  - Linke Seite  
Name und lat. Name des Objektes, Objektteil und Orientierung, eventuell Schnittdicke
  - Beispiel: Gemeiner Efeu  
Hedera helix  
Blattstiel quer
  - Rechte Seite  
Name des Präparators, Färbung, Einschlussmittel und Datum
  - Beispiel: Jörg Weiß  
W3Asim II  
Euparal  
28.01.2012



# Hinweise zur Unterrichtsplanung

- Erfahrung aus Mikroskopie-Workshops mit SuS der Jahrgangsstufen 10 bis 13 zeigen, dass alle Arbeiten zur Erstellung von Dauerpräparaten auch mit den Schülern durchgeführt werden können (MINT Camp Nonnenwerth)
- Das Interesse für die Anatomie u. Physiologie der Pflanzen wird nachhaltig geweckt; Ansatz von Haberlandt (Physiologische Pflanzenanatomie, 1884)
- Benötigtes Unterrichtsmaterial (Klassensätze) können von den SuS selbst angefertigt werden und stehen allen Stufen zur Verfügung
- Ggf. kann die AFE – Fixierung durch eine Ethanol-Fixierung ersetzt werden, wenn Bedenken gegen den Einsatz von Formaldehyd bestehen
- Schneiden und Fixieren sowie Färben und Eindecken lassen sich auf zwei Unterrichtseinheiten mit je 90 Minuten aufteilen. Die Schnitte können nach der Fixierung in Ethanol 70% problemlos bis zu 14 Tagen aufbewahrt werden
- Voraussetzung ist eine komplette Bestückung der Arbeitsplätze vor Unterrichtsbeginn, Zwischenlagerung ggf. auf einem Vorbereitungswagen
- Alternativ kann die Präparation auch im Rahmen einer Bio-AG oder eines MINT Camps an einem Nachmittag oder Samstag durchgeführt werden.

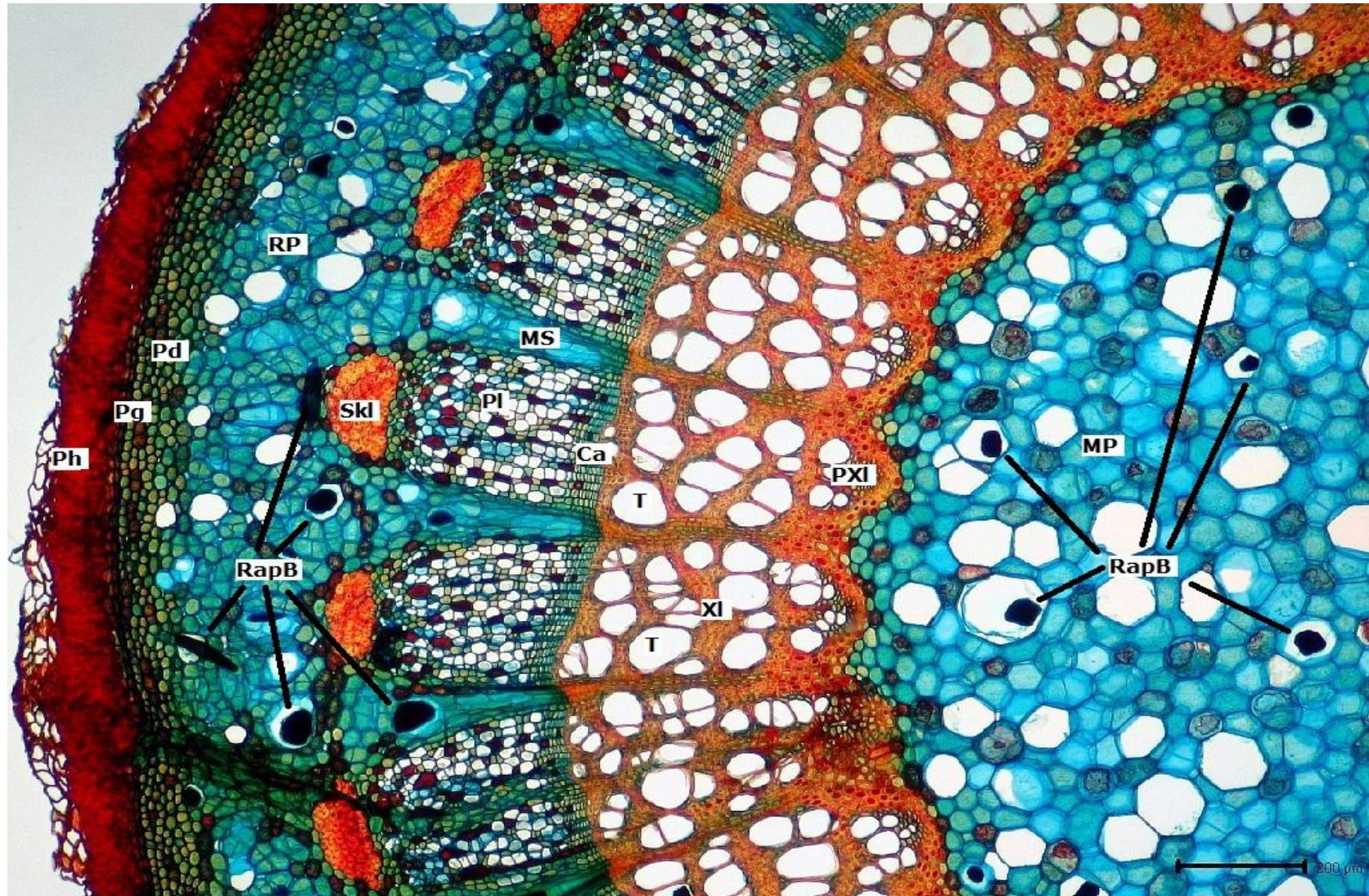


# Exkurs: Anatomie

- Wie bei allen Lebewesen erfüllen auch in Pflanzen verschiedene Gewebearten unterschiedliche Aufgaben
- Die Gewebe sind durch Spezialisierung an ihre jeweilige Aufgabe angepasst
- Gewebearten (unvollständig)
  - **Markparenchym (MP)** – Füllgewebe
  - **Xylem (XI)** – Leitet Wasser und gelöste Salze von den Wurzeln in die Blätter
  - **Cambium (C)** - Wachstumsschicht
  - **Phloem (PI)** - Leitet Wasser mit Assimilaten zu Wachstumszonen oder Speicherzellen
  - **Sklerenchym (Skl)** – verholzte Stützzellen, abgestorben
  - **Endodermis (Ed)** – Begrenzt des Zentralzylinder einer Wurzel gegen das Rindenparenchym, Casparistreifen, Filterfunktion
  - **Rindenparenchym (RP)** - Füllgewebe
  - **Epidermis (Ep)** – Abschlussgewebe
  - **Phellem (Ph), Phellogen (Pg), Phelloderm (Pd)** – Aufbau der (Wurzel-)Rinde
  - **Cuticula (Cu)** – Von der Epidermis gebildete Wachsschicht, Verdunstungsschutz

# Exkurs: Anatomie

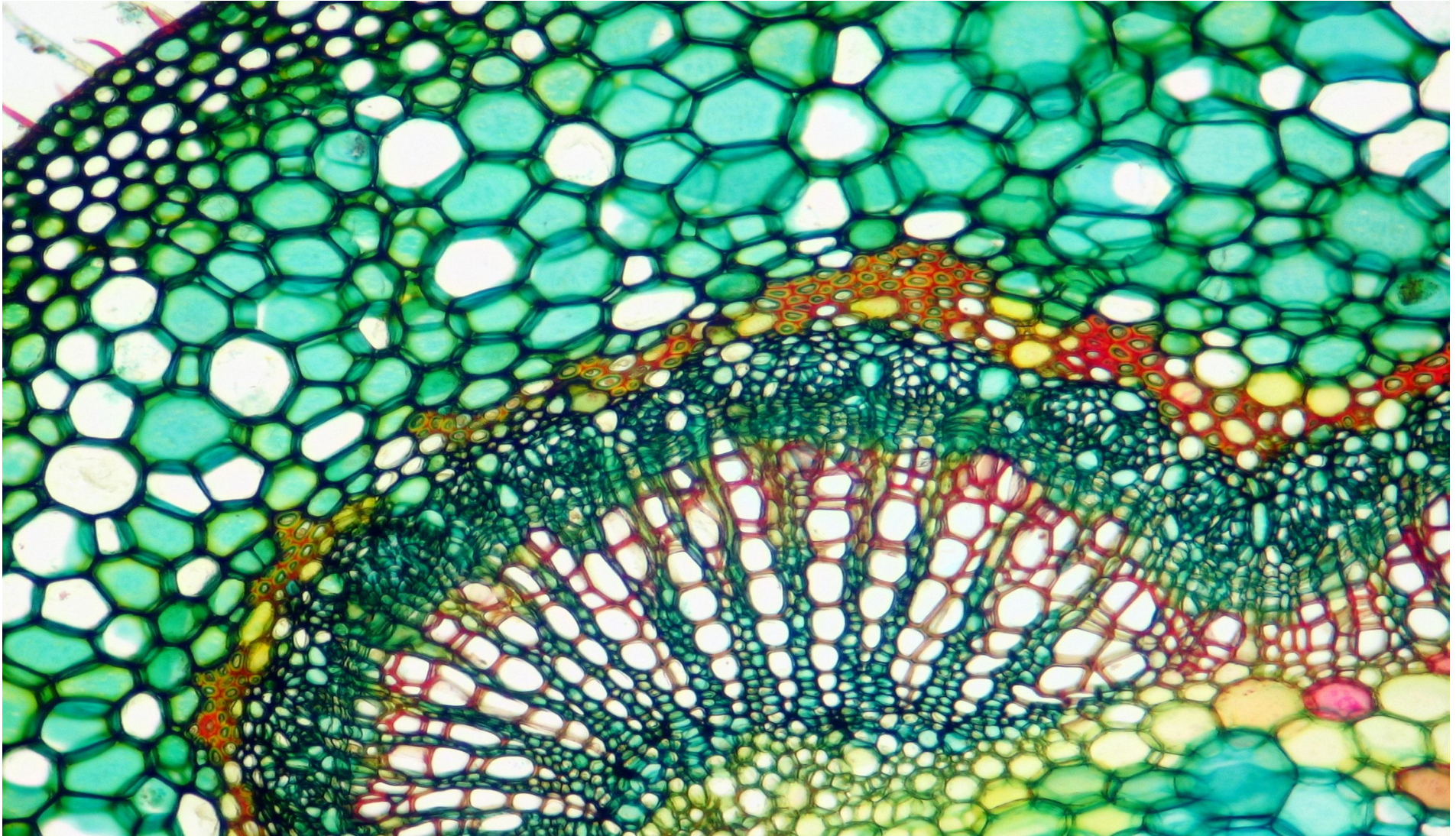
- Beispielbild eines klassischen Sprosses (Gew. Jungfernrebe, W3A)



Lehrerfortbildung Mikroskopie 2014  
Verschiedene Pflanzenteile des Gemeinen Efeus  
im mikroskopischen Präparat

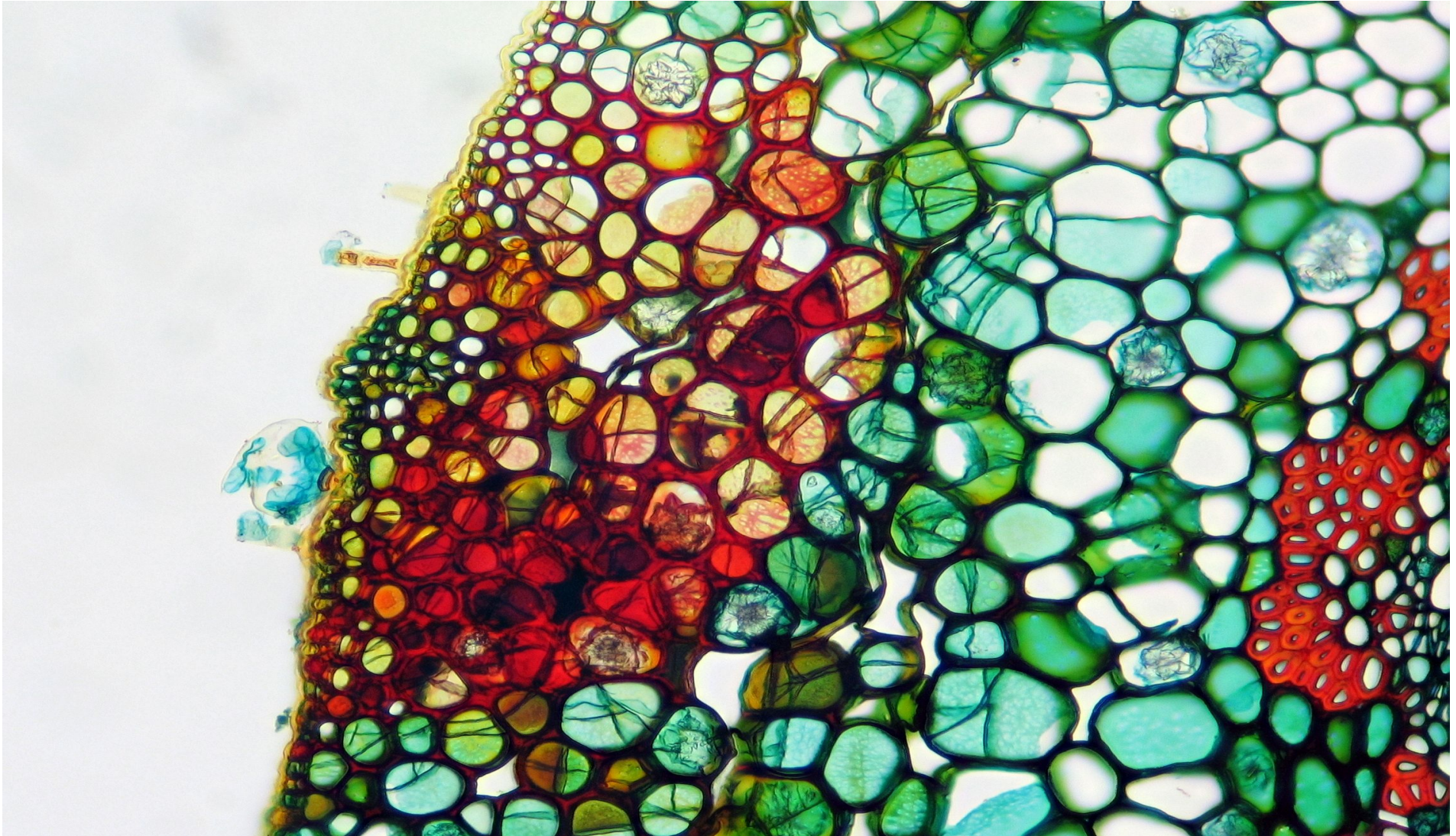
## Exkurs: Anatomie

- Beispielbild vom Blattstiel der Hasel (*Corylus avellana*), W3A



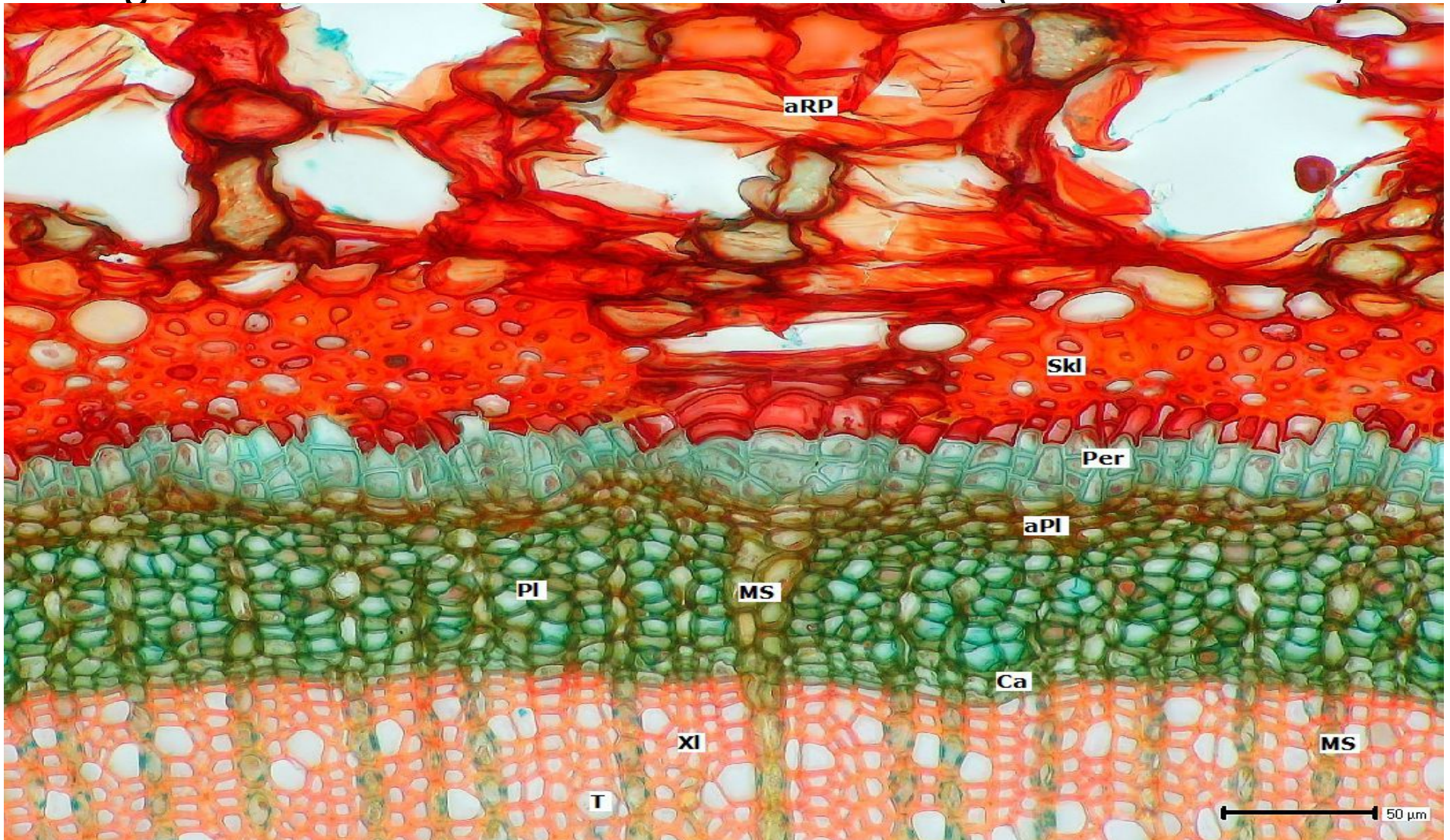
## Exkurs: Anatomie

- Zeichen eines Pilzbefalls (Blattstiel der Walnus – *Juglans regia*)



# Exkurs: Anatomie

- Beginn des sekundären Dickenwachstums (Rhododendron)



# Literatur und Links

- Literatur

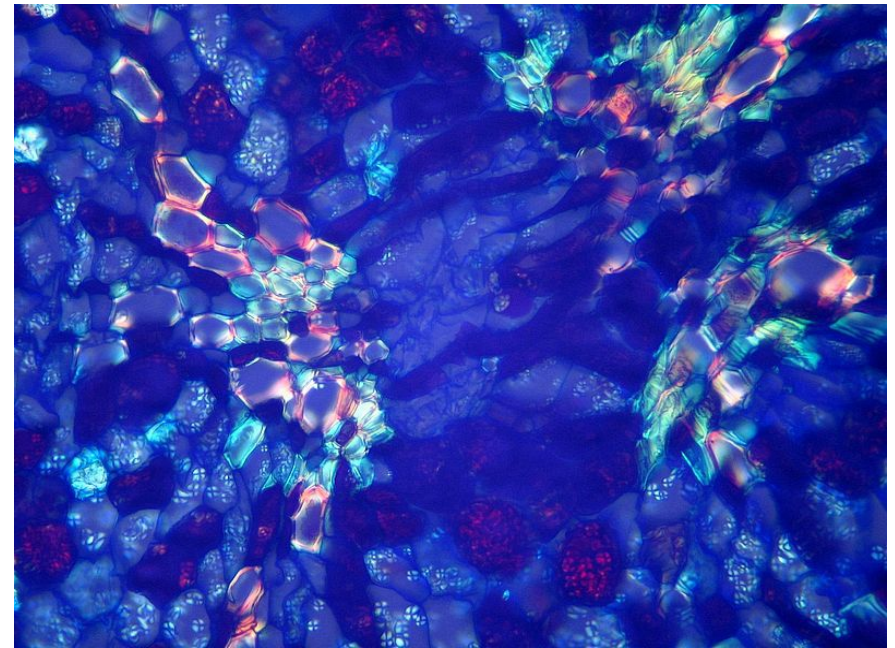
- Das große Buch der Mikroskopie, Bruno P. Kremer, Kosmos, ISBN 978-3-440-08989-7
- Mikroskopisch-Botanisches Praktikum, Gerhard Wanner, Thieme, ISBN 3-13-440312-9
- Funktionelle Pflanzenanatomie, Walter Eschrich, Springer, ISBN 3-540-59131-1  
oder antiquarisch: Haberlandt, Physiologische Pflanzenanatomie, z.B. 6. Auflage 1924
- MKB Artikel zum Zylindermikrotom, dem Haga-Mikrotom sowie zu den W3Asim Färbungen im Bereich [Bibliothek/Botanische Mikrotechnik](#) auf der Webseite des MKB und als PDF zum Herunterladen

- Links

- Mikroskopie-Forum  
<http://www.mikroskopie-forum.de/index.php>
- Offene Naturführer  
<http://www.offene-naturfuehrer.de>

- Mikroskopie in Bonn

- MKB (Mikroskopisches Kollegium Bonn)  
Monatliche Treffen  
<http://www.mikroskopie-bonn.de>





**Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit und den  
angenehmen Workshop!**