

Perfekte Handschnitte mit einfachen Hilfsmitteln

Klaus Herrmann und Heinz Streble

Die Herstellung von Handschnitten durch botanisches Material (frisch oder fixiert) wird in vielen Fachbüchern beschrieben. Eine einfache Erläuterung der Technik ist bei Drews (1992) und auch bei Kremer (2002) nachzulesen. Eine sehr ausführliche und gut bebilderte Beschreibung findet man im Buch *Botanische Mikrotechnik* von Gerlach (1984). Daraus sei auch der einführende Satz zu diesem Kapitel zitiert: *Die Herstellung von Handschnitten gehört zu den wichtigsten Tätigkeiten der botanischen Mikrotechnik.*

Da ein Schnitt über den gesamten Querschnitt eines Pflanzenstängels selten brauchbar gelingt, wird bei Gerlach (1984) darauf hingewiesen, dass zur mikroskopischen Untersuchung mehrere keilförmige Segmente angefertigt werden müssen, um den Gesamtquerschnitt zu verstehen. Und dann sieht der begeisterte Mikroskopiker diese perfekten Präparate in schön bebilderten Büchern (Kremer, 2002) und ist frustriert nach der Lektüre über aufwändige Einbettmethoden und teure Mikrotome, die als Voraussetzung für so prächtige Ergebnisse genannt werden (Gerlach, 1984; Romeis, 1989). Doch es geht auch viel einfacher mit erstaunlich guten Ergebnissen (Abb. 1)!

Was benötigt man?

Zunächst braucht man ein stabiles Handmikrotom. Wir haben gute Erfahrung gemacht mit einem kleinen, am Tisch anschraubbaren Gerät von Jung (Abb. 2). Aber auch ein nicht anschraubbares Gerät wie zum Beispiel von Kosmos kann mit einer einfachen Klemmvorrichtung am Tisch fixiert werden. Das ist wichtig, weil man sonst noch eine dritte Hand zum Festhalten des Mikrotoms benötigt. Des Weiteren muss man scharfe Messer haben. Und genau hier beginnt das Problem: Ein professionelles Mikrotommesser ist teuer und muss von Zeit zu Zeit nachgeschliffen werden. Rasiermesser

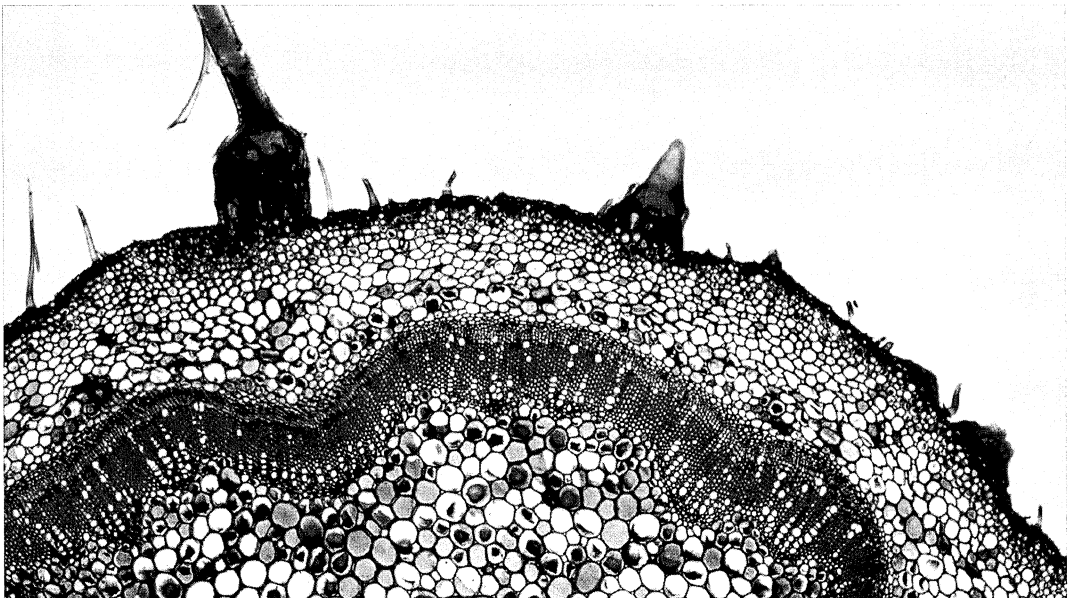


Abb. 1: Natternkopf (*Echinum vulgare*), Querschnitt durch einen Stängel. Färbung mit Etzolds Farbgemisch, Durchlicht, Hellfeld, Schnittdicke 30 μ m, Bildbreite 3 mm.

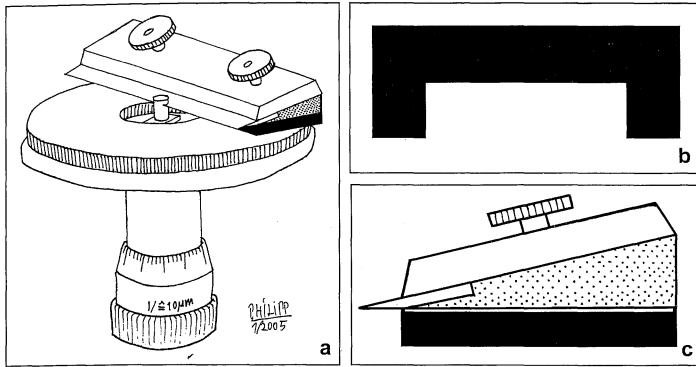


Abb. 2: Einmalklingenhalter für Handschnitte. a Funktions-skizze mit Handmikrotom. b Ansicht von unten mit Aussparung in der Kunststoffgleitfläche. c Seitenansicht. Zeichnungen von P. Herrmann.

(keilförmig oder plankonkav) schaben über die Glasoberfläche des Mikrotoms und sind dadurch schnell stumpf. So bieten sich Einmalklingen an, die optimal scharf sind. Wir haben gute Erfahrungen mit dem Typ Leica 818 gemacht, eine preiswerte Alternative.

Nun ist ein professioneller Messerhalter für Einwegklingen auch wieder teuer und zudem von Hand nicht leicht zu führen. Hier hat Heinz Streble (2004) durch Tüfteln eine elegante Lösung gefunden: Der Hand geführte Einmalklingenhalter aus Messing mit Kunststoffgleitfläche. Die Kunststoffgleitfläche hat zwei Funktionen. Zum einen sorgt sie für leichtes, ruckfreies Gleiten auf der Glasoberfläche des Mikrotoms und zum anderen hält sie das Messer auf Abstand, so dass es geschont wird und zudem auch die Glasfläche nicht verkratzt.

Pflanzenstängelschnitte ohne Einbettung

Mit schräg gestelltem Messer lassen sich nun leicht Schnitte durch Blattstiele, Pflanzenstängel, Wurzeln, Hölzer und Blätter machen, wenn das Material durch Fixieren in AFE (Äthanol, Formalin, Essigsäure) ausreichend schnittfest gemacht wurde (Gerlach, 1984). Eine Einbettung in Paraffin mit den dafür erforderlichen zeitaufwändigen Präparationsschritten ist nicht nötig. Das ist aber natürlich nur bei kompaktem Material, wie beispielsweise Pflanzenstängeln möglich, ein Schnitt durch die Blüte eines Korbblütlers zerfällt in seine Einzelteile.

Das fixierte Material wird in 70%igem Äthanol ausgewaschen, eventuell noch mit scharfem Skalpell oder gebrauchten Klingen auf unter 10 mm gekürzt, die Unterseite auf Filterpapier

kurz abgetupft und mit Fünf-Minutenkleber auf Holzklötzchen (11 × 11 × 14 mm) aufgeklebt. Diese Einkomponenten-Schnellkleber sind immer Cyanacrylate, die durch Feuchtigkeit katalysiert aushärten. Sie geben die besten Ergebnisse, wenn sie frisch sind. Wir verwenden Pattex Blitzkleber flüssig. Vor dem Austrocknen schützt man das Material durch Befuchten mit einem Pinsel, der in 70%iges Äthanol getaucht wird. Nach etwa 10 Minuten, wenn der Klebstoff hart ist, kann geschnitten werden. Ein Feuchthalten mit 70%igem Äthanol darf nicht vergessen werden! Schnittdicken von 20–30 Mikrometer sind problemlos zu erzielen. Diese etwas dickeren Schnitte haben den Vorteil, dass Pflanzenhaare sehr schön erhalten bleiben, auch große Kristallaggregate bleiben an ihrem Platz. Färbungen geraten aufgrund der Schnittdicke prächtig intensiv. Die Färbungen lassen sich vorteilhaft im Blockschälchen durchführen, so dass eine größere Menge Schnitte gleichzeitig verarbeitet werden kann. Aus dem Auswaschwasser überträgt man die Schnitte mit einem Pinsel auf – mit je einem Tropfen Wasser vorbereitete – saubere Objektträger. Ein weiterer Vorteil der dickeren Schnitte ist, dass sie ziemlich robust sind, so dass auch ein Anfänger schöne Präparate herstellen kann. Und nun geht es wie üblich weiter: Wasser abgießen, über 96%iges Äthanol (sehr kurz, um Ausziehen der Farbstoffe zu vermeiden) in 100%iges Isopropanol (3× wechseln) überführen und noch Isopropanol-feucht in Euparal einbetten. Es empfiehlt sich, die Deckgläser bis zum Festwerden des Einbettharzes zu beschweren, um schön plane Schnitte zu erhalten (Streble, 2004). Im Trockenschrank bei 50 °C geht das über Nacht, bei Raumtemperatur dauert es mindestens eine Woche.

Was sieht man in dem ausgewählten Beispiel?

Abbildung 1 zeigt einen Querschnitt durch einen Stängel des Natternkopfes (*Echinum vulgare*), der mit Etzolds Farbgemisch behandelt wurde. Unverholzte Zellwände erscheinen blau, verholzte Wände rot und Gerbstoffe bunt. Wir betrachten den Schnitt nun von außen nach innen. Kurze Haare gehen von einzelnen Epidermiszellen aus, lange Haare von vielzelligen Sockeln. Die fahle Färbung der Haarkutikula und der Haarwände wird hervorgerufen durch Kieselsäure, die von der Pflanze als Fraßschutz einlagert wird – der Natternkopf ist ein Raubblattgewächs. In der Epidermis sind Spaltöffnungen zu sehen; Hypodermiszellen sind mit Gerbstoffen beladen.

Schmal bleibt die Zone der Kollenchymzellen; an ihren Kanten sind die Wände stark verdickt. Große Speicher- und Chlorophyllzellen füllen die Rindenschicht zwischen Kollenchymzellen und Siebteil aus. Dickwandige Phloemparenchym- sowie Sieb- und Geleitzellen liegen als durchgehende Zone um den Holzteil. Ein Kambium ist nicht mehr erkennbar, denn das Dickenwachstum des Stängels ist abgeschlossen. Die Stängelkonstruktion, hier ohne jegliche Bastfasern (Sklerenchym-, Stein- oder Nesselfasern), mit durchgehenden, weitgehend markstrahllosen Sieb- und Holzteilen, ist eher selten. Andere Stauden mit ähnlichem Bau sind zum Beispiel Beinwell, Labkraut, Hexenkraut, Wandelblüte, Springkraut und Rainfarn. Dies sind Pflanzen mit nicht sonderlich knickfesten Stängeln.

Der feste Holzteilzylinder mit acht Rippen (siehe Umschlagabbildung) ist aus sehr vielen Holzfasern und fast gleichförmig weiten Gefäßen sowie aus nach innen vorspringenden Erstlingsgefäßen zwischen Holzparenchymzellen aufgebaut. Die Wände der großen Markzellen bleiben unverholzt; die Zellen lagern Gerbstoffe ein und fungieren als Druckwasserkissen.

Beschreibung des Einmalklingenhalters

So einfach, wie dieser kleine Halter aussieht (Abb. 2a–c), ist er dann doch nicht herzustellen, weil die Anforderungen an Präzision relativ hoch sind. Es muss der Winkel von 12° genau eingehalten werden, die gefräste Nut für die Aufnahme der Einmalklinge darf nur 0,30 mm tief sein und der Gegenhalter muss

plan aufliegen, sonst verrutscht die Klinge. Die Aussparung in der Kunststoffgleitfläche ist eine Balance zwischen genügendem Platz zum freien Schneiden und Stabilität zur Führung auf der Glasfläche des Handmikrotoms. Die Verklebung des Kunststoffs mit dem Messingträger ist auch eine Herausforderung, soll die Verbindung doch plan und beständig gegen Wasser und Alkohol sein. Die Klinge muss, wenn sie in der Nut auf Anschlag sitzt, etwas über die Nulllage des Messingunterteils hinausragen, sonst schiebt die untere Lippe des Messingträgers den Schnitt zusammen und man erhält ein zerquetschtes Präparat. Das bedeutet auch, dass diese Klingenhalter optimal für den Typ Leica 818 sind. Bei anderen Klingemaßen muss man dann eben nach Augenmaß diesen Überstand über die Nulllage einstellen. Das geht natürlich auch, kann aber bei den scharfen Klingen schon mal zu Blutstropfen führen. Wir haben diesen Einmalklingenhalter in einer Kleinserie hergestellt. Für 30,00 € kann er inklusive einer 818-Klinge von uns bezogen werden.

Literaturhinweise

- Draws, R.: Mikroskopieren als Hobby. Falken-Verlag, Niedernhausen 1992.
 Gerlach, D.: Botanische Mikrotechnik. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1984.
 Kremer, B.: Das große Kosmos-Buch der Mikroskopie. Franckh-Kosmos-Verlags-GmbH, Stuttgart 2002.
 Romeis, B. (Hrsg. Böck, P.): Mikroskopische Technik, 17. Auflage. Urban und Schwarzenberg, München 1989.
 Streble, H.: Frisch- und Dauerpräparate zum Mikroskopieren; Präparationstechniken. In: Praxis der Naturwissenschaften, Biologie in der Schule 8/53, Aulis Verlag Deubner, Köln 2004.

Bezugsquellen

- BB-Einwegklingen: 50 Stück Typ 818,
 Artikelnummer 14035838383,
 Leica Mikrosysteme, Lilienthalstr. 39–45,
 D - 64625 Bensheim, Fax 062 51/13 61 55.
 SB-Einwegklingen: 50 Stück Typ 818,
 Artikelnummer 035838926,
 Jung Histo-Service, Heidelbergerstr. 17–19,
 D - 69226 Nußloch, Fax 062 24/14 33 29.

Verfasser: Dr. Klaus Herrmann, Silberstr. 12, D-75242 Neuhausen, e-mail: klausbigi.herrmann@t-online.de, und Dr. Heinz Streble, Fraubronnstr. 34, D-70599 Stuttgart