

Projekt Berzelius

Workshop Mikroskopieren

Modul:

Präparieren

Modul Präparieren

Eine wichtige Voraussetzung für das erfolgreiche Mikroskopieren ist das Herstellen guter Präparate. Dafür musst Du wiederum ein paar leichte Handgriffe lernen. Der Inhalt dieses Moduls ist stark angelehnt an das Leitprogramm «Einführung in die Mikroskopie» der ETH Zürich. (<http://www.educ.ethz.ch/unterrichtsmaterialien/biologie/mikroskopie-leitprogramm.html>)

Lernziele

- Du kannst mikroskopische Präparate herstellen
- Du bist in der Lage, ein Präparat sorgfältig auszuwerten
- Du verstehst das Prinzip, wie man mikroskopische Strukturen besser sichtbar machen kann

1 Präparieren

Die Erfahrungen mit der starken Vergrößerung haben Dir gezeigt, dass es nicht mehr so ohne weiteres zu einer guten Abbildung kommt. Sie hat nur eine sehr geringe Schärfentiefe und braucht genügend Licht. Mit anderen Worten: gute Abbildungen sind nur möglich von dünnen und ziemlich durchsichtigen Objekten.

Diese Anforderung wird mit zwei Massnahmen erfüllt. Erstens wählt man nur dünne Objekte, oder man muss sie dünn schneiden. Zweitens werden die Objekte mit einem dünnen Glasplättchen, dem Deckglas, zugedeckt.

Ein Präparat muss also sehr dünn und flach sein!

Für Dein erstes richtiges Mikropräparat musst Du Dich mit folgenden Sachen ausrüsten:

- Objektträger, Deckgläser
- Becher mit Wasser, Pipette oder Glasstab
- eine Schuppe (Speicherblatt) einer Küchenzwiebel
- Rasierklinge oder Skalpell, Pinzette

Die innere Haut einer Zwiebelschuppe ist ideal zum Mikroskopieren. Sie ist sehr dünn, sehr schön durchsichtig und leicht zu präparieren.

Die folgende Abbildung zeigt und beschreibt, wie Du Präparate von Zwiebelhäutchen herstellen kannst. Grundsätzlich solltest Du mehrere Häutchen präparieren, damit Du unter mehreren das beste auswählen kannst. Bringe also eines davon in einen Tropfen Wasser auf einen Objektträger. Stelle insgesamt 2-3 Präparate her.

Hinweis: Es gibt einen zwingenden Grund, weshalb man Präparate in einen Tropfen Wasser gibt:

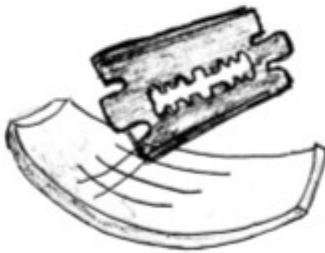
→ Die meisten Objekte würden sonst austrocknen.

1.1 Herstellen eines Präparats vom Zwiebelhäutchen:



1. Zuerst wird die Zwiebel halbiert, dann geviertelt.

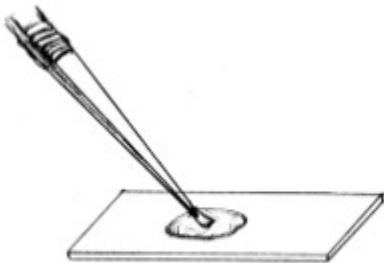
2. Die Zwiebel ist aus mehreren ineinanderliegenden Schuppen aufgebaut. Auf der Innenseite jeder Schuppe liegt ein dünnes, durchsichtiges Häutchen



3. Schneide mit dem Skalpell oder einer Rasierklinge ein Gitter (Quadrate von etwa 0,5 x 0,5 cm) in die Innenseite einer Zwiebelschuppe.



4. Ziehe mit der Pinzette ein kleines Hautstückchen ab.



5. Ein Tropfen Wasser wird auf den Objektträger gegeben und das Häutchen faltenfrei hineingelegt.



6. Das Auflegen des Deckglases geschieht so, dass das Deckglas zunächst schräg an den Wassertropfen angesetzt wird. Dann wird es langsam abgesenkt, so dass möglichst keine Luftblasen unter das Deckglas gelangen. Im Mikroskop erkennst du Luftblasen an ihrem deutlichen schwarzen Rand.

Abbildung von: Landesbildungsserver Baden-Württemberg

Hinweis: Durch vorsichtiges Klopfen mit der Pinzette oder mit einem Bleistift können Luftblasen entfernt werden.

1.2 Anschauen und protokollieren

Das Mikroskopieren ist eine anspruchsvolle Arbeit, die Aufmerksamkeit und Sorgfalt erfordert. Zum Mikroskopieren gehört die aktive Auseinandersetzung mit dem Präparat. Das heisst: es liegt an Dir, den präparierten Gegenstand gut durchzumustern und genau anzuschauen. Wie Du dabei vorgehen musst, hast Du eventuell bereits am Beispiel des Testbuchstabens im Modul «Lichtmikroskop» erfahren. Du kannst Deine Fertigkeiten anhand Deiner eigenen Zwiebelhäutchen-Präparate verbessern.

Bevor Du weiterfährst, richtest Du Deinen Arbeitsplatz zum Mikroskopieren ein (sofern dies nicht ohnehin geschehen ist). Wenn Du vergessen hast, was damit gemeint ist, so schaue in Kapitel «Lichtmikroskop» nach.

Bei den folgenden Arbeiten lohnt es sich, gelegentlich mit einer Partnerin / einem Partner, die etwa gleich weit sind, zusammenzuarbeiten. Vier Augen sehen mehr als zwei!

Bring eines Deiner Präparate unter das Mikroskop. Beginne immer mit der schwächsten Vergrößerung. Diese zeigt Dir ein Gewebe von Zellen. Dieses Gewebe ist nur eine Zellschicht dick.

Suche Stellen, welche dieses Bild schön zeigen. Mustere alle Deine Präparate durch und entscheide Dich für das geeignetste.

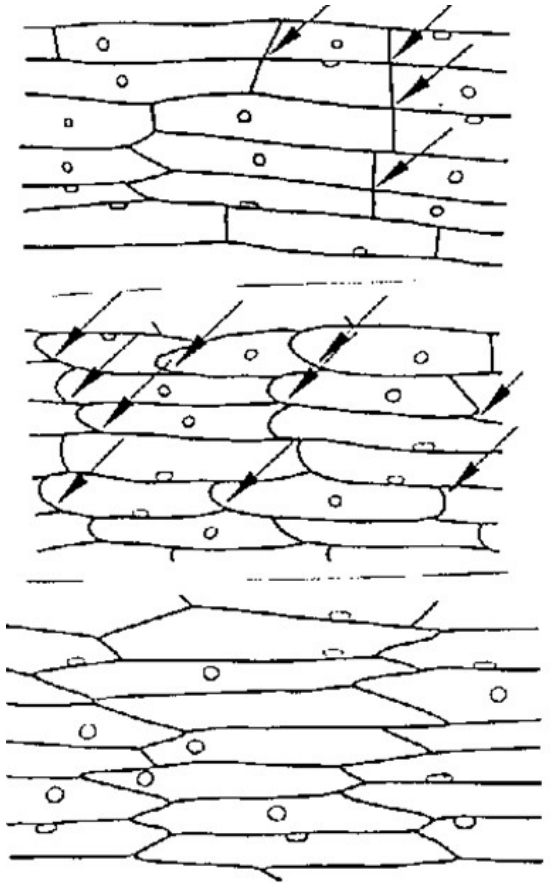
Anschauen heisst beim Mikroskopieren genau beobachten. Deshalb ist es sinnvoll, von solchen Beobachtungen ein Protokoll zu machen. Ein solches Protokoll umfasst:

- Hinweise zum Gegenstand (Titel)
- eine Skizze (Bleistift, in gewissen Fällen zusätzlich mit Farbstift koloriert)
- Angaben zur Einstellung des Mikroskops (Vergrößerung)
- ungefährer Massstab (z.B. ein Massstrich von 100µm, Du kennst ja den Gesichtsfeld-Durchmesser)

Betrachte Dein gutes Präparat nun mit mittlerer Vergrößerung und stelle eine Übersichtsskizze her. Eine Übersichtsskizze zeigt die wesentlichen Strukturen eines Präparates ohne Details.

Zwiebelhäutchen (Übersichtsskizze, Objektiv 10x)

(Massstab)



Vergleiche jetzt Deine Skizze mit den nebenstehenden drei Abbildungen. Die beiden ersten zeigen typische Fehler, die einem Anfänger unterlaufen. Die dritte Skizze gibt das Gesehene korrekt wieder.

Verändere an Deiner selber erstellten Skizze nichts, sondern kommentiere sie kritisch im Vergleich zur dritten nebenstehenden Skizze:

Der nächste Schritt führt Dich in die Feinstrukturen der Zwiebelhäutchen-Zelle. Zentriere einen guten Ausschnitt, stelle scharf und drehe den Revolver auf die starke Vergrößerung. Denke daran: jetzt darfst Du nur noch den Feintrieb benutzen! Nütze ihn aber intensiv, um das Objekt optisch in der Tiefe ganz auszuloten.

Denke auch daran, die Kondensorblende zu betätigen

Bevor Du eine weitere Skizze erstellst, beobachtest Du einige Zellen ganz genau. Achte vor allem auf die Zellwände. Plötzlich wirst Du entlang den Zellwänden das Plasma fließen sehen: **die Zelle lebt!**

Erstelle jetzt eine Detailskizze, das heisst also eine möglichst genaue Skizze einer einzelnen Zelle. Darin hältst Du alle feinen Strukturen fest, die Du beobachten kannst.

Die Plasmaströmung kannst Du mit Pfeilen darstellen.

Zwiebelhäutchen-Zelle (Detailskizze, Objektiv 40x)

(Massstab)

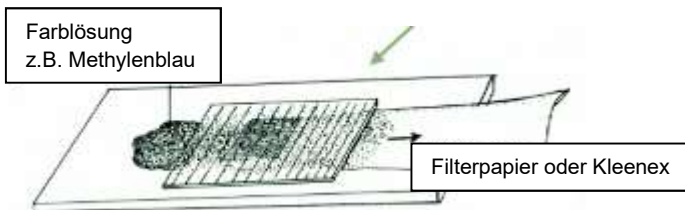
skizziere grosszügig!

Im nächsten Schritt geht es darum, die Zellstrukturen, welche Du beobachtet hast, zu identifizieren. Benütze dazu ein Biologie-Lehrbuch. Schlage dort nach, wo der mikroskopische Aufbau einer Pflanzenzelle beschrieben wird. Die vier folgenden Zellbestandteile solltest Du identifizieren können: Zellwand, Zellplasma, Vakuole, Zellkern. Beschrifte Deine Detailskizze mit den entsprechenden Begriffen!

1.3 Zusätzliche Kniffe

Möglicherweise hat Dich gestört, dass die Zwiebelhäutchen so blass sind und dass Du den Kontrast mit einer recht starken Verengung der Blende erzeugen musstest. Eine andere Methode, Kontrast zu verbessern, besteht im Färben der Präparate. Einer der bekanntesten Farbstoffe ist Methyleneblau. Normalerweise werden davon stark verdünnte Lösungen verwendet. Wenn Du jetzt diesen Farbstoff verwendest, so denke daran, dass er auch Kleider und Hefte oder die Kunststoffplatte des Tisches stark färben würde!

Ziehe unter eines Deiner Zwiebelhäutchen-Präparate einen Tropfen Methyleneblau-Lösung durch wie in der folgenden Abbildung dargestellt:



Vergleiche die beiden Präparate miteinander und notiere, worin Du die Vor- und Nachteile der Färbung siehst.

Sicher hast Du bemerkt, dass der Gewinn an Kontrast mit dem Tod der Zelle erkaufte worden ist. Methyleneblau ist wie die meisten andern Farbstoffe für lebende Zellen giftig.

Wir wenden uns bei dieser Gelegenheit auch noch einem neuen Gegenstand zu. Du hast eine pflanzliche Zelle kennengelernt. Vermutlich interessiert Dich nun auch eine tierische Zelle. Aber wie kommst Du daran? Keine Angst, das geht überhaupt nicht blutig zu!

Kratze mit einem Holzspachtel, einem Löffelstiel oder einem Pinzettenschaft etwas Mundschleimhaut von der Innenseite Deiner Wange ab. Schabe die Zellen mit der Präpariernadel vom Holz in die vorbereiteten Tropfen: eines in einem Tropfen gewöhnlichen Wassers und eines in einem Tropfen verdünnten Methyleneblaus. Es braucht nur wenig Material!

Skizziere:

ungefärbt:

gefärbt:

Notiere die auffälligsten Unterschiede der Mundschleimhaut-Zelle zur Zwiebel-Epidermiszelle:

Besonders zunutze macht sich der Mikroskopiker, dass bestimmte Chemikalien ganz bestimmte Zellstrukturen einfärben. Es gelingt also, mit bestimmten Farbstoffen bestimmte Zellbestandteile nachzuweisen. Stärke z.B. ist ein weit verbreiteter Inhaltsstoff von Pflanzenzellen. Stärke lässt sich mit Jod-Kaliumjodid-Lösung (3%) nachweisen: die Stärkekörner verfärben sich violett bis schwarz. Du kannst diesen Sachverhalt wiederum an einem neuen Objekt erforschen, nämlich an Blättchen von Wasserpest (*Elodea canadensis* oder *Egeria densa*).

Suche eine Sprossspitze der Wasserpest und klemme mit der Pinzette ein junges Blättchen ab. Lege es in einen Tropfen Wasser und gib ein Deckglas darauf.

Besonders geeignet sind Zellen der Mittelrippe an der Basis des Blättchens. Hier lässt sich wiederum die Plasmaströmung prima beobachten!

Notiere speziell, durch welche Strukturen das Blatt grün erscheint:

Ziehe nun genügend Jod-Kaliumjodid-Lösung unter das Präparat, sodass das Blättchen ganz umflossen wird.

Nach kurzer Einwirkungszeit kannst Du das Präparat beobachten. Vergleiche mit dem Präparat in Wasser und notiere Deine Beobachtungen:

Bestimmt hast Du festgestellt, dass nur die Chloroplasten in den Zellen grün sind. In ihnen findet die Photosynthese statt. Dabei entsteht Traubenzucker, den die Pflanze in Stärke verwandelt. Dementsprechend kannst Du meistens schwärzliche Körnchen in den Chloroplasten erwarten.

2 Kontrollfragen und –aufgaben zum Modul Präparieren

1

Welche Mindestanforderungen werden an ein Mikropräparat gestellt? Gib zwei Kriterien an.

2

Warum werden praktisch alle Präparate in Wasser oder wässriger Lösung hergestellt? Nenne die zwei Hauptgründe.

3

Das Mikroskop zeigt ein Bild mit geringer Schärfentiefe. Durch Verstellen des Feintriebs kann man jedoch einen 3-dimensionalen Eindruck des Objektes erhalten.

Versuche aufgrund Deiner Beobachtungen, eine 3-dimensionale Umriss-Skizze einer Zwiebelhäutchen-Zelle zu erstellen. Wenn Dir dies zu schwierig erscheint, so gib an, wie Du ein einfaches Modell einer Zwiebelhäutchen-Zelle basteln würdest.

4

Du verklopfst vorsichtig ein stecknadelkopfgrosses Stück Banane mit einem Glasstab in einem Tropfen Wasser. Untersuche das Präparat bei mittlerer Vergrößerung.

Was kannst Du erkennen? Erstelle eine kleine Übersichtsskizze!

Versetze jetzt das Präparat mit Jodkalium-Jodid. Was beobachtest Du? Wie interpretierst Du Deine Beobachtung?

5

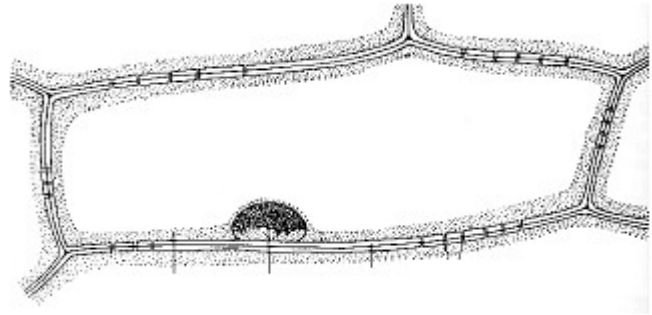
In einem Präparat eines Zwiebelhäutchens in Wasser findest Du oft mehrere kreisrunde, dick schwarz umrandete Objekte verschiedener Grössen, die scheinbar keinen Zusammenhang mit dem Zwiebelhäutchen aufweisen. Beschreibe in einem Satz, worum es sich handelt.

6

Du hast Zellen der Zwiebel, der Wasserpest und des Menschen kennengelernt. Anhand dieser beiden Objekte kannst Du die wichtigsten Unterschiede zwischen pflanzlichen und tierischen Zellen feststellen, die im Lichtmikroskop erkennbar sind. Um welche Unterschiede handelt es sich? Wenn Du drei findest, bist Du gut.

7

Die nebenstehende Skizze zeigt eine Zelle im Mikroskop. Beschrifte die vier wichtigsten erkennbaren Strukturen und nenne deren wichtigste Funktion.



8

Annahme: Du hast eine Detailskizze einer Bananenzelle hergestellt. Schreibe alle Angaben auf, die Du dieser Skizze anfügen musst. Gehe dabei von Deinem Mikroskop aus.