Diatomeen Legen für blutige Anfänger - Arbeitsergebnisse

Vorstellung einer einfachen Methode zur Herstellung von Legepräparaten

Gestaltung des Nachmittags: Bob Lammert
Termin: 18.2.2017, 15:00 – 18:00

Zu dem Termin hatten sich 14 gut gelaunte Mitglieder eingefunden, darunter auch eines unserer neuen Mitglieder. Das Thema hatte sogar unseren Kollegen aus dem fernen Büsum den weiten Weg zum Treffen gelockt. Nach einem Vortrag und Film zum Thema konnten sich einige Teilnehmer der Praxis zuwenden. Sie fanden schnell Zugang zu der Methode, auch wenn erwartungsgemäß bei diesem ersten Versuch keine gelungenen Präparate entstanden.

Diatomeen-Legen gehört zur Königsklasse der Mikroskopie-Techniken und man sollte als Amateur seine Zufriedenheit nicht davon Abhängig machen, sich erfolgreich mit Profis lang vergangener Zeiten zu messen.

Diatomeen-Legen ist mit dieser Methode aber für den Hobby-Mikroskopiker zu meistern und stellt eine große Bereicherung für die Beschäftigung mit Diatomeen dar. Man kann gezielt Diatomeen zur Betrachtung auswählen, kann Innen- und Außenseite der Schalen und auch die Gürtelbandseite der Schale gezielt präparieren. Darüber hinaus liegen die Diatomeen absolut plan und direkt am Deckglas, so dass eine optimale Betrachtung möglich wird.

Vor Beginn des Treffens wurden vier Mikroskope mit Legeborstenhaltern ausgerüstet, denn bei der vorgestellten Legemethode werden die mechanischen Triebe des Mikroskops zur Manipulation der Diatomeen benutzt.

Der Legeborstenhalter besteht aus einem Ring, der am Objektiv befestigt wird, und einer Befestigungsmöglichkeit für die Borste selbst. In diesem Fall kamen Halter aus Aluminium, mit Kunststoffschrauben am Objektiv befestigt, zum Einsatz. In diese waren 1mm-Bohrungen schräg gesetzt, so dass ein Stück Kanüle eingeklebt werden konnte. In die Kanüle wird die Borste eingeklebt, hier kamen Seehundshaare zum Einsatz. Alternativ sind auch Igelborsten, Schweineborsten, Schweinewimpern und manches andere tierische Haar geeignet.

Foto 1: Legeborstenhalter

Foto 2: Legeborstenhalter am Mikroskop montiert

Das Legen wird möglich durch Defokussieren des Binokulartubus. Durch Anheben eines der Okulare sieht man durch dieses Okular die Spitze der Legeborste, durch das andere Okular die etwas tieferliegende Präparateebene. Durch Einsatz beider Augen kann man so die Spitze der Borste im Präparat präzise platzieren. Die Borste wird auch zum nachträglichen Zurechtschieben der Diatomeen benutzt.

Foto 3: Okular durch Papierring defokussiert

Die Diatomeen werden von einem Deckglas aufgenommen, worauf sie wie bei einem Streupräparat verteilt werden: Durch Auftropfen einer sehr geringen, niedrig konzentrierten Menge in Ethanol. Das Draufschaufeln einer großen Menge trockener Diatomeen funktioniert nicht.

Das Deckglas, worauf man die Diatomeen aufbringt, sollte sauber, und der Ethanol halbwegs rein sein, sonst haften die Diatomeen evtl. zu fest an dem Deckglas. Man kann den Ethanol nach dem Auftropfen auch anzünden, statt ihn verdunsten zu lassen.

Gelegt wird auf einem kleinen runden Deckglas, das mit einem Klebegrund aus einer sehr geringen Menge stark verdünntem Schellack beschichtet wird (1/10 Tropfen). Der Schellack sollte möglichst glattflächig trocknen. Man kann ggfs. nachhelfen, indem man ihn nach dem Trocknen nochmal auf ca. 90° erwärmt. Auf diese dünne Schellack-Schicht bringt man nach dem Trocknen einen Haftgrund in Form von sehr wenig Haar- oder Hautfett auf. Damit wird auch die Legeborste haftfähig gemacht.

Auf die Rückseite malt man mit einem Edding einen kleinen Kreis, der die Zielfläche markiert und so das Auffinden sehr erleichtert. Ein kleiner Strich ermöglicht die spätere rechtwinklige Ausrichtung des runden Deckglases mit den gelegten Diatomeen auf dem Objektträger.

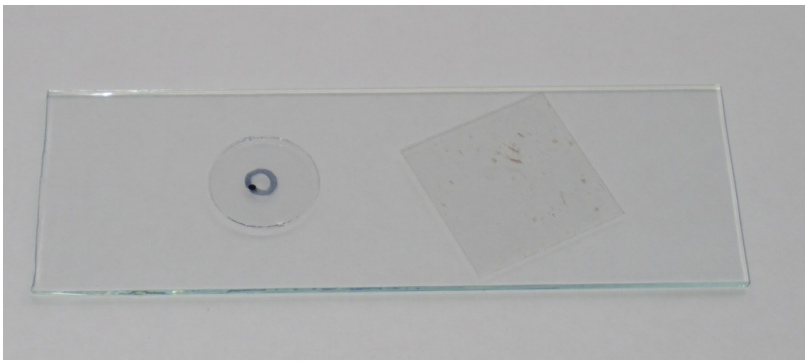

Foto 4: Objektträger mit Ziel-Deckglas links und Material-Deckglas rechts

Im praktischen Betrieb nimmt man die Diatomeen auf dem Material-Deckglas mit der Borste auf, fährt mit dem Objektführer zum Ziel-Deckglas in den markierten Bereich und setzt die Diatomee auf dem Haftgrund ab. Danach ist ein Zurechtschubsen mit der Borste möglich.

Man merkt dabei schnell, dass es praktisch wäre, das Ziel-Deckglas drehen zu können. Das wird mit so einem Legetisch möglich:

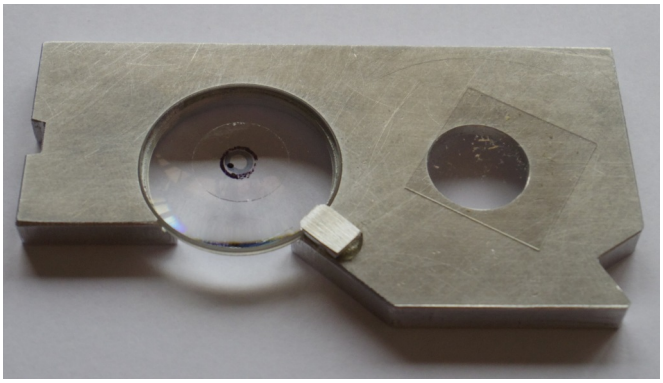

Foto 5: Legetisch mit drehbarer plankonvexer Linse

Sind alle Diatomeen platziert, werden sie durch Erwärmen des Schellacks auf 90 °C fixiert. Anschließend werden sie im Eindeckmittel eingeschlossen.

Zum Einsatz kamen hier Aroclor als Eindeckmittel, Schellack als Klebegrund und Hautfett als Haftgrund. Diese drei Substanzen müssen aufeinander abgestimmt sein, besonders hinsichtlich der gegenseitigen Löslichkeit.

Foto 6: Aroclor in Aceton + Schellack, 1:20 mit Ethanol verdünnt aus in Ethanol gesättigtem Schellack

Das Eindeckmittel muss so eingestellt sein, dass es gut in die Poren in den Schalen eindringt, andererseits nicht mehr schwindet als nötig.

Die hochbrechenden Eindeckmittel verlaufen nicht besonders gut, daraus ergibt sich die Empfehlung, kleine runde Deckgläser zu verwenden. Die Deckgläser sollten möglichst genau die 0,17mm einhalten, um beste Auflösung beim Betrachten zu ermöglichen.

Einen sehr sehenswerten Film zu dieser Methode gibt es hier zu sehen:

https://www.canal-u.tv/video/science_en_cours/diatomees_et_papillions_microscopie_artistique_au_19e_siecle_1999.163

Hier wird allerdings eine andere Kombination aus Haftgrund, Klebegrund und Eindeckmittel verwendet, und das Material wird anders (nicht empfehlenswert) auf dem Material-Deckglas aufgebracht.

Die Präparate sollten über Kopf gelagert werden, da die Eindeckmittel oftmals lange flüssig bleiben, und Diatomeen, die sich aus dem Klebegrund lösen, absacken könnten.

Waschzettel zur Durchführung:

1. Deckglas (DG) reinigen

2. Stark verdünnten Schellack in geringer Menge (1/10 Tropfen) auf DG aufbringen (=Klebegrund) und trocknen lassen

3. Wenn Schellack- Oberfläche rau ist, leicht erwärmen

4. Haut oder Haarfett aufbringen (für leichtes Anhaften auf dem Deckglas)

5. Zielposition und Ausrichtung auf Rückseite des DG mit Edding markieren

6. Diatomeen mit Legeborste aufnehmen und auf Haftgrund auf DG absetzen

7. Diatomeen ggfs. zurechtschieben

8. DG auf ca. 90° erwärmen, Diatomeen kleben am Schellack fest

9. Aroclor aufbringen, (gesundheitsschädlich, Handschuhe!)

10. Deckglas auf Objektträger setzen und leicht andrücken

Fertig