

Spaltöffnungen vom Laubblatt

Es soll ein Präparat von der Unterseite eines Laubblattes erstellt werden, um die in der Haut des Blattes (Epidermis) liegenden Spaltöffnungen (Stomata) zu betrachten.

Bei den meisten Pflanzen befinden sich die Spaltöffnungen an der Unterseite des Laubblattes (hypostomatisch), es ist aber auch möglich, dass sie sich nur auf der Blattoberseite (epistomatisch – bei Schwimmblätter z.B. Seerose -) oder sogar auf beiden Blattseiten (amphistomatisch) befinden. Ein Blatt kann ca. 1.000.000 Spaltöffnungen pro dm^2 haben. Die Stomata besteht aus zwei Schließzellen, die enger oder weiter werden können. Dadurch kann das Blatt das Ein- und Ausströmen von Gasen, aus denen die Umgebungsluft besteht, regulieren und auch kritische Wasserverluste vermeiden. Bei Bedarf an Kohlenstoffdioxid, oder bei hoher Luftfeuchtigkeit, öffnet sich der Spalt. Bei hohen Temperaturen und geringer Luftfeuchtigkeit schließt sich der Spalt.

Durch die Herstellung eines Lackabdruckes einer Oberfläche erhält man einen durchsichtigen Negativabdruck, den man am Mikroskop im Durchlicht betrachtet. Bei Pflanzen kann ein Abdruck von z.B. Laubblatt oder Blütenblatt erstellt werden. Diese Lackabdrücke haben einen geringen Kontrast. Während sich für den Einsteiger das Verfahren der „Schiefen Beleuchtung“ anbietet, sind für den Fortgeschrittenen das „Polarisierte Licht“ oder die „Rheinberg Beleuchtung“ von Vorteil. Der gut ausgerüstete Fortgeschrittene verwendet dagegen das „Phasenkontrast“-Verfahren.. Informationen über die unterschiedlichen Verfahren kann man unter www.mikroskopie.de/pfad/ dem „Pfad der Lichtmikroskopie“ von Christian Linkenheld nachlesen.

Methode 1: Ein Lackabdruck kann z.B. mit farblosen Nagellack oder UHU-hart erstellt werden. In der Literatur werden aber auch noch andere Verfahren angegeben, wie z.B. mit Zaponlack oder Gelatine.

Als erstes muss die infrage kommende Fläche des Blattes von z.B. Staub- und Schmutzpartikel befreit werden. Beim Laubblatt hat sich Tesafilm bewährt. Auf die entsprechende Blattfläche wird der Tesafilm mehrmals aufgedrückt und wieder abgezogen. Es wird jedes mal ein frischer Streifen Tesafilm verwendet. Bei einem Laubblatt erkennt man die Unter- und Oberseite durch unterschiedliche Grüntöne. Die Oberseite ist dabei dunkler als die Unterseite.

„Farbloser Nagellack“ Der handelsübliche farblose Nagellack wird dünn auf die Blattfläche aufgetragen. Nach einer Trockenzeit von ca. 5 – 10 Minuten wird über diesen „Abdruckfilm“ ein Streifen klaren durchsichtigen Tesafilm aufgedrückt. Beim Abziehen des Tesafilmstreifens wird der „Abdruckfilm“ mit aufgenommen und anschließend auf einen Objektträger geklebt. Eine Betrachtung erfolgt im Durchlichtverfahren mit dem Mikroskop.

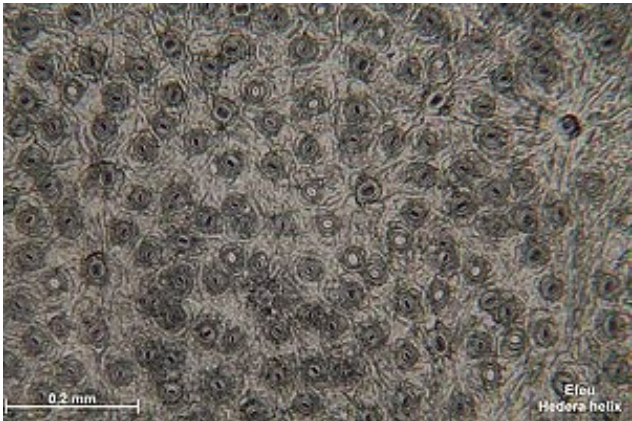
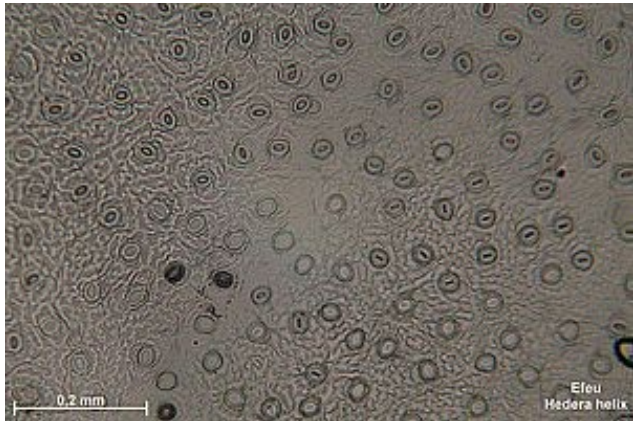
Spaltöffnungen vom Laubblatt

„UHU-hart“ Ein kleiner Tropfen UHU-hart wird mit einem Deckglas oder Objektträger dünn auf die gereinigte Fläche des Laubblattes aufgestrichen. Nach dem Trocknen des Klebers, in der Regel dauert das Trocknen ca. 15 - 20 Minuten, wird der „Abdruckfilm“ mit einer spitzen Pinzette abgezogen und auf einen Objektträger abgelegt. Man gibt einen Tropfen Wasser auf den „Abdruckfilm“, legt ein Deckglas auf und mikroskopiert.

Für die **Durchführung der Präparaterstellung** wähle ich bei der „Methode 1“ die Erstellung eines Lackabdrucks mit „farblosen Nagellack“ und mit „UHU-hart“.

Als Präparat nehme ich die Unterseite eines Efeublattes (Hedera helix):

Beim anschließenden Mikroskopieren wird mit fast herunter gefahrenem Kondensor und geöffneter Aperturblende beobachtet, um eine Kontraststeigerung zu erreichen.

Efeu (Hedera helix)	
Objektiv Zeiss Planachromat 10/0,22 160/0,17 (entspricht 100fache Vergrößerung)	
Farbloser Nagellack	UHU-hart
	
143 Spaltöffnungen in der Fläche	101 Spaltöffnungen in der Fläche

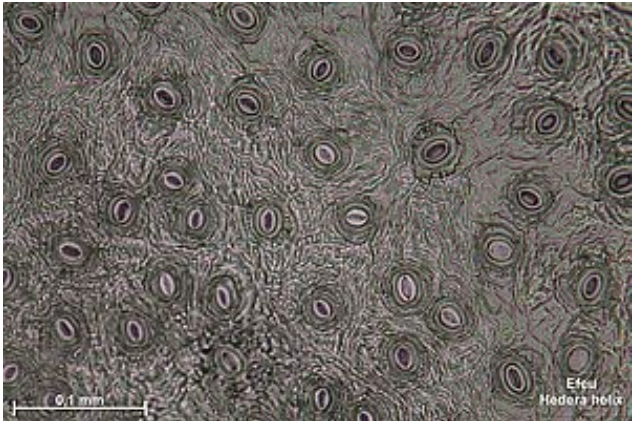
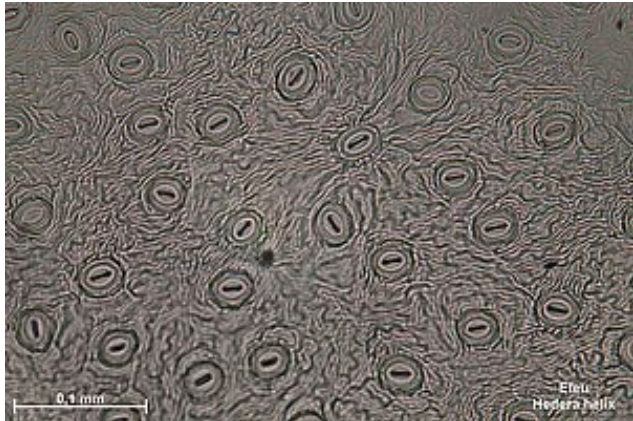
Der Flächeninhalt jedes Fotos beträgt 0,9536 mm (X-Achse) mal 0,6321 mm (Y-Achse) also 0,6028 mm²

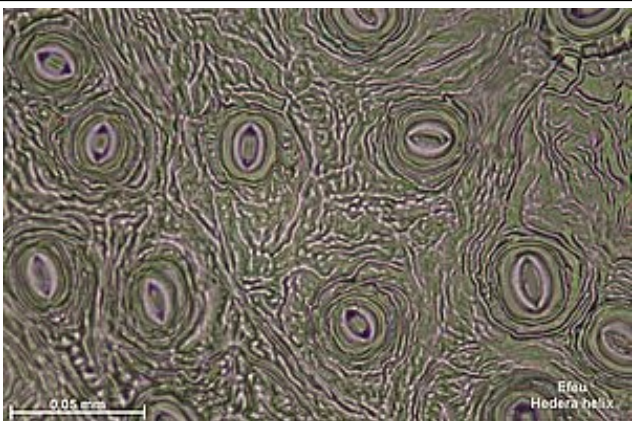
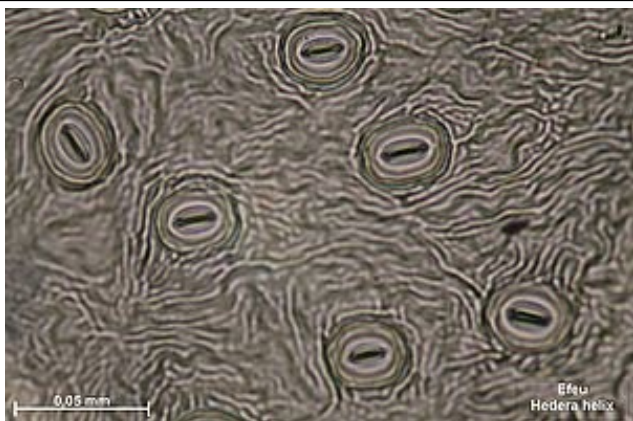
Bei zwei Auszählungen erhält man als Durchschnitt 122 Spaltöffnungen pro 0,6028 mm². Dies sind **ca. 2.000.000 Spaltöffnungen pro dm²** (ca. eine Handfläche)

Spaltöffnungen vom Laubblatt

Bei weiteren Vergrößerungen lassen sich die Spaltöffnungen und die Struktur des Zellmusters der Nebenzellen gut erkennen.

Efeu ist eine (dikotyledone) zweikeimblättrige Pflanze.

Efeu (Hedera helix)	
Objektiv Euromex Achromat 20/0,45 160/0,17 (entspricht 200fache Vergrößerung)	
Farbloser Nagellack	UHU-hart
	
Sichtbare Fläche pro Bild 0,1507 mm ²	

Efeu (Hedera helix)	
Objektiv Müller Planachromat 40/0,65 160/0,17 (entspricht 400fache Vergrößerung)	
Farbloser Nagellack	UHU-hart
	
Sichtbare Fläche pro Bild 0,0377 mm ²	

Spaltöffnungen vom Laubblatt

Es wurde hier ein Abdruckpräparat der **Liguster** (*Ligustrum vulgare*) hergestellt.

Objektiv Euromex Achromat

20/0,45 160/0,17

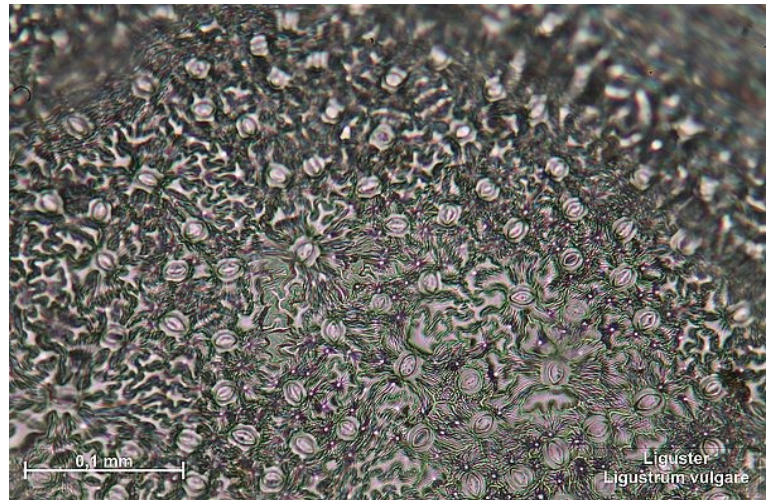
(entspricht **200**facher Vergrößerung)

Sichtbare Fläche des Bildes ist

0,1507 mm²

Auf ihr befinden sich
ca. 60 Spaltöffnungen.

Als grobe Schätzung ergibt das ca.
4.000.000 Spaltöffnungen pro dm².

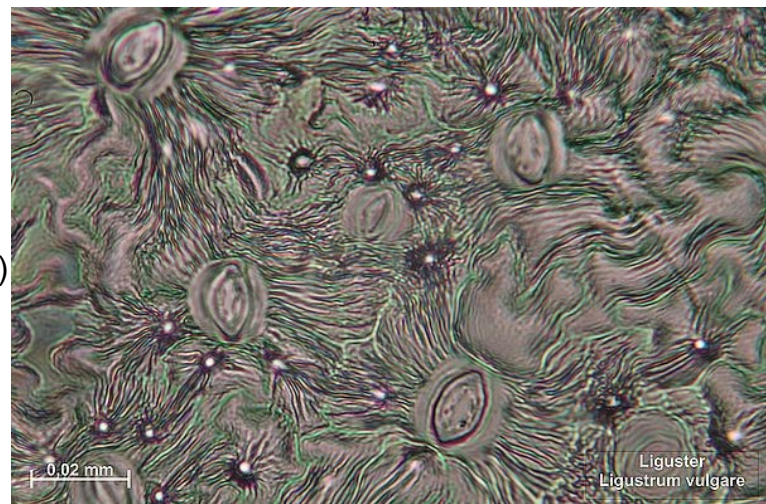


Die Schätzung beim Efeu ergab nur ca. 2.000.000 Spaltöffnungen pro dm². Das bedeutet, dass die **Spaltöffnungen unterschiedliche Größe und Abstände** untereinander haben.

Es wurden zwei Fotos (Efeu und Liguster) mit dem
Objektiv Müller Planachromat
60/0,75 160/0,17 erstellt und die
Größe der Spaltöffnungen bestimmt.
(entspricht **600**facher Vergrößerung)

(siehe rechtes Foto)

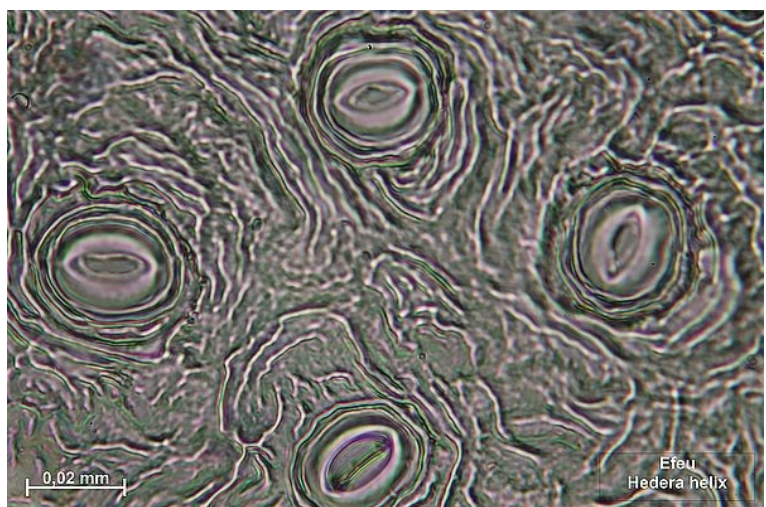
Für den Liguster ergibt sich eine
Größe von ca. 16 µm x 8 µm für
eine Spaltöffnung.



Die beiden rechten Fotos haben
die Maße ca. 0,1538 mm (X-Achse)
und ca. 0,1 mm (Y-Achse).
Die Fläche ist ca. 0,01538 mm²

(siehe rechtes Foto)

Für den Efeu ergibt sich eine
Größe von ca. 23 µm x 14 µm



Spaltöffnungen vom Laubblatt

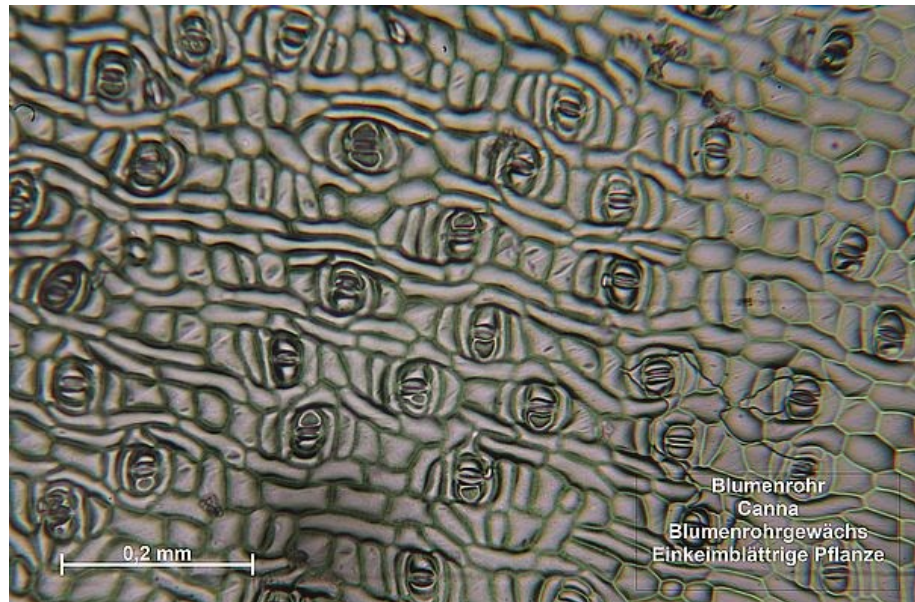
Die (**monocotyledonen**) **einkeimblättrigen Pflanzen** haben ein Zellmuster der Nebenzellen, wie es z.B. bei Gräsern, Liliengewächsen oder auch dem Maiglöckchen vorkommt. Das Niederblatt umfasst dabei den Spross der Pflanze.

Objektiv 10/0,22
(entspricht **100**facher
Vergrößerung)

Blumenrohr
(Canna)
Blumenrohrgewächs
Einkeimblättrig

man sieht eine geordnete
Struktur des Zellmusters
der Nebenzellen

die Spaltöffnungen und
Nebenzellen sind groß



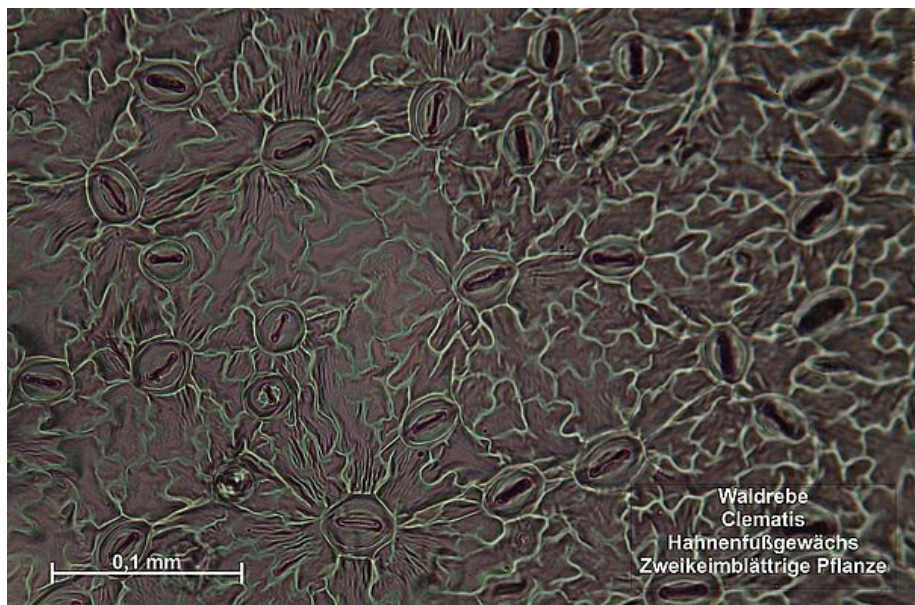
Die Zellmuster von (**dikotyledonen**) **zweikeimblättrigen Pflanzen** haben eine andere Anordnung der Nebenzellen wie es z.B. bei Laubbäumen oder Sonnenblumen oder Klee vorkommt. Das Niederblatt sitzt dabei auf einem Blattstiel.

Objektiv 20/0,45
(entspricht **200**facher
Vergrößerung)

Waldrebe
(Clematis)
Hahnenfußgewächs
Zweikeimblättrig

man sieht eine
ungeordnete Struktur
des Zellmusters der
Nebenzellen

die Spaltöffnungen und
Nebenzellen sind klein



Spaltöffnungen vom Laubblatt

Methode 2: Man kann aber auch die Haut des Laubblattes (Epidermis) abziehen und mikroskopieren. Dazu wird mit dem Skalpell ein nicht zu tiefliegendes Viereck, in der Größe von 1 x 1 cm, in die Oberfläche der Unterseite des Laubblattes geschnitten. Mit einer spitzen Pinzette zieht man dann die nicht mehr Grün erscheinende sondern durchsichtige Epidermis (das oberste Häutchen) ab und legt es auf einen Objektträger. Es wird ein Tropfen Wasser auf das Präparat gegeben, ein Deckglas aufgelegt und so mikroskopiert.

Bei der „Methode 2“ kann man die Funktion der Spaltöffnung zeigen.

Ausgewählt wird eine Pflanze welche ein fleischiges Blatt besitzt. Bei einem solchen Blatt kann man die Epidermis gut auslösen. Gegebenen falls kann man vorher das Blatt für ca. 30 Minuten in Wasser einweichen.

Wenn das Präparat in Wasser (Aqua purificata) liegt, sieht man eine geöffnete Stomata.

Um eine geschlossene Stomata zu sehen tauscht man das Wasser gegen eine Zuckerlösung aus.

Das macht man folgendermaßen:

Die Zuckerlösung wird mit einem gut gehäuften Teelöffel Zucker und ca. 10 ml Wasser hergestellt. Wobei sich der Zucker vollständig aufgelöst haben muss. Einen Tropfen davon gibt man mit einer Pipette neben das Deckglas auf den Objektträger und hält von der anderen Seite des Deckglases ein Löschpapier dagegen. Das Löschpapier zieht das Wasser unter dem Präparat ab und gleichzeitig die Zuckerlösung unter das Deckglas mit dem Präparat. Als Löschpapier kann ein zurecht geschnittenes Stück Kaffee- oder Teefilter dienen.

Vertiefende Literatur		
Pflanzenanatomisches Praktikum I	Mikroskopisch- botanisches Praktikum	Kleines Repetitorium der Botanik
Spektrum Verlag	Thieme Verlag	Verlag Dr. F. Büchner
ISBN 978-3-8274-2289-7	ISBN 978-3-13-149962-2	ISBN 978-3-582-04159-3