

Enkel mikro- skopi

Heldigvis finnes det mye interessant å se i mikroskopet, som ikke krever uoverkommelige forberedelser.

ARNE ANDERSEN, LIMNOAN@ONLINE.NO

Når en leser håndbøker i mikroskopi, står det side opp og side ned om preparering og farging. Metoder som krever lang tid, og tilgang på eksotiske og farlige kjemikalier. Bare noe så enkelt som absolutt alkohol til dehydrering av materiale er utenfor rekkevidde for oss som ikke har en tung institusjon i ryggen.

Heldigvis, det finnes mye interessant å se i mikroskopet, som ikke krever uoverkommelige forberedelser. Mye kan studeres direkte, noe krever behandling med et egnet innleiringsmiddel eller farging. De emnene som omtales her, krever høyst at preparatet får trekke over natta for å klarne.

Et enkelt innleiringsmiddel

For å lage preparater som kan oppbevares, og i noen tilfeller for å se detaljer i preparatet, trenger en et innleiringsmiddel. Det vil si et stoff som gjør preparatet gjennomsiktig, og størkner, slik at preparatet kan oppbevares.

Tradisjonelt har det vært brukt løsemiddelbaserede stoffer som canadabalsam og euparal, som krever absolutt vannfrie preparat.

Før fenol havnet på svarteliste, kunne en få kjøpt det vannbaserte middelet polyvinyllactophenol. Ryktene sier at det skal være likeverdige erstatningsmidler i salg, men dem har jeg ikke hatt tilgang til. Derfor har jeg kokt min egen mikstur:



Figur 1 Kiselalger. Artene er ikke bestemt, men de sammenhengende kan være en art av *Tabellaria* sp.

Polyvinyllactoglyserol

Her følger en oppskrift på innleiringsmiddel, som jeg så langt har god erfaring med. Oppskriften er tilpasset bruk av digital kjøkkenvekt, og gir rikelig med mikstur:

Ca. 7 g PVA (molekylvekt 125 000)

løses i

50 ml destillert vann.

varm vannet i vannbad, og tilsett pulveret langsomt under sterk omrøring. PVA kan lett samle seg til en klump, om en ikke er forsiktig.

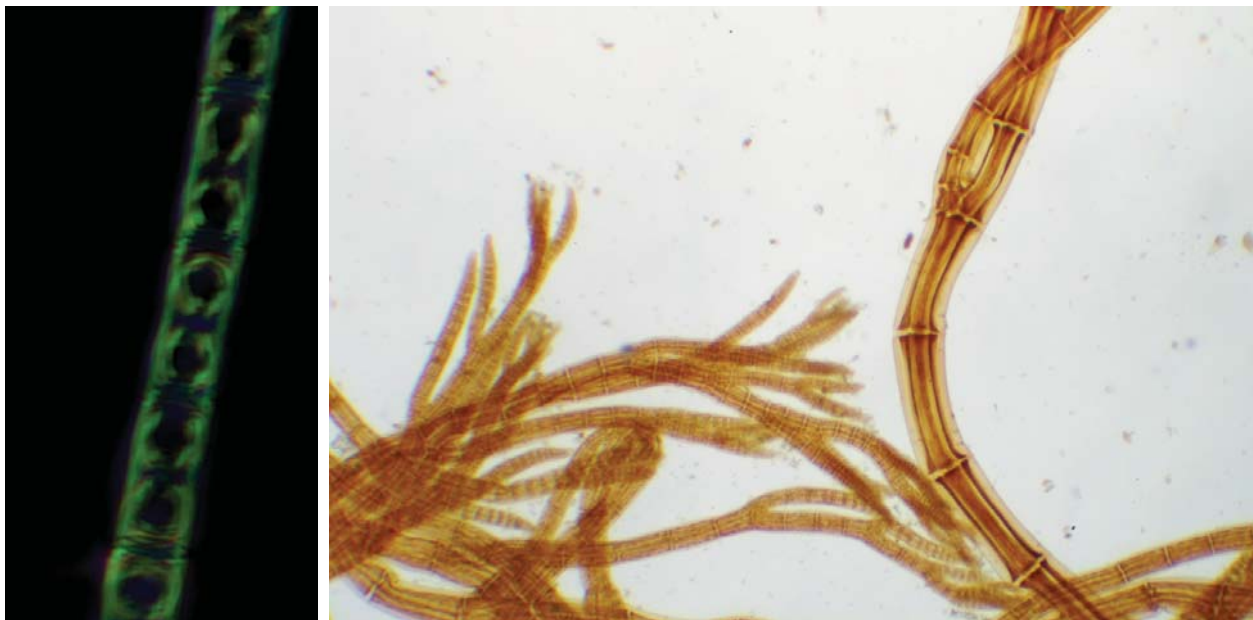
25 ml glyserol

25 ml melkesyre (lactic acid)

tilsettes.

(Kjemikalier fra VWR International)

Denne blandingen passer til insekter, og noen leddyr, som fåbørstemark. Kalkholdige organismer skummer i dette sure miljøet. (Det dannes CO₂).



Figur 2 a En ubestemt grønnalge. Muligens av slekten *Zygnema*. Denne slekten er kjent for å ha to stjerneformede kloroplaster. På dette bildet er det vanskelig å se hva slags form kloroplastene har.

Figur 2 b Rødalgen rekeklo, *Ceranium rubrum*. Algen er vanlig i fjæra. Over 30 år gammelt preparat i glyserin-gelatin. (Et av mine første forsøk med mikroskop.)

Det er ikke nødvendig med noen forbehandling, dyrene kan legges rett fra sprit over i innleiringsmiddel. Klareprosessen kan ta noen timer, så la gjerne preparatet ligge natta over eller lenger før det undersøkes. Dette vannbaserte middelet tørker forholdsvis langsomt. Det er en fordel å la objektglassene ligge lenge (gjærne uker) før de blir satt på høykant for oppbevaring.

Erfaring med polyvinylactophenol er at den tørker inn med årene. For å unngå preparatet tørker helt, kan en prøve å lakke rundt dekkglasset med klar neglelakk.

Preparater som ikke krever forbehandling

Plantep plankton og mikroalger

Plantep plankton opptrer som regel så rikelig at det bare er å la en vannprøve stå og bunnfelle seg. Tradisjonelt har en konserverte planktonprøver med lugols løsning, som blant annet inneholder jod og kaliumjodid. (Denne løsningen kan kjøpes ferdig.) Da vil planktonet i noen grad bli farget med jod. Et annet konserveringsmiddel er formalin, en tilsetter formalin så prøven inneholder 1- 4%. Handelsvaren inneholder 40% formaldehyd. Det kan også være bryet verd å prøve seg på friskt materiale.

Når prøven har stått i ro noen timer, gjerne over natta, kan en ta opp bunnfallet å legge under

mikroskopet. Til plankton-telling er det utviklet egne sedimenteringskammer til bruk sammen med omvendt mikroskop.

Uten slikt spesialutstyr kan en likevel gjøre interessante observasjoner ved å se på forholdstallet mellom ulike algegrupper.

Fastsittende alger kan en samle ved å skrape dem fra underlaget. De kan betraktes direkte.

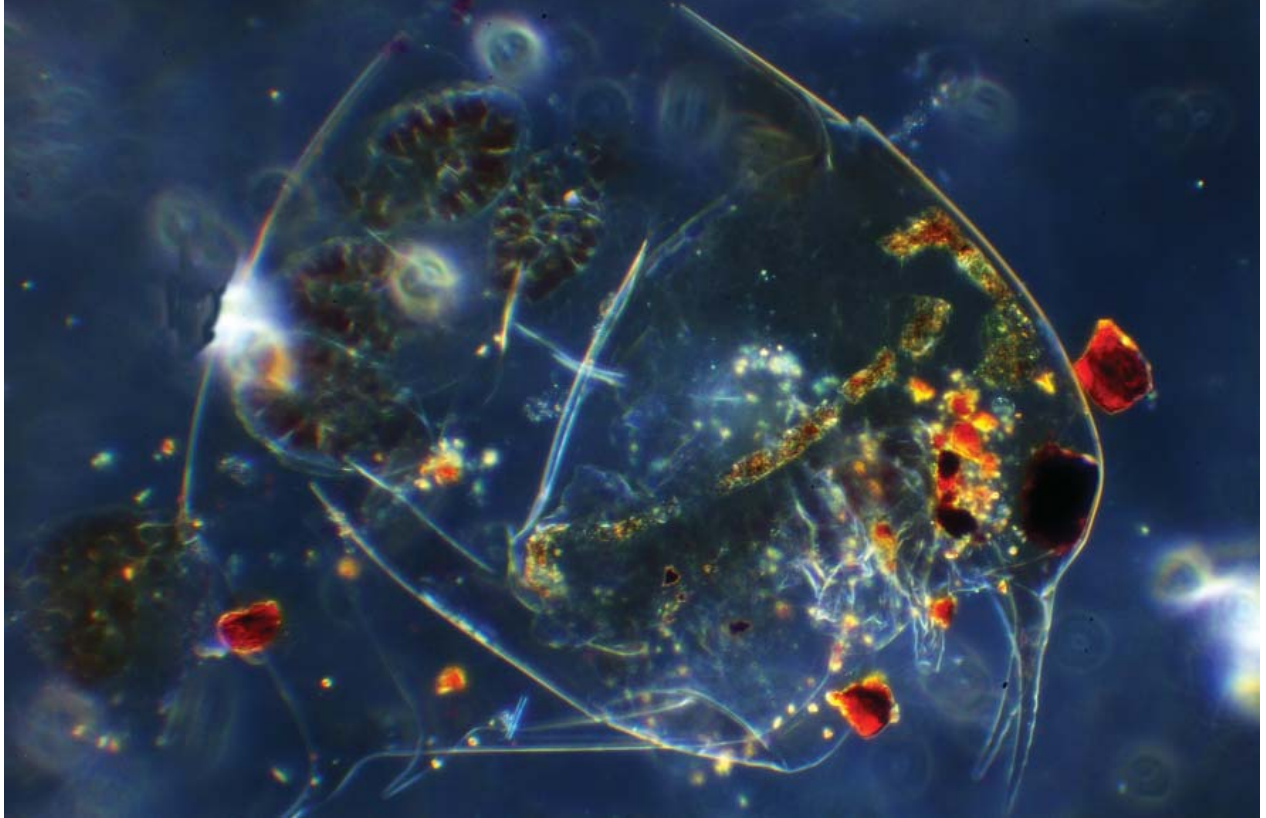
Om en henger et objektglass ut i vann, vil det etter en tid bli kolonisert av fastsittende alger. Det er en egnet metode, om en vil sammenligne floraen på ulike steder.

Kiselalger, diatomeer blir bestemt ut fra strukturer i skallet. For å se skallet tydelig, må det organiske vekk. En enkel metode er å gløde prøven på et dekkglass. En kan også bruke oksydasjonsmidler som hydrogenperoksyd.

Sandhall og Berggren 1981/2001 har gitt ut en bok med vakre foto av plankton.



Figur 3 Hjemmesydd planktonhåv fra 1970-tallet. Hvis jeg husker riktig, var silduken i sin tid «innerfór» på en sofa. Kraven av bomullstoff var kjøpt på restesalg, derav fargen. Håven fungerte greit.



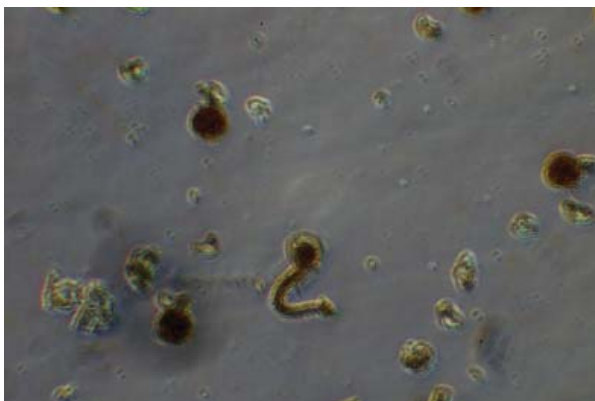
Figur 4 Bosmina sp. en vannloppe. Preparatet «bråtørket» og lagt i canadabalsam. (Også en av mine gamle synder.)

Trådformede alger

Finnes som «grønske» i både ferskt og salt vann. Noen arter har vakre kloroplaster, eller andre spennende særtrekk.

Dyreplankton

I vegetasjonen i strandkanten er det ofte så tett med smådyr at det bare er å øse opp. For å få tak i dyreplankton fra de fri vannmassene, er det ofte enklest å bruke planktonhåv. Ferdige håver er forholdsvis kostbare, men det er enkelt å lage sin egen. I sin enkleste form består den av en spiss pose av stoff med en ståltrådring i den vide enden, og en oppsamlingsbeholder i den spisse. Beholderen kan være en liten flaske eller boks.



Figur 5 Tulipanpollen. Et par pollenkorn har begynt å spire. Gammelt preparat i glyserol-gelatin.

Den bør være lett å ta løs, slik at det er greit å tømme håven. Til stoff i håven kan en bruke tynn nylon eller lignede. I de håvene som er til salgs er maskevidden ofte 70 – 100 μm . Det skulle være forholdsvis enkelt å måle maskevidden i det tøyte en velger.

De enkelte dyrene er det lett å plukke med en pipette, og legge på et objektglass. Noen dyr er så store, at de kan bli knust under dekkglasset. Det finnes objektglass med fordypning til slike objekter.

Kanskje enklere å få til er å bruke en dråpe som henger under et dekkglass støttet opp med voksklumper eller en ring. En fordel med denne teknikken er at det er tett kontakt mellom vannet og dekkglasset.

Infusjonsdyr

Felles betegnelse på liv som kunne dukke opp når avkok (infusjoner) ble skjemt. Den «klassiske» metoden for å finne infusjonsdyr er å sette opp en kultur av råttent høy i vann. Like spennende kan det være å undersøke naturlig råtne miljøer. For eksempel pytter med råtne planterester, gjødselsig og lignende. Faunaen består blant annet av ulike ciliater, som kan være ganske livlige.

Thronsen og Eikrem 2007 har en spennende artikkel om mikroflagellater i sandstrender. De kan fanges ved å legge et dekkglass på en sandprøve.

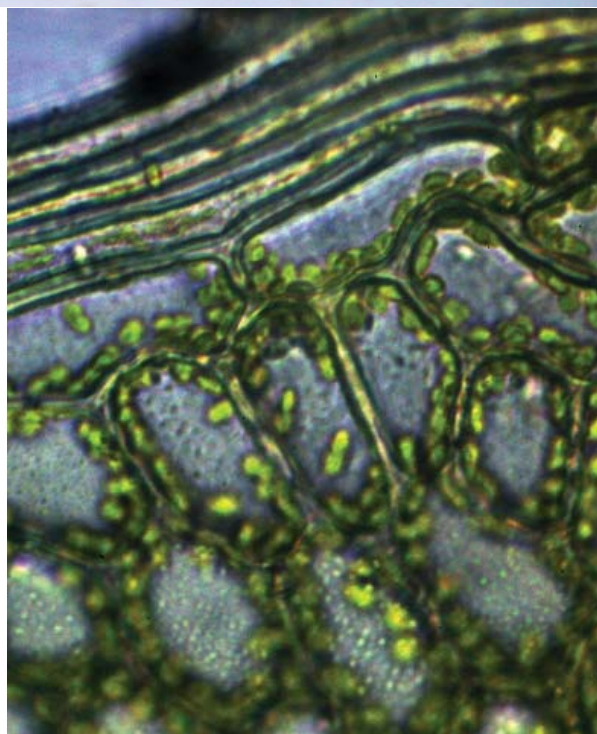
Pollen

Opptrer i mange former, hver art har sin karakteristiske form. Pollenanalyse brukes for å få data



Figur 6 a Blad av skogfagermose *Plagiomnium affine*.

Figur 6 b nærbilde av samme blad. En ser tydelig hvordan kloroplastene ligger ytterst langs celleveggene. Langs kanten av bladet er det kraftigere celler uten klorofyll. Friskt blad i vann.



om fortidens vegetasjon, men krever nokså mye forarbeid for å få fram materiale.

Ferskt pollen kan en høste fra alle slags blomster. Om pollenkornene får ligge i en dråpe 10% sukkervann kan de spire.

Tynne blad

Visse planter, som vasspest *Elodea canadensis* og fagermose *Plagiomnium* sp. har blader som bare er ett cellelag tykt.

»Huden» på lagene i en løk er ett cellelag tykk, og lett å skrelle av. Den kan dessuten farges med et kjernefargestoff som karmin eller karbolfuksin. Da blir kjernen synlig, og kanskje noen celler er i ulike faser av deling.

Plantehår

Fargede hår av potteplanten spragle *Coleus* sp. er mye brukt til å demonstrere osmose. Ligger hårene i sterk sukkerlake, vil fargestoffet i cellene bli konsentrert. Situasjonen går tilbake til det normale om sukkerlaken blir erstattet med rent vann.

Dette forsøket burde kunne utvides ved at en brukte sukkerlake av ulike, kjente konsentrasjoner, og så på virkning / ikke virkning. Da kunne en få et omtrentlig mål på de osmotiske forholdene i cellen.

Fra matskapet

På gymnaset studerte vi fettceller fra røkelaks og tverrstripet muskulatur i kokt skinke. Materialet ble knust mellom to objektglass før det ble lagt i vann under dekkglass.

Muggsopper kan det være rikelig av. Både dyrket i ulike muggoster, og ubedt på forskjellige matvarer.

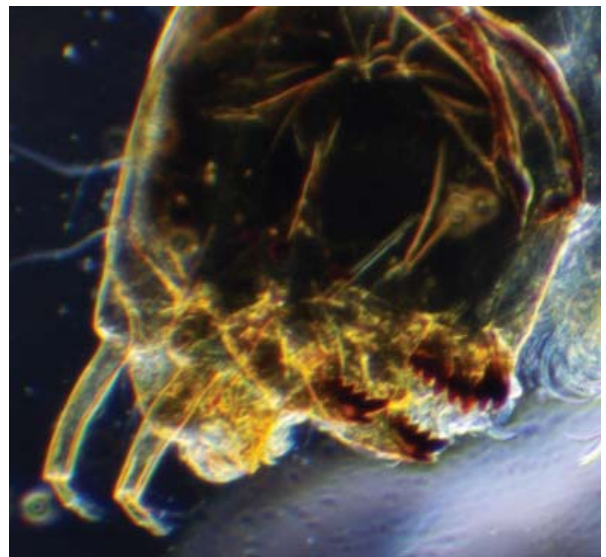
I sur melk finnes ulike bakteriearter. Den kan kanskje være en enkel og ufarlig kilde til et første møte med bakterienes verden.

Vanlig bakegjær er en encellet sopp. Den kan vokse i tynt sukkervann, og brukes til å se på cellevekst og deling.



Figur 7 a Steinfluenumfe *Siphonoperla burmeistri*. Et viktig kjennetegn er det reduserte ytterleddet på kjevepalpen. Bildet er tatt etter omkring ett døgn i polyvinylactoglyserol, som gjør vevet gjennomsiktig.

Figur 7 b Ubestemt fjærmygglarve Chironomidae. Behandlet på samme måte som 7 a.



Kroppen

Epitelceller kan en lett få ved å skrape på innsiden av kinnnet med en fyrstikk eller spatel. Slike celler er for øvrig mye brukt til DNA-analyse.

Tannbelegg kan inneholde mye interessant.

Blod kan undersøkes i form av tynne utstryk. En trekker en bloddråpe ut over et objektglass ved hjelp av et annet objektglass. Slike prøver kan tørkes og farges. Farging av blodprøver er rutine i medisinske undersøkelser, det finnes egne sett med reagenser til slik bruk. Til undervisning kan en kanskje få kjøpt ferdige fargede blodpreparat.

Preparater som krever montering

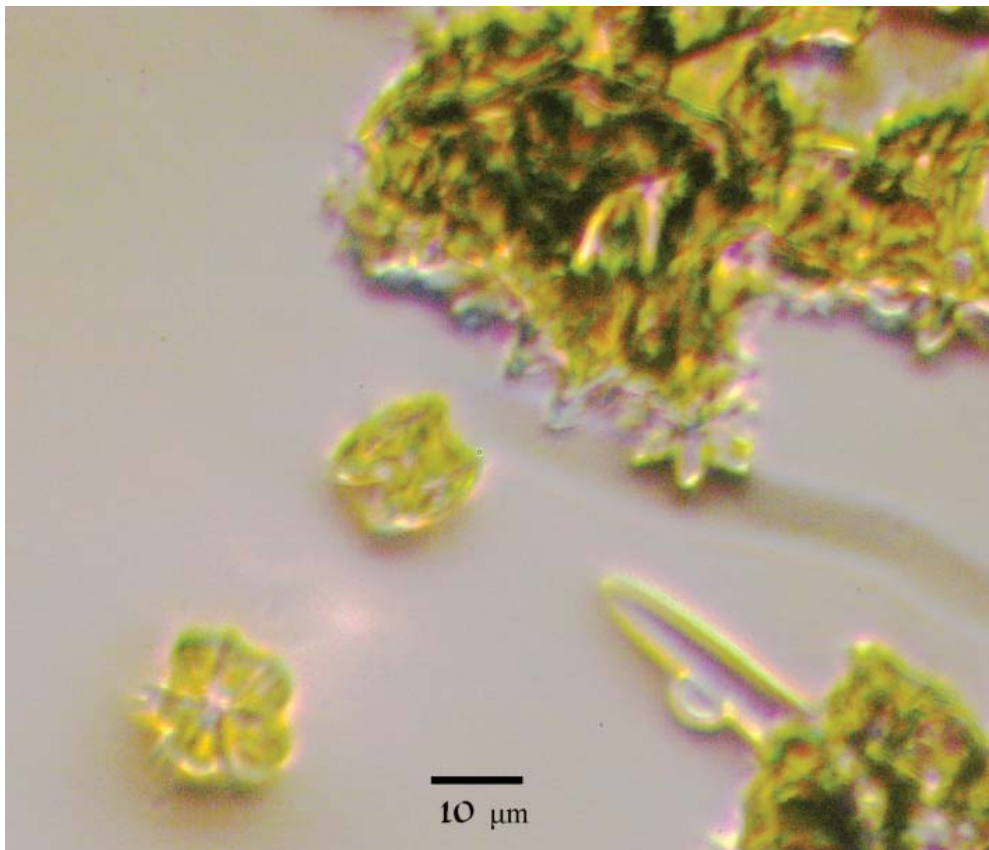
Mange objekter er i utgangspunktet ugjennomskinnelige. I mikroskopet blir de bare en svart kontur. Ofte lar problemet seg løse ved å bytte

ut vannet i objektet med et organisk stoff med høyere brytningsindeks enn vann.

Polyvinylactoglyserol er min favoritt, i og med at den kan brukes på de fleste kalkfrie objekter, og er blandbar med vann og alkohol. For øvrig, finnes utallige oppskrifter på innleiringsmidler, noen krever dehydrering, andre ikke.

Zoologisk materiale er det normalt å drepe før innleiring. 70% alkohol (fortynnet rødsprit) eller 4% formalin (usunt å arbeide med) egner seg godt til å drepe og oppbevare dyr for mikroskopi.

Kalkholdig materiale, som muslinger og krepsdyr bruser i sure innleiringsmidler som polyvinylactoglyserol. En løsning kan kanskje



Figur 8
Müllersvamp,
Ephydatia mülleri.
Bløtvevet er
oppløst i kokende
salpetersyre. De
vakre kisel nålene
er svampens
skjellet, og gir
grunnlag for
artsbestemmelse.
Svampens
vokseform er
avhengig av
miljøet, men
kisel nålene er
artsbestemt.

være å la preparatet bruse fra seg før en legger på dekkglass, eller å avkalke objektet i syre før montering. (I min praksis har kalkholdig materiale vært så sjeldent at jeg ikke har hatt behov for å løse problemet.)

Livet i ferskvann

De fleste dyr i ferskvann, som er så små at de kan ligge under et dekkglass, kan uten videre monteres i polyvinylactoglyserol. Etter et døgnstid er de helt gjennomskinnelige.

Denne metoden er standard ved artsbestemmelse av fåbørstemark. Børster og andre viktige detaljer synes best på preparert materiale.

Insekter kan prepareres på denne måten, eventuelt kan en plukke ut interessante deler, som føtter og munnleder og lage egne preparat av dem.

Genitalpreparater

Entomologer bruker ofte preparater av insektenes genitalier til artsbestemmelse. Det innebærer disseksjon og koking med lut for å fjerne bløte deler. Antakelig vil monteringsdelen av prosessen bli enklere ved bruk av et vannløselig innleiringsmiddel.

Svamp

Svamp er en underlig dyregruppe med skjelett bygget opp av mineralnåler. Hos horn- og kisels-

vamper består dette av vakre kvartsnåler. For å få frem nålene, må det organiske materialet fjernes. Det kan for eksempel gjøres med konsentrert salpetersyre.

Om en arbeider forsiktig, med små mengder svamp og en dråpe syre, kan oppløsningen gjøres på et objektglass. Salpetersyre er sterkt etsende, og farger huden gul (reaksjon på protein). I tillegg dannes nitrose gasser som er farlige å puste inn. Altså må en bruke fullt verneutstyr som hansker og briller, samt arbeide i avtrekk eller med god utlufting.

Litteratur

- SANDHALL Å. & BERGGREN H. 1981: Mikrobilder liv i damm och sjö
Esselte Studium Art. nr. 1070-290 107 pp Fargefotos av ulike planktonorganismer
Ny utgave:
SANDHALL Å. & BERGGREN H. 2001: Mikrobilder : liv i damm och sjö
Stockholm : Interpublishing ISBN: 91-86448-43-9, ib. Utgave: 2. utg. Sidetall: 105 s. ill.
THRONDSSEN J. & EIKREM W. 2007: Mikroflagellater i norske sandstender Naturen 5 202-208 Fangst av mikroflagellater, metodebeskrivelse og bilder