

151573

Zeitschrift

L

Sonderabdruck

aus

Zeitschrift für wissenschaftliche Mikroskopie

und für

mikroskopische Technik

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Marburg.]

Zur Orientirung kleinster mikroskopischer Objecte.

Von

Dr. R. W. Hoffmann

in Marburg.

Unter den vielen bisher veröffentlichten Methoden zur Orientirung kleiner mikroskopischer Objecte zeichnet sich diejenige von PATTEN¹ durch hervorragende Einfachheit und geringen Zeitaufwand aus; obgleich auch sie noch Manches zu wünschen übrig lässt. Ich glaube indessen, dass gerade die PATTEN'sche Methode derart zu verbessern ist, dass sie alsdann auch den weitgehendsten Ansprüchen Genüge leistet.

Bekanntlich verfährt PATTEN beim Orientiren so, dass er auf einen Streifen Rippenpapier mit zwei Systemen rechtwinkelig sich kreuzender Rippen, die als Orientierungslinien dienen, äusserst kleine Tröpfchen eines honigdicken Gemisches von Collodium und Nelkenöl bringt, in welche die Objecte, nachdem sie vorher von der überschüssigen Aufhellungsflüssigkeit (Nelkenöl oder Bergamottöl) befreit worden sind, übertragen werden. Nachdem mittels einer Nadel die Objecte in die gewünschte Lage gebracht worden sind, wird das betreffende Papier in Terpentinöl übergeführt, woselbst es bleibt, bis die Objecte fest auf ihrer Unterlage aufgeklebt sind. Die weitere Behandlung ist die gewöhnliche. Sobald das Paraffin, in welches das Papier schliesslich übertragen wird, erstarrt und von dem Einbettungsgefäss abgelöst ist, wird der Streifen weggezogen.

¹) Vgl. diese Zeitschr. Bd. XI, 1894, p. 13.

Die Objecte bleiben hierbei im Paraffin eingebettet. Die gewünschte Schnittrichtung ist alsdann durch die Rippen angegeben, die sich als Rillen auf dem Block abzeichnen.

Gewiss ist diese Methode für viele Fälle ganz brauchbar, jedoch sicher nicht präcis genug für kleine, z. B. kugelige Objecte, die wenig Anhaltspunkte für das Orientiren bieten. Die Mängel, welche sich hierbei ergeben, lassen sich etwa auf folgende Ursachen zurückführen: Zunächst repräsentirt das Papier, auf welchem die Objecte aufgeklebt werden, nicht eine unbedingt glatte Ebene. Die kleinste Biegung dieser Unterlage verursacht ja schon eine Unebenheit der angrenzenden Paraffinfläche und hierdurch eine Ungenauigkeit der Schnittrichtung, die bei sehr kleinen Objecten relativ bedeutend sein kann. Die Orientirung wird überdies sehr dadurch erschwert, dass kein Papier als eine homogene und vollständig durchsichtige Masse betrachtet werden kann, sondern sich bei starken Vergrößerungen, wie man sie beim Orientiren sehr kleiner Objecte unbedingt nöthig hat, in ein Gewirr dicker, verfilzter Fasern auflöst. Weiterhin geht das Abziehen des Papiers vom Paraffin keineswegs so leicht von Statten wie man glauben sollte. Ein kleiner Nachtheil ist noch derjenige, dass die relativ dicken Rippen des Papiers keine haarscharfen Merklinien zurücklassen.

Ich habe nun diesen Uebelständen der PATTEN'schen Methode dadurch abzuhelfen gesucht, dass ich letztere nach zwei Seiten hin modificirte. Erstens klebe ich die Objecte nicht auf Papier, sondern auf etwa 2 bis $2\frac{1}{2}$ cm lange und $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ cm breite Glasstreifen,¹ und zweitens dient mir das PATTEN'sche Klebemittel auch zugleich als Einbettungsmasse. Demzufolge muss der Collodium-Nelkenöltropfen genügend gross sein, um die Objecte vollständig in sich aufnehmen zu können. Das Collodium-Nelkenöl stelle ich mir her, indem ich ein Gemisch von gleichen Theilen Collodium und Nelkenöl 24 Stunden lang in einem weithalsigen Gläschen offen an einem zugigen Orte stehen lasse. Alsdann muss die zähe Masse in Xylol zu einem glashellen, etwas gelblichen Tropfen erstarren.

Die Vortheile, welche sich aus diesen beiden Modificationen ergeben, sind die Folgenden: Zunächst ist die Orientirung ausser-

¹) Die Loslösung des Glasplättchens vom Paraffin erfolgt um so eher, je weniger Objecte auf dasselbe aufgeklebt werden.

ordentlich erleichtert, indem das in der durchsichtigen Collodiummasse eingebettete und auf Glas ruhende Object, wenn es gut gefärbt ist, jede Besonderheit ebenso gut wiedergibt wie irgend ein Totalpräparat in Canadabalsam. Demgemäss lässt sich auch von jedem derartig eingebetteten Objecte vor dem Schneiden ein genaues mikroskopisches Bild vermittels des Zeichenapparats entwerfen. Die Orientirung wird durch Strömungen bewerkstelligt, die man mit einer Nadel in der dickflüssigen Einbettungsmasse erzeugt. Beliebig feine Orientirungslinien kann man sich auf der Glasfläche leicht mit einer Gravirnadel herstellen. Werden die entstandenen Rillen mit irgend einer abfärbbaren Masse, wie Russ, Gravirkitt oder dergleichen angefüllt, so drücken sich letztere als dunkle Linien auf dem Paraffin ab. Dies ist jedoch nur selten nöthig, da man fast stets den Objecten eine derartige Lage geben kann, dass die Ablösungsfläche des Paraffinstückchens zugleich der gewünschten Schnittfläche entspricht. Die Glasfläche, die ja eine fast mathematisch genaue Ebene darstellt, drückt sich unverändert und spiegelnd auf der Paraffinmasse ab. Ist der Block parallel zu den Glasrändern zugeschnitten, so erfolgt die Loslösung in 1 bis 5 Minuten.

Da bei meiner Methode das Collodium-Nelkenöl ausser als Klebemittel auch als Einbettungsmasse dient, dem Paraffin aber nur die Aufgabe zufällt, das Collodiumplättchen zu befestigen, so braucht das mit ersterem durchtränkte Object,¹ nachdem es auf dem Gläschen orientirt und für kurze Zeit in Xylol übergeführt worden ist, auch nur wenige Minuten (höchstens 5) in Paraffin zu verweilen; nämlich nur so lange, bis das dem Gläschen noch anhaftende Xylol vom Paraffin aufgesogen worden ist.

Aus dem eben Gesagten geht hervor, dass die Methode überall da von Nutzen ist, wo eine Durchtränkung des Objects mit Paraffin oder die längere Einwirkung von Hitze direct als schädlich für die Objecte empfunden wird. Ebenso wird sie auch in denjenigen Fällen mit Vortheil anzuwenden sein, wo grosser Eiweiss- oder Dottergehalt die Schnitte leicht zersplittern lässt. Das Collodium wird ja schon seit langem als Schnittbefestigungsmittel gebraucht. Was die Dicke der Schnitte betrifft, so wurden im hiesigen Institute bei 5 μ mit Leichtigkeit Bänder geschnitten; neuerdings gelang dies sogar bei 4 μ . Schliesslich sei mir noch eine letzte Bemerkung erlaubt:

¹) Die Durchtränkung ist bei kleinen Objecten oft in wenigen Sekunden geschehen.

In Fällen, wo es darauf ankommt, die Schnittrichtung eines Objects haarscharf zu bestimmen, kann man noch eine dritte Modification anwenden. Dieselbe erfordert zwar mehr Zeit, führt dafür aber in den wenigen Fällen, wo die eben erwähnte Methode nicht genügen sollte, unfehlbar zum Ziel. Man verfährt alsdann wie bei dem Studium einer Furchung, indem man, nachdem das Object in den Collodium-Nelkenöltropfen gebracht worden ist, ein Deckglas mit zwei Glasröhrchen als Rollen auflegt und durch Verschiebung letzterer aufs Genaueste das Object in die gewünschte Lage einstellt. Da der Collodiumtropfen durch Verdunstung des Aethers beliebig dickflüssig gemacht werden kann, so lässt sich auch stets eine Consistenz desselben finden, wo das Object sich nicht mehr verschiebt. Alsdann wird letzteres zwischen beiden Gläsern vorsichtig in Xylol gebracht, woselbst es bleibt bis der Collodiumtropfen erstarrt ist.¹ Die weitere Behandlung ist genau so wie früher. Entweder löst sich nun bei der Abkühlung im Wasser das Paraffinstückchen, in welches das Deckgläschen mit dem Object eingeschlossen ist vom zweiten Gläschen; oder der Collodiumtropfen mit dem Object bleibt eingeschlossen in eine Paraffinlamelle auf dem unteren Gläschen haften, und nur das Deckgläschen löst sich mit der darauf klebenden oberen Paraffinschicht vom Objecte los. Das Object, das jetzt nur noch auf einem der beiden Glasplättchen haftet, ist alsdann in Paraffin einzubetten und nach abermaliger Wiederholung des Ablösungsverfahrens zum Schneiden fertig.

Nach den angegebenen Methoden können an 20 Objecte, nachdem sie auf dem Glasplättchen orientirt worden sind, innerhalb einer viertel bis einer halben Stunde zum Schneiden bereit sein.

¹) Bis dies eintritt, vergehen jedoch oft einige Stunden, da das Deckgläschen die Communication mit dem Xylol nur seitlich zulässt.

