

TECNICAS Y METODOS DE OBTENCIÓN, PREPARACIÓN, CONSERVACIÓN Y ESTUDIO DE INSECTOS FÓSILES.

Enrique Peñalver¹

¹ Departament de Geologia, Facultat de Biologia, Universitat de València, C/Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot (Valencia). e-mail: penalver@uv.es

Resumen

En el presente artículo se muestran las técnicas y métodos comúnmente empleados en la obtención, preparación, conservación y estudio de insectos fósiles. Éstas son totalmente diferentes a los propios de la entomología de insectos actuales. Además, se muestra cómo también son muy distintas dependiendo de los diversos tipos de fosilización y/o yacimientos paleontológicos. Éstos son: yacimientos de resina fósil (especialmente de ámbar), yacimientos de sedimentos laminados o tableados litificados (especialmente de calizas litográficas y ritmitas bituminosas) y yacimientos de sedimentos no litificados especialmente glaciares.

1. Introducción

La paleoentomología es la rama de la paleontología que estudia los artrópodos fósiles, mientras que la neoentomología estudia los artrópodos actuales. Algunos de los grupos de artrópodos estudiados por la paleoentomología son grupos sin representantes actuales tales como los trilobites o los euriptéridos. En el presente artículo se utilizará el término paleoentomología únicamente referido a insectos fósiles, aunque gran parte de lo que se expondrá a continuación puede aplicarse al registro fósil de artrópodos no insectos.

Las técnicas y métodos utilizados en paleoentomología son diferentes de los propios de la neoentomología. Ello se debe a que en paleoentomología no se estudian insectos sino restos y evidencias fósiles de insectos, y estos restos tienen características muy distintas a las de los insectos actuales. Únicamente podemos inferir una serie de estructuras relacionables con las estructuras morfológicas que encontramos en los insectos actuales.

Las técnicas y métodos que van a ser tratados en este trabajo no dependen del orden, de la familia o de cualquier otro nivel taxonómico de insectos que queramos estudiar, sino del tipo de yacimiento paleontológico (y por tanto de la naturaleza de la fosilización) del que se obtengan los insectos fósiles. Los tipos de yacimientos a tratar se han establecido atendiendo a la roca o sedimento del que están compuestos y que determina las técnicas a emplear: yacimientos de resina fósil (especialmente de ámbar), yacimientos de sedimentos laminados o tableados litificados (especialmente de calizas litográficas y ritmitas bituminosas) y yacimientos de sedimentos no litificados especialmente glaciares.

En muy raras ocasiones se puede conocer la edad precisa del ámbar, y por tanto de los insectos incluidos en él, debido a que normalmente se encuentra en depósitos secundarios. Es decir, el ámbar fue transportado por ríos, glaciares o el mar hasta

quedar enterrado en sedimentos más modernos. En cualquier caso, los yacimientos de resina fósil pueden tener una edad muy variada. Se conoce resina fósil con inclusiones de insectos desde el Cretácico inferior hasta períodos muy recientes como del Cuaternario (menos de 1,6 millones de años), llegándose a hablar de forma más precisa de subfósiles de insectos. Concretamente, el ámbar más antiguo con insectos fósiles es el ámbar del Líbano que se encuentra en sedimentos del Cretácico inferior (Neocomiense; unos 128 millones de años). Dependiendo de la antigüedad, la resina fósil se llamará ámbar o copal. En este artículo vamos a referirnos principalmente a insectos fósiles en ámbar.

Dentro de lo que hemos llamado "yacimientos de sedimentos laminados o tableados litificados" se incluirían varios tipos distintos. Por ejemplo los yacimientos de calizas litográficas del Mesozoico (principalmente del Jurásico y Cretácico, entre 205 y 65 millones de años) que pueden tener un origen marino cerca de la costa o lacustre (e.g. Solnhofen en Alemania, Las Hoyas y El Montsec en España, etc.); otro tipo importante son los abundantes yacimientos del Cenozoico (principalmente del Oligoceno y del Mioceno, entre 36,5 y 5,5 millones de años) de origen lacustre constituidos por ritmitas-diatomitas bituminosas (e.g. Florissant en U.S.A., Shanwang en China, Messel en Alemania, Céreste en Francia, Rubielos de Mora y Ribesalbes en España, etc.) o yacimientos de diatomitas volcano-sedimentarias como el de Montagne d'Andance en Francia. No se tratarán en este artículo los yacimientos de carbón, en los cuales se han hallado importantísimos insectos fósiles del Carbonífero (355-290 millones de años). Sin embargo, el tipo de rotura del carbón en superficies más o menos planas y el tipo de fosilización de los insectos (aplastados con cierto relieve en estas superficies planas) hace que, si bien tienen un origen muy diferente a los tratados en este apartado, sean similares las técnicas de obtención, preparación y estudio.

Los yacimientos de sedimentos no litificados están también constituidos muchas veces por sedimentos laminados (en este caso se habla de varvas), pero la extracción de insectos fósiles es muy diferente al caso anterior. La edad de este tipo es reciente y comúnmente corresponden a yacimientos de origen glaciario.

La aplicación de los métodos y técnicas adecuados a cada yacimiento y/o resto fósil permitirá no solo el conocimiento de las antiguas entidades biológicas, en este caso correspondientes a insectos, sino también la reconstrucción de los procesos que han llevado a la formación de un yacimiento paleontológico, además de contribuir a la reconstrucción del antiguo ecosistema.

Por último decir que son muy escasos los artículos dedicados a los métodos aquí tratados. Se ha consultado especialmente el apartado de "métodos" que suele existir en los artículos y libros sobre insectos fósiles. Muchos de los ejemplos ilustrados aquí corresponden a los estudios del autor sobre los insectos fósiles en las ritmitas bituminosas de origen lacustre de los yacimientos del Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel) y Ribesalbes (Castellón).

2. Obtención de insectos fósiles en los yacimientos paleontológicos.

En vez de una manga, pinzas, frascos para matar y acetato de etilo, el material de campo necesario para la obtención de insectos fósiles puede consistir, por ejemplo, en un cincel, un martillo, una lupa de bolsillo y una botella cuentagotas con alcohol absoluto. Veamos a continuación cada caso en concreto.

2.1 Yacimientos de resina fósil

Existen varios métodos para la obtención de ámbar, ya sea de forma manual o industrial, los cuales se resumen a continuación (Pietrzak, 1984; Haenni & Dufour, 1992; Poinar & Poinar, 1995):

1- El ámbar del Báltico al ser liberado del sedimento por la erosión marina, preferentemente durante las tempestades, alcanza la superficie del agua por flotación. Posteriormente, el ámbar es transportado por el oleaje hasta la línea de costa, donde queda depositado. En estos casos la obtención de ámbar consistirá simplemente en su recolección en las playas. Otra técnica consiste en recoger el ámbar directamente de la superficie del agua de la orilla con redes enmangadas. También se obtiene ámbar presente a poca profundidad con largas redes enmangadas desde botes a remo. De forma similar puede recolectarse en orillas de ciertos lagos o en los bancos de arena de determinados ríos.

2- El ámbar de la República Dominicana se originó de resina que fue transportada a gran distancia desde su lugar de producción y quedó enterrada en sedimento fino. Este ámbar se encuentra actualmente en una matriz sedimentaria blanda y es extraído del interior de minas de forma totalmente manual y primitiva. Es

precisamente el ámbar de la República Dominicana uno de los que han producido insectos fósiles mejor conservados y de forma más abundante. Mediante la explotación de pequeñas minas también se obtiene el famoso ámbar del Mioceno de Chiapas, en Méjico.

3- Existen grandes canteras a cielo abierto destinadas a la obtención de ámbar como en Yantarnyy en la antigua Unión Soviética.

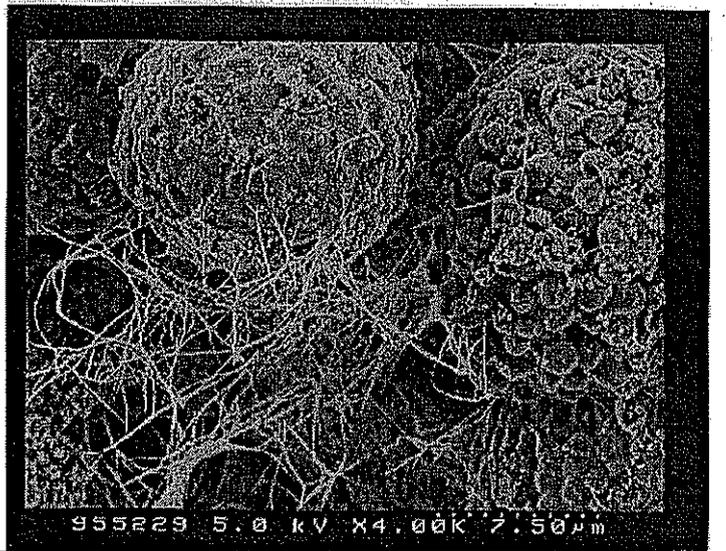
4- Un método hidráulico consiste en inyectar agua a presión profundamente en el sedimento y recuperar, con una red, el ámbar en su ascensión. Otro método consiste en tamizar directamente el sedimento utilizando agua.

Un ejemplo de recolección de ámbar cretácico en las orillas de un lago lo proporciona Borkent (1995); indica que el ámbar se encuentra dispersado a lo largo de 5 km en el lago Grassy de Alberta (Canadá), pudiéndose recolectar manualmente al azar. Pike (1993), para este mismo yacimiento, diseña y utiliza un método que deriva del empleado para el muestreo de microfósiles. Su objetivo es eliminar el sesgo producido por el recolector en favor de las piezas de ámbar de mayor tamaño. El método consiste en tamizar el sedimento bajo agua para eliminar el sedimento fino. El residuo resultante se introduce en recipientes que contienen agua salada (1 kg de sal por cada 4 l de agua) ya que el ámbar y el material orgánico reciente flotan hasta la superficie. Este residuo se recupera y lava en recipientes de agua destilada, posteriormente se seca al aire libre. Una vez seco se introduce en recipientes de agua destilada para aislar el ámbar; el ámbar se hunde y la materia orgánica actual flota al estar seca. De este modo se obtienen todos los fragmentos de ámbar, por pequeños que sean, y pueden realizarse estudios sobre la abundancia relativa de insectos respecto a la cantidad de ámbar y respecto a los diferentes taxones encontrados.

2.2 Yacimientos de sedimentos laminados o tableados litificados.

Las calizas litográficas, que afloran en superficie, son difíciles de extraer para su posterior exfoliación debido a su dureza. La extracción de las mismas puede realizarse a mano con martillos y palancas, también se puede hacer uso de maquinaria pesada, explosivos o martillos compresores. Los explosivos y martillos compresores han sido utilizados en el yacimiento de "La Cabrua" en el Cretácico del Montsec (Martinell *et al.*, 1991). Muchos de los ejemplares que actualmente engrosan las grandes colecciones de los museos se han obtenido gracias a la explotación de las calizas litográficas mediante canteras que hacen accesibles grandes cantidades de ellas; dos ejemplos son los de Solnhofen en Alemania y El Montsec en España (Martínez-Delclòs, com. per.).

Comúnmente, la exfoliación de la roca en este tipo de yacimientos se realiza con cincel y martillo. Se denomina exfoliación a la separación en placas de las rocas sedimentarias siguiendo los planos de



1



2

Figura 1: Pirita framboidal en que se encuentran fosilizados ejemplares de larvas de anisópteros del Mioceno de la Cuenca de Sorbas en la provincia de Almería. Esta pirita framboidal se debe a la acción fosildiagenética de bacterias sulfato-reductoras. Obsérvese el crecimiento de hifas de moho debido a un inadecuado tratamiento de la humedad. Fotografía al microscopio electrónico de scanning.

Figura 2: Fotografía del proceso de aplicación de espuma de poliuretano para la extracción de un bloque de ritmitas bituminosas del Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel). Corresponde a una excavación paleontológica en el afloramiento RR2 realizada en septiembre de 1994 y financiada por el Instituto de Estudios Turolenses. El bloque tiene un tamaño de 65 x 50 x 28 cm.

laminación. Son en estos planos de laminación, o planos de exfoliación, por donde la roca presenta tendencia a romperse y en donde se encuentran los insectos fósiles. Desafortunadamente las placas de roca solo se pueden exfoliar mientras presentan un grosor de varios centímetros. Conforme las placas se adelgazan, en la extracción de los restos fósiles, la exfoliación se hace más difícil, quedando gran número de las líneas de laminación, potencialmente fosilíferas, sin poder ser observadas.

Un método para favorecer la exfoliación de las calizas litográficas consiste en saturarlas de agua y después congelarlas (Martínez-Neto, 1991). El agua al aumentar de volumen en la congelación abrirá la roca por las líneas de laminación. Se trata de una simulación de la meteorización natural. De hecho, uno de los métodos empleados para abrir las calizas litográficas con insectos fósiles del Cretácico de Las Hoyas (Cuenca) consiste en dejarlas "macerar" en montones al aire libre en el yacimiento, durante un año, para que de esta forma se exfolien de manera natural (Martínez-Delclòs, com. per.). Un evidente inconveniente de este método es la dificultad para conocer la procedencia exacta, dentro de la columna estratigráfica, para cada bloque de caliza litográfica, aunque pueden ser marcados con pintura indeleble. Otro inconveniente es la alteración o parcial destrucción que se producirá en parte de los restos fósiles por la meteorización.

Una metodología adecuada que permite posteriores inferencias paleoecológicas y tafonómicas ha sido utilizada en el Cretácico del Montsec (Ruiz de Loizaga & Martínez-Delclòs, 1990; Martinell *et al.*, 1991). Ésta consiste de forma resumida en la numeración de los diferentes estratos y la anotación de sus características estratigráficas. Posteriormente se extraen las placas de caliza litográfica marcando en ellas el norte, suelo y techo. De este modo, para cada ejemplar se rellena una ficha de campo que incluye el número de estrato, orientación, características de la conservación, clasificación preliminar, etc. Más detallado ha sido el muestreo en el yacimiento, también del Cretácico, de Las Hoyas en la provincia de Cuenca; aquí, de forma similar a la metodología empleada en los yacimientos arqueológicos, se ha ubicado cada fósil en el espacio según tres coordenadas (Fregenal-Martínez *et al.*, 1995). Para ello ha sido utilizado un instrumento especial denominado "Coordinator". El análisis de la distribución espacial de los diferentes restos fósiles, incluidos los insectos, permite posteriores inferencias de tipo paleoambiental y sobre paleoeventos.

En yacimientos de ritmitas bituminosas suele ser más fácil la extracción de placas de sedimento ya que normalmente la litificación es débil; una excepción la constituye el yacimiento del Mioceno de Ribesalbes, cuyas ritmitas bituminosas recuerdan por su dureza a las calizas litográficas. En el yacimiento de Rubielos de Mora, y en gran parte de los yacimientos del Neógeno francés, se exfolian las placas o ritmitas laminadas empleando una simple cuchilla de filo no aserrado. La tarea se ve facilitada si las placas están húmedas.

En cualquier caso, es deseable extraer placas lo más grandes posible ya que favorece el hallazgo de

varios ejemplares presentes en un mismo nivel. Esto último permite el posterior estudio de las relaciones paleoecológicas entre los diferentes taxones (*e.g.* Peñalver & Martínez Delclòs, 1996) y, si el número de ejemplares es suficientemente elevado, puede permitir el estudio de orientaciones preferentes que indiquen paleocorrientes.

Para el transporte de los ejemplares hallados al laboratorio bastará envolverlos con papel blando e introducirlos en bolsas o cajas. Las bolsas o cajas deben permitir la evaporación de la humedad de las placas o de lo contrario pueden producirse crecimientos de mohos que cubran el ejemplar degradándolo (fig. 1). Es conveniente dejar secar los ejemplares en el laboratorio, poco después de su obtención en el campo, antes de almacenarlos. Algunos ejemplares fósiles de organismos muy esclerotizados originalmente (ej. los coleópteros), y según yacimientos, deberán ser transportados en bolsas impermeables evitando la pérdida de humedad. Posteriormente deben ser secados lentamente en el laboratorio y, de este modo, evitar un secado rápido que los cuartea y destruye. Otra opción consiste en su consolidación en el campo al ser descubiertos como se explicará más adelante.

Para el estudio de insectos fósiles en ritmitas bituminosas, además de la extracción en el campo por exfoliación, se puede excavar un bloque para su transporte al laboratorio. El bloque de ritmita bituminosa se extraerá mediante la realización de una cama o momia. En primer lugar se excavará hasta conseguir un bloque del tamaño deseado; el tamaño del bloque, desde 0,5 m hasta 1 m de lado, dependerá del estudio a realizar y de la abundancia en insectos del sedimento. Posteriormente se cubrirá con papel de aluminio y se rodeará de cartón dejando una separación de unos 15 cm. El hueco se rellenará con espuma de poliuretano (fig. 2). Una vez endurecida la espuma se excavará la base del bloque y se desprenderá del yacimiento para depositarlo sobre una tabla y así transportarlo al laboratorio. En el laboratorio se pueden exfoliar los microniveles y así llevar un registro microestratigráfico.

2.3 Yacimientos de sedimentos no litificados especialmente glaciares.

Estos yacimientos están constituidos por unos sedimentos también laminados, en este caso se habla de varvas, pero la extracción de insectos fósiles es muy diferente al caso anterior. El primer paso consiste en la extracción de muestras del sedimento en superficie o en la extracción de cilindros de sedimento a una determinada profundidad; a estos cilindros se les denomina cores. Las muestras deben introducirse en bolsas cerradas de plástico transparente para evitar contaminaciones por entrada de insectos actuales y deben estar perfectamente sigladas; esta contaminación es posible debido al tipo de conservación de estos insectos fósiles, que pueden confundirse con restos de insectos actuales, y al método peculiar de su obtención a partir de las muestras de sedimento. También durante el muestreo en este tipo de yacimientos es muy importante evitar la contaminación por restos de insectos actuales por lo que la muestra debe obtenerse

de sedimento no alterado; si se toma la muestra en superficie se debe antes excavar hasta alcanzar sedimento no alterado (Elias, 1994). Es interesante resaltar que este tipo de contaminación es imposible en el registro fósil de los otros dos tipos de yacimientos tratados. Otro aspecto importante es tomar las muestras seriadas con control estratigráfico para permitir correlaciones con otros afloramientos y permitir obtener inferencias de tipo paleoecológico y paleoambiental. Elias (1994) recomienda muestreos con mucho detalle y realizar fotografías de los niveles muestreados.

3. Preparación de insectos fósiles.

Los métodos de preparación para el estudio de los insectos fósiles también dependen del tipo de fosilización de los mismos. A continuación se mostrarán los métodos más comúnmente empleados para los tres tipos de yacimientos ya descritos anteriormente.

3.1 Insectos incluidos en resina fósil

Un primer paso consiste simplemente en la eliminación de la capa externa alterada de las piezas de ámbar y su posterior pulido. Después del pulido, que permite localizar las inclusiones, en este caso insectos, se puede proceder del siguiente modo (Szadziwski, 1988):

- 1) se corta el ámbar con una fina sierra, o con una sierra de joyero, para aislar la inclusión en un pequeño trozo,
- 2) posteriormente se elimina el exceso de ámbar con papeles de lija de los números 200-300,
- 3) se realiza un semipulido de la superficie del fragmento con papeles de lija de los números 500-800 humedecido con agua,
- 4) las delgadas placas obtenidas se pulen definitivamente con geles abrasivos especiales (por ejemplo los empleados por los geólogos en la realización de láminas ultradelgadas de rocas),
- 5) por último, estas delgadas placas se montan sobre portaobjetos con bálsamo del Canadá, ya que son muy frágiles.

El aislamiento del insecto en una delgada placa debe realizarse de forma que dicho insecto se encuentre en la mejor posición de examinación una vez montado sobre el portaobjetos. Algunas colecciones de museo conservan sus ejemplares montados de este modo. Un inconveniente es el de no permitir la observación del espécimen desde cualquier ángulo. No obstante, Borkent (1995) indica que los especímenes pueden liberarse fácilmente utilizando xileno si, en un futuro, se requieren observaciones con diferente orientación. En el apartado sobre el estudio de los insectos se muestra una técnica que permite la observación desde varios ángulos de insectos incluidos

en ámbar sin preparar. Más información puede consultarse en el apartado de métodos de Heie (1967).

Después de intentos no del todo satisfactorios, actualmente se están poniendo a punto técnicas para la disolución del ámbar y de este modo obtener los restos de insectos completamente aislados.

3.2 Insectos fosilizados en sedimentos laminados o tableados litificados.

En determinados ejemplares la primera manipulación consistirá en la consolidación de urgencia en el campo, tal como se describirá más adelante.

En raras ocasiones los insectos fósiles en sedimentos laminados o tableados litificados se obtienen completamente limpios de una cubierta de sedimento cuando se exfolia la roca. Por ello, normalmente antes de su estudio se procederá a la limpieza de los mismos. Esta limpieza siempre se realizará bajo lupa binocular. Si se trata de una matriz rocosa dura (calizas litográficas o ciertas ritmitas bituminosas como las del yacimiento mioceno de Ribesalbes) el sedimento que cubre al insecto fósil se retirará con agujas de diferente grosor o con percutores de precisión (fig. 3). Casualmente es muy útil el uso de agujas entomológicas. Aparte de una limpieza con métodos físicos, también es posible una limpieza química en algunos casos. Para las calizas litográficas de la Formación Santana en Brasil, Martins-Neto (1991) indica la utilización de una solución diluida de ácido clorhídrico aplicado cuidadosamente con un pincel hasta la eliminación del sedimento sobrante. Por supuesto, pueden ser compaginados los métodos físicos y químicos. Para una matriz rocosa blanda, como por ejemplo la ritmita bituminosa del yacimiento mioceno de Rubielos de Mora, se retirará el sedimento sobrante empleando un fino pincel de pelo de marta, estando humedecido el ejemplar con agua. En algunas porciones del insecto fósil la cubierta de sedimento puede tener un grosor de algunas décimas de milímetro, en ese caso previamente se rebajará un poco el grosor erosionando cuidadosamente con una aguja entomológica, ya que en la limpieza con pinceles la abrasión es sumamente débil.

En ocasiones no es precisa una limpieza a fondo si se realizan las observaciones mojando el ejemplar con alcohol absoluto. El alcohol transparenta la película de sedimento sobrante.

Voisin & Nel (1993) describen la extracción de la matriz sedimentaria de un ejemplar completo del género *Lixus* (Coleoptera, Curculionidae) del yacimiento mioceno de La Montagne d'Andance (Francia). El ejemplar, aplastado pero muy bien conservado, lo consolidaron por la cara visible con un barniz transparente antes de su extracción de la matriz. Todos los caracteres externos de este ejemplar, de forma similar a como ocurre en los insectos fósiles en ámbar, son completamente visibles para estudio.

3.3 Insectos fosilizados en sedimentos no litificados especialmente glaciares.

El método convencional para la obtención de

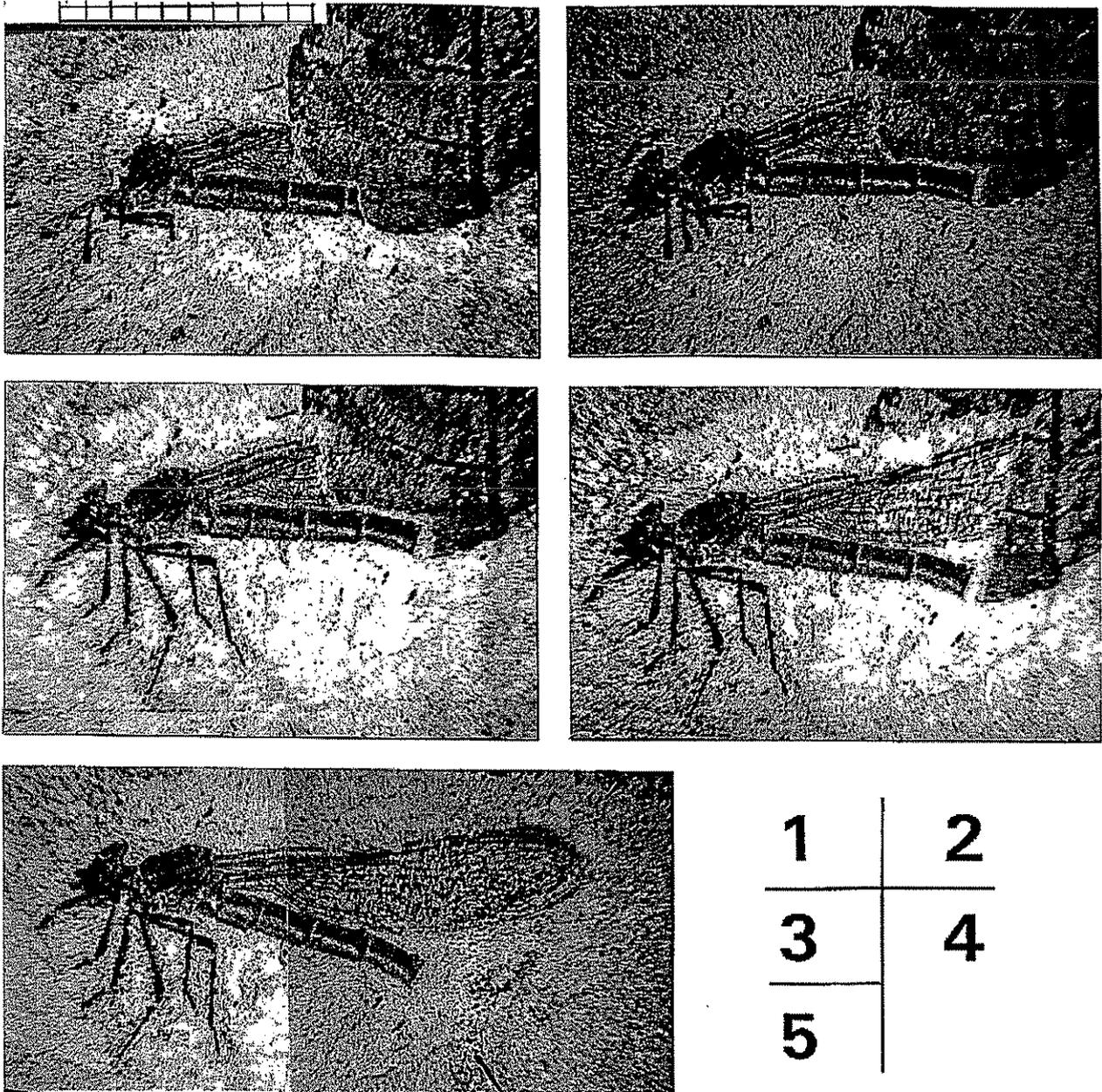


Figura 3: Secuencia en la preparación, de un ejemplar de Lestidae del Mioceno de Ribesalbes (MSV 163; Col. Manuel Saura), utilizando agujas y cuchillas para la eliminación de la capa de sedimento que lo cubre. 1) ejemplar tal como se halló en el yacimiento, alas y abdomen se encuentran bajo una lámina de sedimento en la que ha fosilizado una hoja; 2) se descubre cabeza y tórax, se comienzan a descubrir las alas y se observa que el abdomen está incompleto por desarticulación; 3) se descubren las patas; 4) se descubre casi toda la superficie alar y 5) ejemplar completamente preparado. Escala milimétrica en la fotografía 1.

restos de insectos en sedimentos glaciares es el siguiente (Coope, 1986):

1- El sedimento de cada muestra se deshace en agua caliente -según los casos se deshace en NaOH al 5% (Elias, 1983)- y se limpia de restos de gran tamaño,

2- el contenido en granos finos de mineral es eliminado pasando la muestra por un tamiz de 300 μm

de luz,

3- el residuo resultante es introducido en keroseno para flotar los restos fósiles de insectos,

4- bajo la lupa binocular se identifican y aíslan los restos de insectos.

Para la obtención de restos larvales subfósiles

de chironómidos de sedimentos lacustres, cápsulas cefálicas preferentemente, la técnica es similar y también muy sencilla (según Hofmann, 1988):

- 1- El sedimento se trata con KOH al 10%,
- 2- posteriormente se retira el material fino, que no contendrá restos fósiles, con un tamiz de 100 μm de luz,
- 3- si el contenido en carbonato de calcio es alto entonces se trata con HCl al 10%,
- 4- el residuo resultante se separa en dos fracciones con un tamiz de 200 μm de luz; una fracción con elementos mayores de 200 μm y otra con elementos cuyo tamaño oscila entre 100 μm y 200 μm . Esto facilita el,
- 5- triado posterior de los restos fósiles al estereomicroscopio. Las cápsulas cefálicas se retiran usando finas pinzas.

Existen muchas variantes a los métodos anteriores que dependen del tipo de resto fósil a obtener y del tipo de sedimento en el que se encuentran. Elias (1994) esquematiza la metodología de extracción de insectos fósiles para 5 tipos de sedimentos matriz.

3.4 Casos especiales

Por otra parte, un tipo especial se refiere a los yacimientos con insectos fosilizados en sílice por un proceso de permineralización. La permineralización consiste en la sustitución química de la materia del insecto por sílice, hematites o pirita, de manera que el insecto se conserva con volumen. Por ejemplo, en el Mioceno del desierto Mojave (Palmer, 1957) han sido hallados insectos en el interior de nódulos calcáreos conservando sus estructuras anatómicas con volumen original debido a reemplazamiento por varios minerales, preferentemente cuarzo. Los insectos se han obtenido como residuos al tratar los nódulos con ácido fórmico diluido (1 parte de ácido por 4 o más de agua). De este mismo yacimiento, Palmer (1957) estudia los órganos internos de una larva de odonato, conservados por reemplazamiento en calcita, mediante cortes realizados con una sierra de cuchilla muy fina.

Un ejemplo de permineralización en pirita, conservando el volumen original, lo constituyen los insectos fósiles de las London Clay del Eoceno de Inglaterra. Venables & Taylor (1962) describen el proceso de preparación de estos insectos fósiles:

- 1) en el campo se tamiza la arcilla fosilífera bajo el agua para eliminar la arena y el lodo por pérdida, y los "pellets" de arcilla y nódulos de pirita por triado manual,
- 2) en el laboratorio se realiza un nuevo tamizado más fino y el residuo se seca rápidamente, para aminorar la degradación por oxidación de los fósiles, extendiéndolo sobre papel absorbente,

3) el residuo seco se pasa por tamices de diferente luz para separarlo en varias fracciones que faciliten el triado de los ejemplares.

4. Conservación de insectos fósiles

Las piezas de ámbar con insectos se aconseja montarlas con bálsamo del Canadá para evitar su oxidación (Grimaldi, 1993). Según Koteja (1991) las inclusiones en ámbar montadas con bálsamo del Canadá entre dos piezas de cristal se conservan al menos hasta 100 años. Los ejemplares de ámbar observados por este autor en los que no se ha procedido de este modo se muestran oscurecidos y profundamente agrietados, afectando en ocasiones a la inclusión. Asimismo, Koteja (1991 y 1996a) advierte que el bálsamo del Canadá, u otro tipo de substancia aceitosa que se emplee en el ámbar, no debe utilizarse en piezas de ámbar agrietadas ya que penetra y puede alterar o destruir la inclusión; de hecho, un método comúnmente utilizado para transparentar ámbar agrietado consiste en su inmersión en aceite. Szadziwski (1988) también advierte sobre este inconveniente. Koteja (1991) propone una solución, válida en la mayoría de las ocasiones, que consiste en aplicar pequeñas capas de bálsamo algo endurecido (fuertemente polimerizado) permitiendo el endurecimiento entre las aplicaciones y posteriormente, cerradas así las grietas, se procede al montaje final.

Szadziwski (1988) observa inconvenientes en la utilización de resinas artificiales; las piezas de ámbar incluidas en cubos de resina artificial (Hobby-Plast) del Museum für Naturkunde de Berlín no permiten una observación detallada de los insectos debido presumiblemente a refracciones.

Las piezas de ámbar con varios insectos fósiles deben almacenarse con un dibujo, más o menos esquemático, sobre el que se pueda escribir la sigla asignada a cada ejemplar. Según Koteja (1996b) no es conveniente aislar cada espécimen, de estas piezas con múltiples inclusiones a las cuales el autor denomina "syninclusions", ya que se pierden importantes datos, como por ejemplo el que dichos organismos vivieron en el mismo tiempo y lugar. Normalmente es necesario el aislamiento de las inclusiones para un adecuado estudio, por ello debe quedar registrada la relación de los diferentes insectos en la misma pieza de ámbar, por ejemplo mediante un dibujo.

Los ejemplares de insectos, de igual manera los ejemplares de vegetales, fosilizados en calizas litográficas o ritmitas bituminosas pueden precisar una consolidación que evite el cuarteamiento y pérdida de la película carbonosa en que han quedado transformados en la fosilización. Con la consolidación se disminuyen o evitan los deterioros por fricción física, desprendimientos de la cutícula, oxidación y cambios en la temperatura y/o humedad ambiente. En ocasiones la consolidación se hace necesaria en el campo, recién descubiertos los ejemplares en la roca. La consolidación puede consistir en la aplicación de Synocryl 9122X (un polímero acrílico termoplástico de metacrilato de metilo) disuelto en acetona o xilol; igualmente se puede utilizar Paraloid, un consolidante

similar al Synocryl. Se aplicará la menor cantidad necesaria de consolidante y se evitará la formación de una capa compacta. Lapage & Basinger (1993) proponen el uso de una laca de nitrocelulosa de alta calidad (por ejemplo Northern Paint Gloss Lacquer #680544 o Glidden Guardsman 6550-0039) diluida en acetona al 1:1 para fijar impresiones vegetales. Esta laca debe aplicarse con un pulverizador. Según estos autores su técnica es idónea ya que puede aplicarse tanto en el campo como en el laboratorio, proporciona buenos resultados bajo un amplio rango de condiciones climáticas (desde un ambiente de congelación hasta un ambiente caluroso, con humedad o sequedad) y tiene un bajo coste. Pero lo más importante es su alta reversibilidad; después de retirada la laca con disolventes se observan perfectamente los detalles cuticulares, del vegetal fósil en sus experimentos, al microscopio electrónico.

Si bien todos los métodos indicados de consolidación para las calizas litográficas y ritmitas son reversibles, condición *sine quanon* para cualquier método de restauración, la consolidación únicamente se realizará si es necesario. Además, la aplicación debe ser puntual, bajo lupa binocular, si no es precisa en toda la superficie del ejemplar. Si con el empleo de alcohol absoluto, mojado el espécimen para realzarlo, se obtiene una visión suficiente para estudio, entonces no debe retirarse la pequeña cubierta de sedimento que presentan algunos especímenes. Esta cubierta natural de sedimento es la mejor garantía de conservación a largo plazo. Por otra parte, no es raro que coleccionistas y museos cubran los insectos fósiles con una capa de barniz o laca de varias décimas de milímetro; esta capa con el tiempo se cuarteo y/o cambia de color pudiendo impedir la visualización de los especímenes. Además, estas capas imposibilitan, estén degradadas o no, las observaciones con luz tangencial.

En el yacimiento turolense de Rubielos de Mora los ejemplares de coleópteros y ortópteros hallados comienzan a cuartearse y degradarse a los pocos minutos de su extracción. Lo anterior es debido, entre otras causas, a la pérdida brusca de la humedad en la película carbonosa que constituye el insecto fósil (paradójicamente, la película carbonosa más gruesa presente en los fósiles pertenecientes a estos órdenes es más propensa al cuarteamiento y consecuente desprendimiento). Para evitar esta degradación se puede optar por transportar los ejemplares al laboratorio envueltos en papel celulósico y en el interior de bolsas de plástico que evitan la desecación. Este método se utiliza por las mismas razones en el caso de ciertos restos vegetales fósiles (Carmen Diéguez, com. per.). Posteriormente, y antes de la aparición de crecimientos de mohos (fig. 1), se realizará un secado lento de la humedad y una consolidación si es necesario.

Además, estos ejemplares en calizas litográficas y ritmitas no deben recibir luz continuada ni polvo. Ejemplares hallados a principio de siglo en el yacimiento de Ribesalbes han desaparecido prácticamente por no tener en cuenta esto último (fig. 4). La luz es un intenso degradante y el polvo atrapa la humedad ambiente.

El almacenamiento de estos ejemplares debe

realizarse en el interior de cajas de plástico individuales y en oscuridad. Es conveniente eliminar el exceso de matriz rocosa con una pequeña sierra o con una cuchilla. Nunca se aislarán los ejemplares presentes en una misma placa (fig. 5), similares a las "syninclusions" *sensu* Koteja (1996b), ya que se pierden importantes datos tafonómicos y paleoecológicos. Cada ejemplar deberá presentar su sigla escrita sobre la placa de sedimento. Si en una misma placa se presentan varios ejemplares es conveniente rodearlos con un círculo a lápiz y escribir la sigla al lado; la sigla se escribirá con lápiz o con tinta china, nunca con una tinta soluble en agua o alcohol. Es también conveniente que la sigla esté escrita en cada caja individual.

Para la conservación de las cápsulas cefálicas obtenidas de sedimentos lacustres según el método de Hofmann deben deshidratarse en alcohol al 96% y montarse en preparaciones permanentes con euparal (Hofmann, 1988) debido a su fragilidad y para permitir un fácil manejo. Coope (1986) recomienda conservar los restos fósiles, obtenidos de sedimentos glaciares según el método que describe, en alcohol al 70%.

Hemos visto que la metodología de conservación viene determinada por la naturaleza de la matriz en que se encuentra el insecto fósil y por la fragilidad del resto fósil si ha sido aislado de dicha matriz. Por último indicar que la conservación de los ejemplares en colecciones también puede estar determinada por el mineral en que han fosilizado los insectos. Por ejemplo, los especímenes fosilizados en sulfuro de hierro (pirita) de las London Clay, mencionados anteriormente, deben conservarse en el interior de pequeños frascos de cristal con glicerina para evitar su degradación por oxidación (Venables & Taylor, 1962).

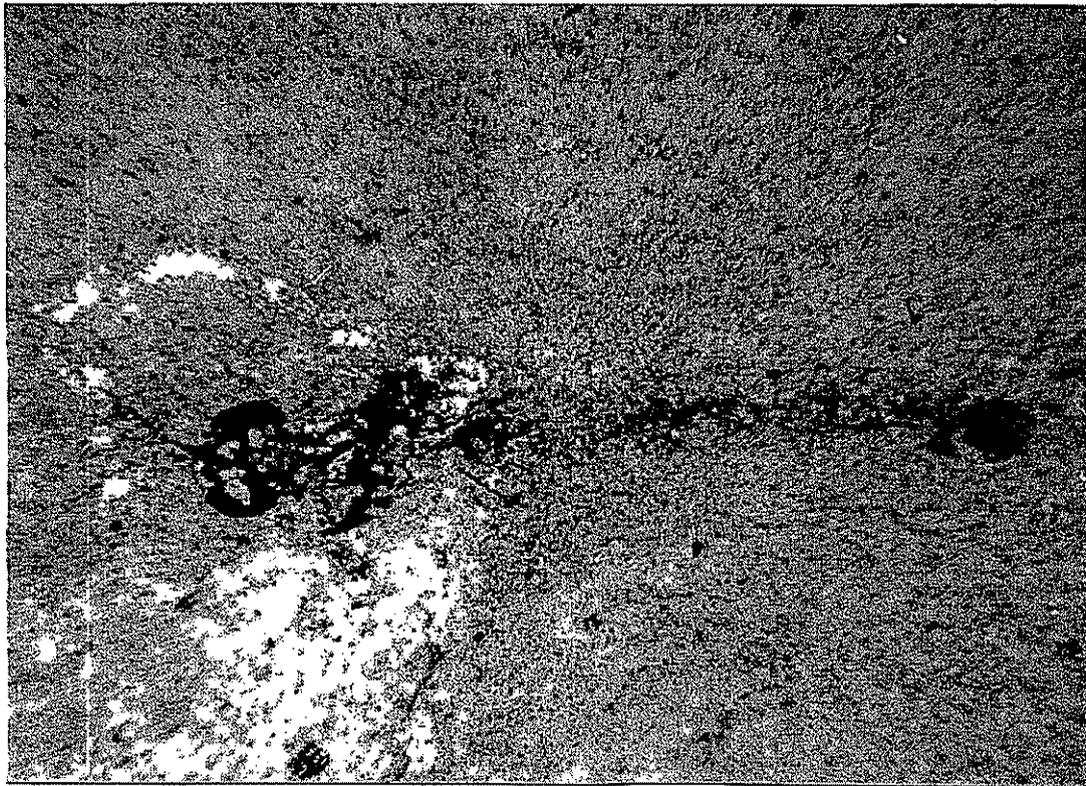
5. Estudio de insectos fósiles.

Existen peculiaridades en el estudio de los insectos fósiles para cada uno de los tipos de yacimientos establecidos en la elaboración de este artículo. No obstante, gran parte de estos métodos de estudio que se utilizan normalmente son comunes a todos ellos.

En primer lugar, ¿estamos realmente estudiando un insecto fósil? Si se estudian insectos fósiles que no han sido hallados directamente por el investigador, y preferentemente si han sido comprados, se debe tener presente la posibilidad de que se trate de falsificaciones. Las falsificaciones más comunes se refieren a supuestos insectos fósiles en ámbar ya que éstos pueden alcanzar un alto precio en el mercado. Normalmente son incluidos insectos actuales en diferentes tipos de sustancias (plásticos, resinas epoxi, resinas actuales de árbol, copal disuelto, etc.), de manera que se imita de forma convincente el ámbar auténtico. Por ejemplo existen muchas falsificaciones de insectos en resinas insaturadas de poliéster supuestamente de ámbar de la República Dominicana o Méjico (Grimaldi *et al.*, 1994). Por ello, es imprescindible realizar un test de autenticidad a los ejemplares; el ámbar auténtico se diferencia de



1921-1926



1995

Figura 4: Fotografía de un ejemplar sintipo de un quironómido fósil de la especie *Nomochirus sampelayoi* (521 Mb, Col. Museo Geominero), perteneciente al yacimiento del Mioceno de Ribesalbes en Castellón, realizada entre 1921-1926 (Gil, 1926) y fotografía a la lupa binocular del estado actual de conservación. Obsérvese como se ha perdido completamente la película carbonosa de las alas y antenas, y parcialmente del resto del cuerpo debido a su exposición a la luz en el interior de una vitrina.

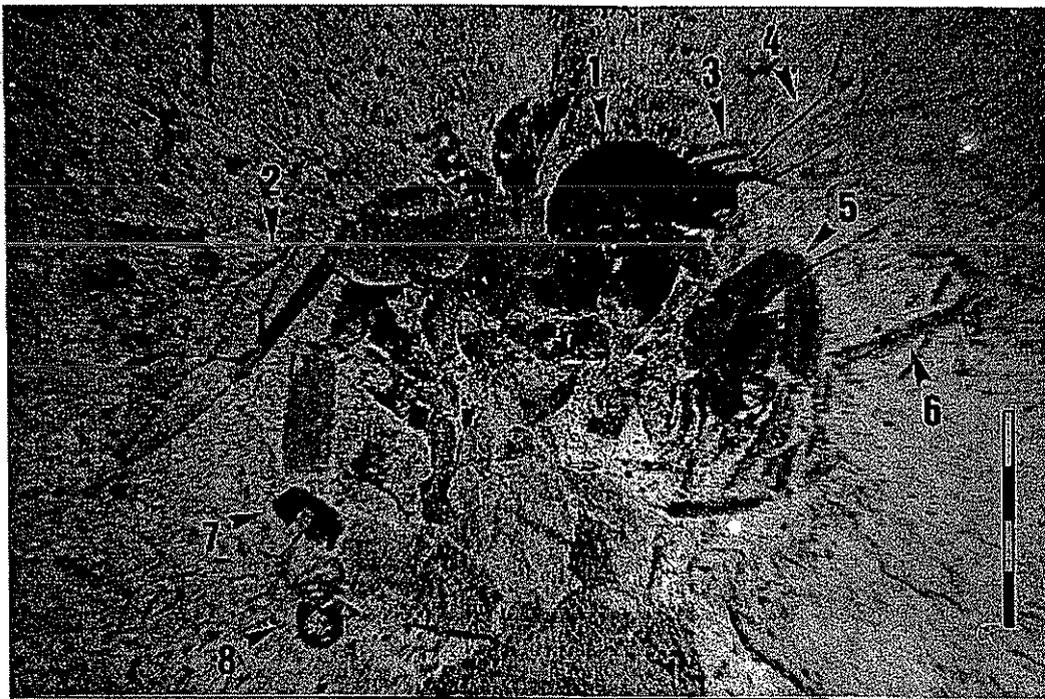


Figura 5: Fotografía a la lupa binocular de un himenóptero apoideo (sigla MPV-1986a-RM; Col. Museo Paleontológico Municipal de Valencia) del afloramiento de "El Porpol" en el Mioceno lacustre de Rubielos de Mora (provincia de Teruel). Obsérvese la profunda desarticulación posdeposicional, con la consiguiente dificultad para estudio. En el mismo nivel en el que ha fosilizado este ejemplar de himenóptero se encuentran gran número de restos de otros insectos, algunos junto al himenóptero. 1) tórax, 2) ala anterior, 3) parte proximal de la 2ª ala anterior que se introduce bajo una capa de sedimento sobre la que se encuentra fosilizada el ala posterior, 4) ala posterior, 5) pata, 6) abdomen de insecto indeterminado, 7) coleóptero indeterminado y 8) cabeza y tórax de un insecto indeterminado. Escala = 4 mm.

la imitación, entre otros aspectos, por (Grimaldi *et al.*, 1994):

- 1) el ámbar y copal auténticos flotan en agua salada, los plásticos se hunden,
- 2) en piezas auténticas se desprende olor resinoso cuando se punza la superficie con una aguja caliente,
- 3) al aplicar unas gotas de etanol, éter o xileno en un fragmento de ámbar auténtico éste no se ablanda debido a su elevada polimerización. El copal se torna pegajoso y el plástico no reacciona tanto como el copal excepto con el éter en algunas ocasiones,
- 4) si se rasca la superficie de la pieza con una cuchilla y se produce un fino polvo blanquecino, entonces nos encontramos ante una falsificación realizada con plástico. El ámbar produce un polvo diferente de color amarillo y el copal produce pequeños jirones que se derriten con el calor,
- 5) al frotar fuertemente una pieza auténtica sobre un paño se produce un ligero olor a resina.

Algunas falsificaciones pueden superar el test anterior por lo que se requiere, para ejemplares de museo e investigación científica, pruebas más precisas. Éstas consisten en el análisis de fragmentos de la matriz de ámbar con las técnicas de cromatografía de pirolysis de gas (PyGC) y espectrografía de masas (MS) y la comparación con cromatografías y espectrografías de ámbar auténtico. Esta técnica permite además conocer la procedencia de los ejemplares ya que cada yacimiento presenta una cromatografía y espectrografía específica de su ámbar.

También es posible conocer la procedencia del ámbar mediante el estudio de las inclusiones e impurezas ya que algunas de ellas, también el tipo de conservación, son características de cada yacimiento (Grimaldi *et al.*, 1994).

Un tipo de falsificación muy difícil de detectar consiste en realizar un hueco en el ámbar auténtico, incluir un insecto actual y rellenar con sustancias que imitan el ámbar. Un ejemplar de mosca estudiado y publicado como perteneciente al ámbar de la República Dominicana resultó posteriormente una de estas falsificaciones (Grimaldi *et al.*, 1994).

También se han realizado falsificaciones de insectos fósiles en calizas litográficas del Cretácico del Brasil (Martínez-Delclòs, com. per.), pero la técnica empleada por los falsificadores todavía no está suficientemente depurada y los insectos actuales difieren enormemente de los del Cretácico. Una de las falsificaciones se detectó al comprobar que el insecto "supuestamente del Cretácico" correspondía a una especie que vive actualmente. No obstante se tendrá que estar en guardia contra posibles futuras falsificaciones de "insectos terciarios" en ritmitas bituminosas.

Pero ¿qué se puede estudiar en un insecto fósil? De un insecto fósil se estudia o se puede estudiar su exoesqueleto fosilizado (incluida la genitalia), estructuras internas, restos de ADN, huevos, exuvias, paleocomportamiento social, locomotor y trófico, el tipo de conservación, etc., con las implicaciones que esto tiene en sistemática, filogenia, paleoecología y tafonomía.

En ámbar las estructuras cuticulares externas se conservan de tal forma que nos parece estar estudiando un insecto actual. En sedimentos laminados observamos, en la práctica totalidad de las ocasiones,

estas estructuras en una sola visión plana; sin embargo, en el Mesozoico de la antigua Unión Soviética no solo se conservan las estructuras del tegumento sino también del endoesqueleto lo que permite especulaciones acerca de la musculatura específica (Arnol'di *et al.*, 1991). En yacimientos de sedimentos no litificados los ejemplares obtenidos consisten en fragmentos del exoesqueleto, generalmente piezas mandibulares, élitros, escleritos, etc. Por otra parte, en raras ocasiones se pueden estudiar restos de órganos internos, como se ha indicado para los insectos fósiles del Mioceno del desierto de Mojave. Además, de insectos fosilizados en ámbar se han detectado los restos más antiguos en el registro fósil de ADN; las laboriosas y delicadas técnicas necesarias para su identificación y para evitar la contaminación por ADN actual pueden consultarse en Poinar & Poinar (1995). El estudio de ADN ribosómico ha sido utilizado para el esclarecimiento de relaciones filogenéticas en dictiópteros (Grimaldi, 1996).

Otras observaciones sorprendentes a partir de insectos fósiles en ámbar corresponden a estudios de paleohistología; se ha observado la conservación de tejidos, células y orgánulos celulares (Poinar, 1992; Poinar & Poinar, 1995; Grimaldi, 1996); esta conservación tiene su origen en la rápida deshidratación de los tejidos de insectos realizada por la resina original. Los estudios más importantes de tejidos así fosilizados corresponden a Henwood (1992a y 1992b). El método para realizar preparaciones al microscopio es la siguiente (según Henwood, 1992a): el insecto fósil se secciona y es incluido en resina Araldite (e.g. Araldite CY212) a 60° C durante 48 horas. Posteriormente se realizan cortes con un ultramicrotomo y se montan en un portaobjetos de malla de cobre. Se tiñen con acetato de uranilo a 60° C alrededor de una hora y luego se sigue con 10 minutos de citrato de plomo según Reynold. Los cortes se examinan con un microscopio electrónico de transmisión. Un método sencillo consiste en fracturar el ejemplar, conjuntamente con el ámbar, y observar los restos del interior, previamente dorados, al microscopio electrónico de scanning (Henwood, 1992b; Grimaldi, 1996).

Uno de los caracteres más utilizados en la sistemática de insectos fósiles conservados en calizas litográficas y ritmitas bituminosas es la nerviación alar. Para unos grupos la nerviación posee un alto valor taxonómico y para otros no, sin embargo la nerviación se conserva generalmente muy bien en el registro fósil, debido a ser estructuras planas, por lo que es muy utilizada en la mayoría de los casos. En los insectos fósiles en ámbar, dada su conservación, se pueden estudiar todos aquellos caracteres externos de interés taxonómico.

Para estudios de paleoetología el registro fósil se muestra muy pobre. La metodología utilizada para el estudio del comportamiento en insectos actuales nada tiene en común con el estudio de algunos casos de insectos fosilizados *in copula*, hormigas obreras transportando pupas conservadas en ámbar, hojas comidas por orugas, pistas de locomoción fosilizadas, interpretación adaptativa/funcional de una estructura fosilizada, etc. En el registro fósil, en el mejor de los

casos, encontramos un comportamiento "congelado" en una única instantánea, como por ejemplo el ya mencionado de las hormigas transportando ninfas y fosilizadas en ámbar.

Para el estudio descriptivo de insectos fósiles es muy conveniente realizar dibujos a cámara clara. Esta técnica, utilizada también para el estudio de insectos actuales, tiene la ventaja de permitir una descripción y clasificación de los restos más precisa y detallada. La observación directa de los insectos fósiles es normalmente muy difícil debido a lo incompleto de los restos y, en muchas ocasiones, a la presencia de restos vegetales, burbujas, roturas, etc. que pueden confundir al observador durante la clasificación. Por otra parte, son muy comunes los ejemplares fosilizados en sedimentos laminados que presentan las alas solapadas; la resolución de la venación alar únicamente es posible mediante la realización de un dibujo a cámara clara (fig. 6). En otras ocasiones los especímenes se presentan fuertemente desarticulados, dificultando la visualización de las diferentes partes (fig. 5). Realizar estos dibujos de insectos conservados "bidimensionales" es relativamente fácil, no así para insectos presentes en ámbar. Si bien estos últimos conservan hasta el mínimo detalle de su estructura externa, la presencia del ámbar y la tridimensionalidad dificultan la realización de los dibujos.

Estamos viendo que un aspecto muy importante en el estudio de insectos fósiles es la conveniente visualización de las estructuras conservadas. Excepto para ciertos subfósiles muy recientes, si incluimos aquí los insectos hallados junto a momias egipcias (Huchet, 1995) u otro tipo de yacimientos arqueológicos, y restos de insectos de los sedimentos glaciares la visualización requiere métodos muy diferentes a los de la neoentomología. Estos métodos varían dependiendo del tipo de yacimiento/ fosilización.

Si bien los insectos en ámbar conservan perfectamente todas sus características externas, la visualización de las mismas no es fácil. La inclusión en ámbar debe prepararse de modo que permita una adecuada visualización. Es importante eliminar el exceso de ámbar alrededor del insecto fósil ya que cuanto mayor sea la distancia entre el insecto y la superficie del ámbar de menor calidad será la visión de éste. El posterior pulido de la superficie es también importante. Si la superficie del ámbar a través de la que se observa el insecto es curva entonces se producen distorsiones de la imagen. Un método sencillo para evitar esto, que no precisa que la superficie este perfectamente pulida y que es totalmente reversible es el presentado por Peñalver (1995); la visualización se realiza a través de un cubreobjetos que contacta con el ámbar, entre ambos se ha colocado aceite de inmersión para microscopía óptica que tiene un índice de refracción similar al del ámbar y al del vidrio.

La visualización del insecto puede verse limitada o prácticamente impedida debido a fracturas internas del ámbar, al color u opacidad del ámbar o a la presencia de gran número de burbujas. La distorsión de la imagen debida a grietas puede aminorarse utilizando diferentes productos, con un

índice de refracción similar al del ámbar, que penetren en la grieta. Un caso especial de estudio de insectos en ámbar lo constituye el realizado en ejemplares del Cretácico de Francia por Schlüter & Stürmer (1982) ya que contiene una enorme cantidad de pequeñas burbujas que impiden la visualización. No obstante, sus insectos fósiles están casi completamente fosilizados en sulfuro de hierro (pirita) lo que permitió a estos autores el estudio mediante radiografías.

Muy distinta es la visualización de insectos fósiles en sedimentos laminados. Las características que se observan en el fósil dependen, entre otros aspectos, del tipo de fosilización junto al tipo de exfoliación de la roca; ambos aspectos determinan la metodología de estudio. Los tipos de fosilización a los que nos referimos son: insectos fósiles conservados en forma de impresión plana y conservando, total o parcialmente, el volumen original.

Si el insecto fósil se conserva como una impresión plana, y atendiendo a su relación con los dos planos de exfoliación o laminación, se pueden dar los siguientes casos:

- 1 - El insecto fósil únicamente se presenta en uno de los planos de exfoliación.
- 2 - Los caracteres ventrales del insecto se conservan en uno de los planos de exfoliación y los caracteres dorsales en el otro plano [ver como ejemplo la conservación del tórax de un ejemplar de *Zygaena* en Fernández-Rubio & Peñalver (1994)]
- 3 - En uno de los planos se conserva el insecto fósil propiamente dicho en forma de película carbonosa (huella) y en el otro plano se conserva una débil impresión del mismo (contrahuella).

Independientemente de la modalidad tridimensional o planar de la fosilización, la materia en que está constituido el insecto fósil (película carbonosa, pirita framboidal/goethita, etc.) puede también quedar repartida entre las dos placas en la exfoliación. En todos los casos se procederá a realizar el estudio complementado con cuantos restos existan del ejemplar (fig. 7).

Además de los casos de conservación referidos anteriormente relacionados con los dos planos de exfoliación, existen tres tipos de conservación que pueden conjugarse con ellos:

- 1 - El insecto se conserva en forma de película carbonosa.
- 2 - Lo que se conserva es una réplica, en la roca, con cierto relieve y que llamaremos impresión.
- 3 - Se tiene una combinación de las dos anteriores.

En el primer caso utilizaremos luz directa y mojaremos el ejemplar con alcohol absoluto para visualizarlo. En el segundo caso utilizaremos únicamente luz tangencial. En el tercer caso el dibujo a cámara clara del ejemplar se realizará utilizando primero una técnica y luego otra, de forma que se reflejarán en el mismo dibujo los caracteres fosilizados

para los dos tipos de conservación (ver fig. 6).

Hemos indicado el empleo de alcohol absoluto para una mejor visualización de los ejemplares conservados como películas carbonosas. El alcohol resalta los caracteres del insecto fósil y transparenta posibles cubiertas de sedimento sobrante. El alcohol no degrada el ejemplar si se utiliza poco ya que rápidamente se evapora al dejar de usarlo, se debe utilizar únicamente para el estudio de los ejemplares y para la realización de fotografías. El alcohol absoluto es totalmente preferible al agua pues proporciona una mejor visión de ejemplar y es mucho menos degradante. El alcohol no debe utilizarse con ejemplares cubiertos por una capa gruesa de barniz o laca ya que puede disolverla parcialmente y volverla semiopaca. Tampoco debe usarse si la película carbonosa está craquelada ya que puede destruirse el insecto fósil (previamente debe comprobarse esta circunstancia y consolidar con antelación si es necesario).

Pero, ¿cómo visualizar las características, por ejemplo la quietotaxia, de insectos tan diminutos como los tisanópteros? Comúnmente se observan los insectos fósiles a la lupa binocular, sin embargo puede ser necesario el empleo del microscopio óptico para insectos de pequeño tamaño o para observar pequeñas estructuras. Normalmente es suficiente el empleo del microscopio óptico con luz reflejada, sin embargo puede ser preciso el empleo de los objetivos de máximo aumento. Peñalver (en prensa) ha puesto a punto un método, modificado a partir del clásico "método de inversión", con el que se aísla de la matriz rocosa al ejemplar completo sobre un cubreobjetos, en vez de un portaobjetos. Las observaciones se realizan con un microscopio óptico normal. Esta metodología es utilizable para ritmitas bituminosas poco litificadas y se ha puesto a punto con ejemplares del Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel). Con este método se han podido observar los tisanópteros fósiles de igual forma que se observan los actuales en preparaciones microscópicas. Por otra parte, los escleritos de coleópteros obtenidos de yacimientos glaciares tradicionalmente se vienen estudiando con la utilización del microscopio electrónico de scanning.

En la Formación Santana, Cretácico de Brasil, los insectos se conservan tridimensionales debido a la acción fosildiagenética de bacterias sulfato-reductoras. En ocasiones la exfoliación de las calizas litográficas de Santana Formation corta longitudinalmente al insecto fósil obteniéndose dos mitades similares, mientras que en otras ocasiones queda en una placa el insecto como contramolde (o huella) y en la otra placa queda la oquedad como molde o contrahuella (Martins-Neto, 1991). En este último caso se podrán estudiar las estructuras externas del cuerpo. La fosilización tridimensional acaecida en la Formación Santana ha sido también observada en el Mioceno de Rubielos de Mora en Teruel (Peñalver *et al.*, 1996a). Por otra parte, en el Mioceno de Izarra (Álava) han sido hallados moldes de insectos en el interior de nódulos (Ariño, 1994). Para el estudio de insectos conservados con cierto volumen original es conveniente la realización de contramoldes de látex. En el Mioceno inferior de Ribesalbes se hallan

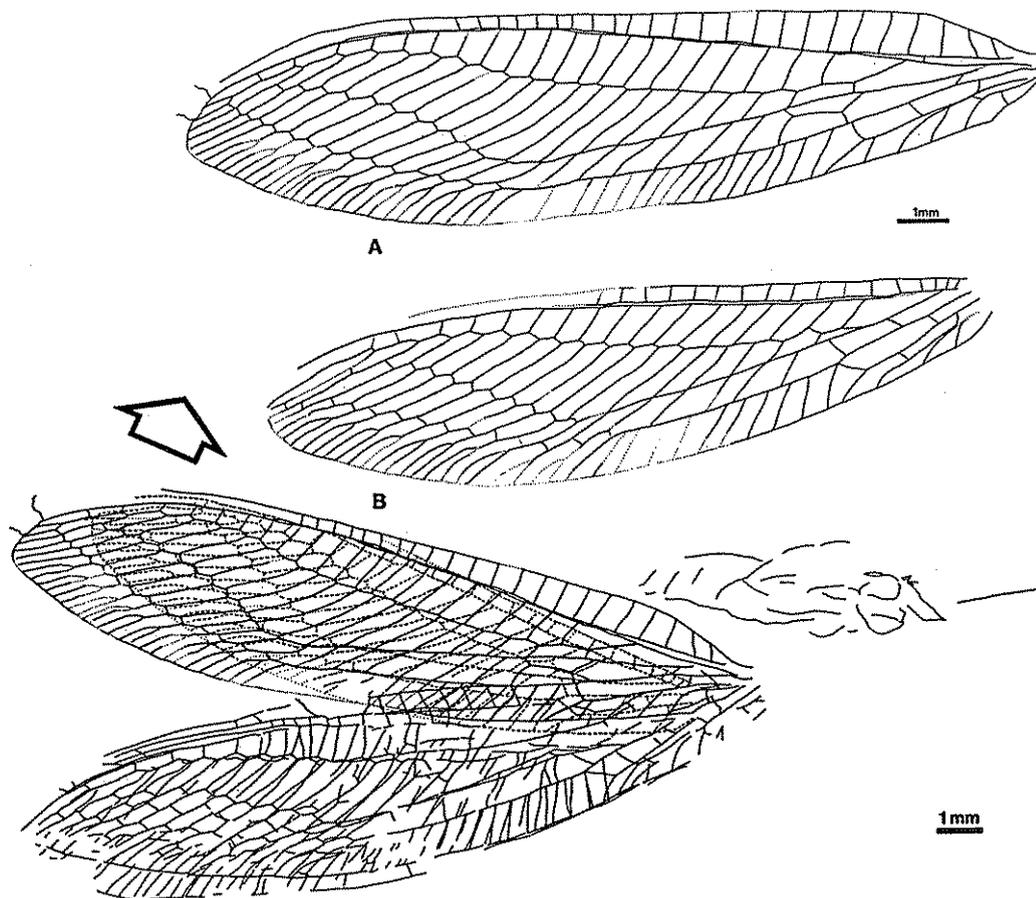


Figura 6: Ejemplo de resolución de la venación alar en un ejemplar con venación abundante y las alas solapadas. El ejemplar se conserva como una combinación de película carbonosa y fino relieve en la roca por lo que para la realización del dibujo a cámara clara se han unido las observaciones con luz directa y luz tangencial. El ejemplar es el holotipo de la especie *Pronothochrysa vivesi*, MNCNI-21642 (Col. Museo Nacional de Ciencias Naturales), con la venación del ala anterior en trazo continuo y la del ala posterior con trazo discontinuo. Arriba se muestran separadas las venaciones del ala anterior (A) y del ala posterior (B) de este crisópido del Mioceno de Ribesalbes (provincia de Castellón); según Peñalver *et al.* (1995).

algunos ejemplares de insectos conservados como impresiones en la superficie de la ritmita bituminosa. En este caso también puede ser conveniente la realización de contramoldes en látex para un adecuado estudio (fig. 8). El método se refiere en el párrafo siguiente.

El látex se disuelve en amoníaco hasta conseguir un fluido no excesivamente líquido. Posteriormente se mezclará con unas gotas de tinta china hasta que se torne de color gris. La superficie del insecto fósil debe estar limpia de polvo y humedecida con agua. Se aplica el látex por un extremo de forma que se expanda cubriendo toda la superficie. El látex normal al secarse pasa de color blanco a translúcido, pero debido a la presencia de tinta china se tornará de color negro. Una vez seco se separa con cuidado del ejemplar. Para poder visualizar los detalles del contramolde de látex se puede utilizar luz tangencial. Sin embargo, para una buena visualización y fotografiado debe impregnarse el contramolde con sublimados de cloruro amónico. También se puede utilizar óxido de magnesio sublimado con buenos resultados (Arillo, 1994). Estos sublimados son de color blanco y se depositarán de forma diferencial en la superficie del contramolde, preferentemente en las porciones que sobresalen, por lo que se obtendrá un espectacular contraste respecto

al contramolde negro (fig. 8). El óxido de magnesio se aplica quemando una barra de magnesio y haciendo pasar el contramolde por la columna de humo desprendida. En ambos casos se puede utilizar un aplicador que dirija los sublimados tangencialmente a la muestra.

En algunas ocasiones pueden utilizarse técnicas especiales como por ejemplo la fotografía infrarroja de color falseado con o sin filtro rojo; esta técnica permite observar caracteres invisibles con otros procedimientos, por ejemplo las manchas alares de un ejemplar de lepidóptero perteneciente al género *Zygaena* del Mioceno de Rubielos de Mora (Fernández-Rubio *et al.*, 1991).

Cuando finalmente son visibles para estudio las estructuras del insecto fósil y hemos realizado un dibujo a cámara clara, los siguientes pasos consisten en la descripción, toma de medidas, comparación y determinación. Las típicas preguntas que se hace un neontólogo que se decide a realizar el estudio de un insecto fósil es: ¿qué debo describir? ¿únicamente aquellos caracteres que describiría en un ejemplar actual del mismo taxon? En el estudio de los insectos fósiles se realiza la descripción detallada de todos los caracteres conservados, tengan importancia para la clasificación o no (por ejemplo morfología y tamaño detallado de cada uno de los artejos de cada par de

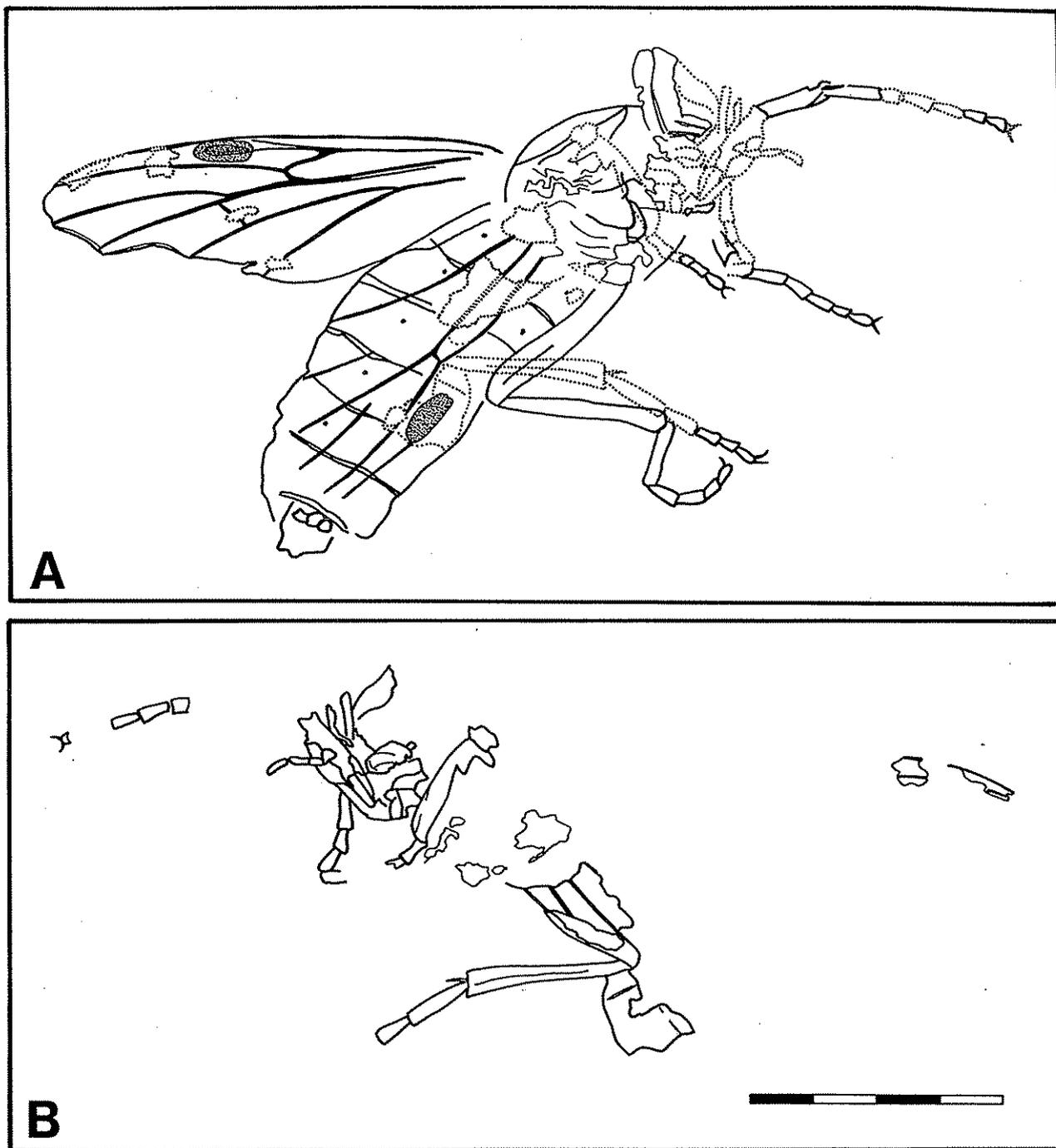


Figura 7: Dibujo a cámara clara de un ejemplar hembra (MPZ-96/222; Col. Museo Paleontológico de Zaragoza) del género *Bibio* (Diptera: Bibionidae) del Mioceno de Rubielos de Mora. El dibujo superior (A) corresponde a la porción conservada en la huella (MPZ-96/222a) completada con la porción conservada en la contrahuella, en trazo punteado. El dibujo inferior (B) corresponde a la porción conservada en la contrahuella (MPZ-96/222b). Escala = 4 mm.

patas); evidentemente esto también depende del objetivo del estudio que se realiza pero siempre debe ser así cuando se establecen nuevos taxones. Una descripción exhaustiva, en la publicación del estudio, es deseable dadas las pocas estructuras originales que llegan conservadas y al hecho de que en muchas ocasiones son restos fragmentarios. La descripción de todos los caracteres facilitará la comparación, por parte de otros estudiosos, con otros restos fósiles, ya

sean caracteres que actualmente se utilizan en sistemática o no.

En la descripción de la morfología y en la toma de medidas debe tenerse en cuenta que esta descripción es estimativa debido a la deformación por aplastamiento que han experimentado los restos. A esta deformación por compactación de los sedimentos, en ocasiones se añade una deformación tectónica como es el caso de los insectos fósiles del yacimiento del

Mioceno de Ribesalbes (ver fig. 9). Es interesante destacar que la deformación tectónica es propia de yacimientos de sedimentos laminados ya que no se observa en sedimentos de origen glaciario y raramente en ámbar (una excepción la constituye la deformación presente comúnmente en los insectos del ámbar de Chiapas en Méjico). En paleontología se han propuesto diversos métodos de retrodeformación de ilustraciones de ejemplares fósiles y de este modo permitir un estudio más exacto de la morfología original. Otro método consiste en realizar moldes deformables.

Para el estudio de insectos fósiles relativamente recientes (Eoceno-Cuaternario) se deben realizar comparaciones con insectos actuales mediante la consulta de bibliografía neontológica o de colecciones de comparación. En cualquier caso, debe realizarse una comparación con el registro fósil conocido, del taxon en estudio, mediante la consulta de bibliografía paleontológica. Lejos de ser escasa, esta bibliografía paleontológica sobre insectos fósiles se estima que puede alcanzar las 20.000 referencias, siendo más de 30.000 las especies fósiles de insectos descritas (Martínez-Delclòs, 1996).

Como consecuencia de la naturaleza de los fósiles, el establecimiento de especies paleontológicas contempla ciertos criterios muy diferentes al establecimiento de especies actuales. El desconocimiento de la idiosincrasia de la especie paleontológica tiene como consecuencia la incomprensión por parte de los taxónomos de organismos actuales. Lo primero que se debe tener presente es que en paleontología se trabaja con lo que se obtiene del registro fósil, ni más ni menos. A continuación se muestran algunos ejemplos extremos del tipo de restos fósiles obtenidos de los yacimientos y con los que debe trabajar el paleontólogo: trazas realizadas sobre un sedimento ahora convertido en roca, un único y raro ejemplar o unos pocos ejemplares mal conservados de una misma forma de insecto, un fragmento de un ala, únicamente los élitros de una misma forma de coleóptero, muchos ejemplares de carcajes de tricóptero pero sin que se puedan relacionar con ejemplares pupales o adultos, etc. A partir de restos fósiles como los anteriores, el paleontólogo puede encontrar razones para el establecimiento de una nueva especie fósil de insecto. Sería impensable para un neontólogo establecer una especie nueva únicamente con un fragmento de ala conocido. Si se aplicasen en paleontología los mismos criterios que deben contemplarse para el establecimiento de una nueva especie actual, nos encontraríamos con muy pocas especies fósiles existentes y con una enorme dificultad para conocer la historia evolutiva de los insectos, sobre todo durante el Paleozoico y el inicio del Mesozoico. Se trata de una cuestión puramente práctica, y por la misma razón no se exige conocer todas las formas diferentes del ciclo biológico de un insecto actual para establecer una nueva especie. Afortunadamente, en otras ocasiones, el registro fósil para una forma de insecto es muy abundante y/o está bien conservado con lo que el establecimiento de una nueva especie fósil se realiza con gran lujo de detalles. Lo referido anteriormente para las especies fósiles también acontece para otros

niveles taxonómicos como género, subfamilia, familia, etc.

Además, podemos encontrar en la bibliografía el establecimiento de un nuevo género y especie de insecto fósil siendo la familia incierta. En otros casos puede establecerse una nueva familia siendo incierto el orden. Estos casos son extremos y corresponden a ciertos restos fósiles de insectos del Paleozoico o del Mesozoico. No debe pensarse que el orden o la familia son inciertos debido a una conservación precaria de estos restos; por el contrario, suelen corresponder a ejemplares muy bien conservados pero con características morfológicas extraordinarias y difícilmente interpretables.

Es muy común que la determinación de los ejemplares de insectos fósiles no pueda realizarse hasta el nivel de especie y con total certidumbre; en ocasiones las determinaciones únicamente alcanzan hasta el nivel de familia o subfamilia. Es por esto que está muy extendido el uso de la nomenclatura abierta, pese a no estar contemplada por el Código de Nomenclatura Zoológica. La nomenclatura abierta se utiliza mucho más comúnmente en paleontología que en neontología. En esta nomenclatura se utilizan preferentemente las partículas *sp.*, *aff.* o *cf.*, según las siguientes situaciones (Bengtson, 1988):

sp. (abreviatura de *species*); indica que el ejemplar no puede ser relacionado con una especie ya establecida o que por su conservación no permite la clasificación a nivel de especie (por ejemplo *Bibio sp.*).

aff. (abreviatura de *affinis*); indica que se considera que el espécimen o especímenes corresponden a un nuevo taxon pero el material es insuficiente para establecerlo; sin embargo, sí pueden relacionarse estrechamente con un taxon ya establecido (por ejemplo *aff. Bibio sp.*, para un nuevo género, o *Bibio aff. intima* para una nueva especie del género *Bibio*).

cf. (abreviatura de *confer*); indica que la determinación es incierta, debido a la conservación del ejemplar, o que se trata de una determinación provisional (por ejemplo *cf. Bibio sp.*, si la determinación del género es incierta, y *Bibio cf. intima* si la determinación de la especie es incierta).

Por último nos preguntaremos, ¿para qué el estudio de los insectos fósiles? Aparte de un estudio de los insectos fósiles *per se*, éstos nos aportan valiosos datos paleogeográficos, paleoclimáticos, paleoecológicos y del paleoambiente. Estas inferencias las podremos obtener teniendo en cuenta variados aspectos de los representantes actuales de los taxones presentes en el registro fósil de un yacimiento. Las inferencias anteriores y la identificación de las estructuras morfológicas de los insectos fósiles pasa por el conocimiento de los procesos que han ocurrido desde que el insecto vivía, hace cientos de millones de años o unos cuantos miles de años, hasta que estudiamos sus restos en el laboratorio. La ciencia que estudia esta serie de procesos se denomina Tafonomía. Por otra parte, el estudio tafonómico de la

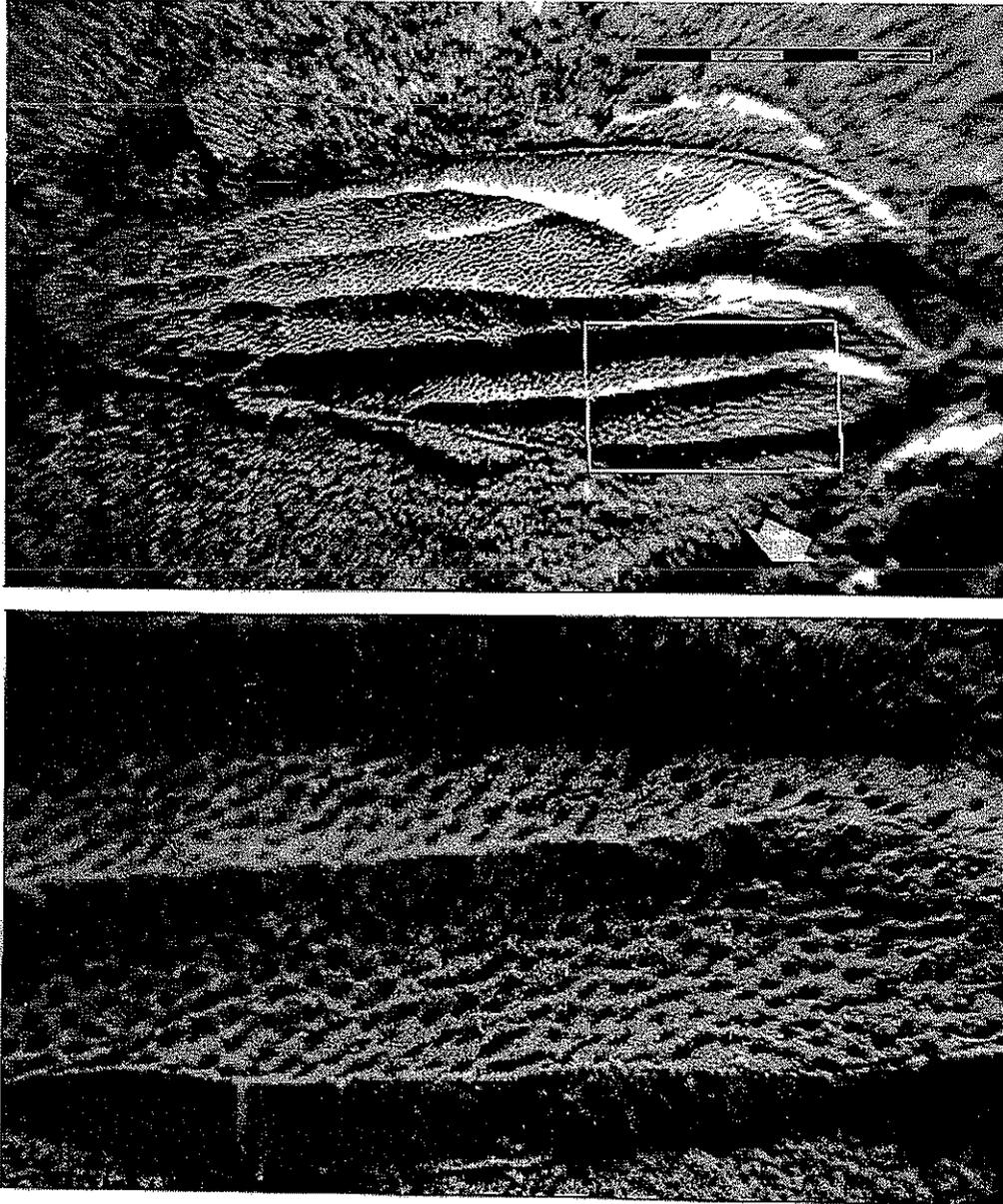


Figura 8: Fotografía a la lupa binocular de una réplica en látex, cubierta con un sublimado de cloruro amónico, de la tegmina de un ejemplar de homóptero del género *Aphrophora* (familia Aphrophoridae) del Mioceno lacustre de Ribesalbes (provincia de Castellón). Bajo se muestra en detalle las micropuntuaciones de la superficie de la tegmina. Ejemplar original MSV 189 (Col. particular de Manuel Saura). Escala = 4 mm.

conservación de organismos tan delicados como los insectos nos aportará datos sobre las características del medio en el que ha muerto el insecto, del medio en el que ha sido transportado y del medio de enterramiento. Una metodología adecuada para el estudio de los aspectos tafonómicos consiste en la realización de experimentos actualísticos. Así, para conocer los procesos bioestratinómicos implicados en la muerte de los insectos sobre la superficie del agua de los paleolagos, su hundimiento y su descomposición se han realizado experimentos y observaciones de insectos actuales en medios similares (Martinell & Martínez-Delclòs, 1990; Martínez-Delclòs & Martinell, 1993). En definitiva, es un estudio basado en los mismos fundamentos que los

estudios forenses, se trata de conocer las circunstancias que rodearon la muerte y alteración de un cuerpo muerto.

Es mucha la información que se puede obtener del estudio de insectos fósiles con una adecuada metodología. En ocasiones el tipo de información que pueden proporcionar es insospechada. Por ejemplo, en niveles con gran número de ejemplares pueden medirse orientaciones para conocer si existían paleocorrientes en el medio de deposición. La determinación de paleocorrientes, a gran escala o a baja escala, es muy importante en los estudios geológicos. Para abordar este estudio a partir de insectos fósiles deben contemplarse dos aspectos:

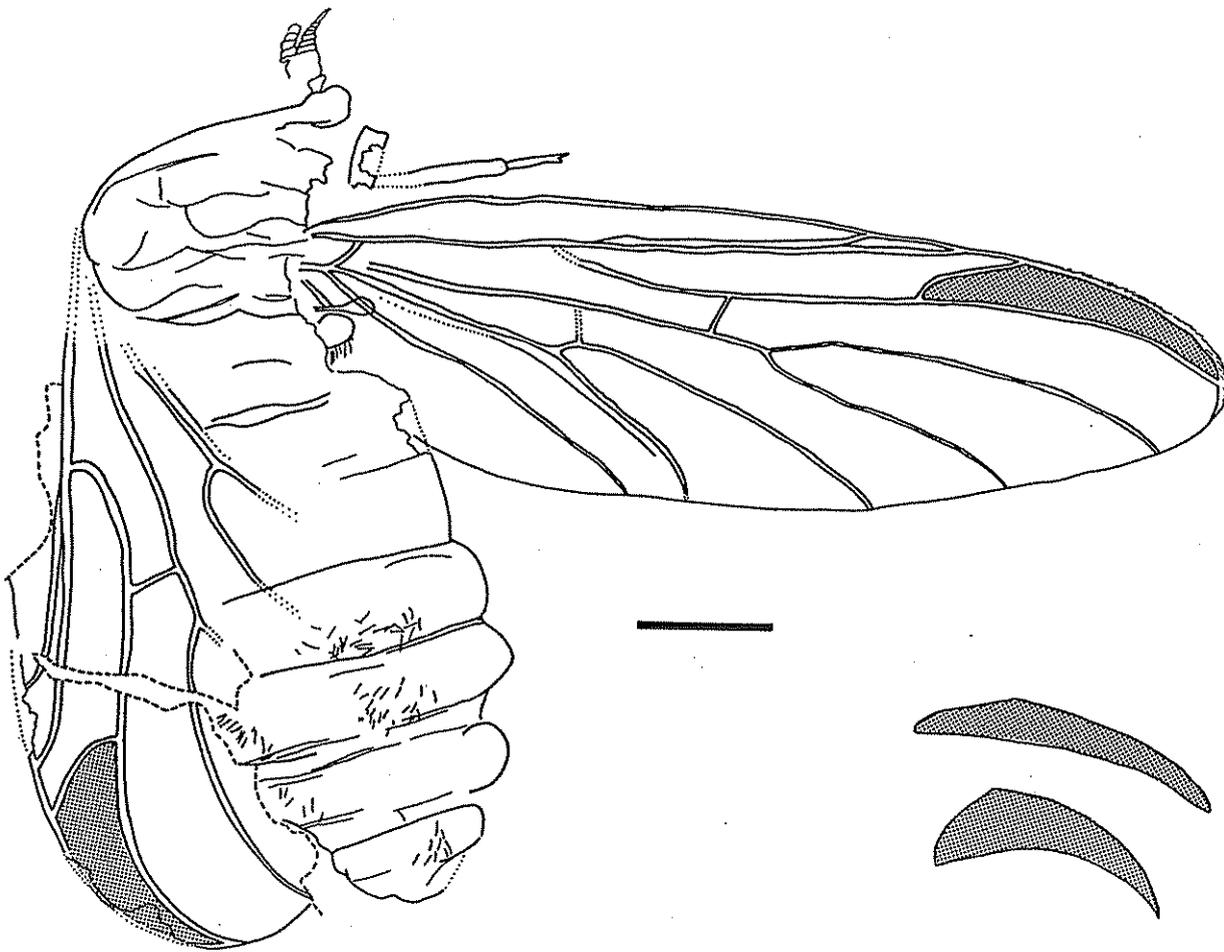


Figura 9: Dibujo a cámara clara de un ejemplar (MSV 187; Col. Manuel Saura) de *Plecia* sp. (Diptera: Bibionidae) del Mioceno de Ribesalbes. Se muestra oscurecida el área de la celda radial r_{2+3} de las dos alas para visualizar mejor la distorsión producida en el ejemplar por la deformación tectónica. Ambas áreas eran idénticas en el bibiónido original. Las diferencias entre las dos alas es muy elevada debido a su distinta orientación con respecto al eje de la deformación tectónica. Escala = 1 mm.

- El número mínimo de ejemplares orientables que debe tener un nivel viene determinado por el tipo de análisis estadístico que se realice para conocer si la distribución de las orientaciones es al azar o si existe una orientación preferente.

- Deben realizarse experimentos de tipo actualístico, con insectos actuales de taxones lo más cercanos a los taxones de los fósiles, para determinar si la morfología de ese tipo de insectos permite la orientación de los cuerpos por una corriente de agua.

Un estudio de estas características, realizado para epítopos fósiles de *Daphnia* pero cuyo método puede aplicarse para el registro de insectos fósiles, puede consultarse en Peñalver *et al.* (1996b). Por otra parte, un estudio erróneo de orientaciones que no ha tenido en cuenta los aspectos comentados anteriormente es Martins-Neto (1996); en esta ocasión

se ha realizado para insectos fósiles, concretamente ninfas de Efemeróptera del Cretácico inferior de Brasil.

Sin embargo, tan importante o más que todas las razones anteriores, el estudio de insectos fósiles nos proporciona una valiosa información sobre la sistemática, filogenia y evolución del grupo de los insectos.

Agradecimientos

A Miguel Pardo del Dpto. de Geología de la Universitat de València por sus comentarios sobre la realización de contramoldes de látex. A los Drs. André Nel y Xavier Martínez Delclòs por su ayuda en la obtención de bibliografía. Al Dr. Plinio Montoya por la lectura crítica del manuscrito.

Bibliografía

- ARILLO, A. 1994.-Nota sobre una larva de Odonato del Oligoceno de Izarra (Alava, España) en la colección del Museo Geominero (Odonata, Anisoptera, Libellulidae). *Boletín Geológico y Minero*, 105 (4): 325-328.
- ARNOL'DI, L.V.; ZHERIKHIN, V.V.; NIKRITIN, L.M. & PONOMARENKO, A.G. 1991.-*Mesozoic Coleoptera*. V.S. Kothekar (Ed.), Universal Book Services: 285 pp.
- BENGTSON, P. 1988.-Open nomenclature. *Palaeontology*, 31: 223-227.
- BORKENT, A. 1995.-Biting midges in the Cretaceous amber of North America (Diptera: Ceratopogonidae). Backhuys Publishers: 237 pp. Leiden.
- COOPE, G.R. 1986. Coleoptera analysis. In Berglund, B.E. (ed.), *Handbook of Holocene Palaeoecology and Palaeohydrology*: 703-713.
- ELIAS, S.A. 1983.-Paleoenvironmental interpretations of Holocene insect fossil assemblages from the La Poudre Pass site, northern Colorado from Range. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 41 (1983): 87-102.
- ELIAS, S.A. 1994.-*Quaternary insects and their environments*. P. Strupp (Ed.), Smithsonian Institution Press: 284 pp.
- FERNÁNDEZ-RUBIO, F. & PEÑALVER, E. 1994.-Un nuevo ejemplar fósil de *Zygaena? turolensis* Fernández-Rubio, Peñalver & Martínez-Delclòs, 1991 (Lepidoptera, Zygaenidae). *Estudios Museo Ciencias Naturales de Alava*, 9: 39-48.
- FERNÁNDEZ-RUBIO, F.; PEÑALVER, E. & MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. 1991.-*Zygaena? turolensis*, una nueva especie de Lepidoptera Zygaenidae del Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel). Descripción y filogenia. *Estudios Museo Ciencias Naturales de Alava*, 6: 77-93.
- FREGENAL-MARTÍNEZ, M.A.; MELÉNDEZ, N. & RASSKIN-GUTMAN, D. 1995.-Methodology of excavation, In: Las Hoyas. A lacustrine Konservat-Lagerstätte. Cuenca, Spain. *Field trip guide book. II International Symposium on Lithographic Limestones*: 17-20.
- GRIMALDI, D.A. 1993.-The care and study of fossiliferous amber. *Curator*, 36: 31-49.
- GRIMALDI, D.A. 1996.-Atrapados en ámbar. *Investigación y Ciencia*. junio de 1996: 66-73.
- GRIMALDI, D.A.; SHEDRINSKY, A.; ROSS, A. & BAER, S. 1994.-Forgeries of fossils in "amber": history, identification and case studies. *Curator*, 37 (4): 251-274.
- HAENNI, J.-P. & DUFOUR, CH. 1992.-*L'ambre de la Baltique dans la mythologie, l'histoire, l'artisanat, la médecine et l'industrie*. (J.-P. Haenni & Ch. Dufour Eds.). Musée d'histoire naturelle de Neuchâtel: 33 pp.
- HEIE, O.E. 1967.-Studies on fossil aphids (Homoptera: Aphidoidea), especially in the Copenhagen collection of fossil in Baltic amber. *Spolia Zool. Musei Hauniensis*, 26: 274 pp. Copenhagen.
- HENWOOD, A.A. 1992a.-Excepcional preservation of dipteran flight muscle and the taphonomy of insects in amber. *Palaios*, 7: 203-212.
- HENWOOD, A.A. 1992b.-Soft-part preservation of beetles in tertiary amber from the Dominican Republic. *Palaeontology*, 35 (4): 901-912.
- HOFMANN, W. 1988.-The significance of chironomid analysis (Insecta: Diptera) for paleolimnological research. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 62 (1988): 501-509.
- HUCHET, J.B. 1995.-Insects et momies égyptiennes. *Bulletin de la Société linnéenne Bordeaux*, 23: 29-39.
- KOTEJA, J. 1991.-Embedding of amber inclusions in Canada balsam. *Prace Museum Ziemi*, 41: 162-163.
- KOTEJA, J. 1996a.-Beware of oil. *Inclusion-Wrostek*, 22: 15-17.
- KOTEJA, J. 1996b.-Syninclusions. *Inclusion-Wrostek*, 22: 10-12.
- LAPAGE, B.A. & BASINGER, J.F. 1993.-The use of lacquer (nitrocellulose) for the coating and preservation of fossil leaf compressions. *Journal of Paleontology*, 67 (1): 128-134.
- MARTINELL, J. & MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. 1990.-Observaciones de laboratorio sobre la flotabilidad de los insectos. *Comunicaciones de la I Reunión de Tafonomía y Fosilización*: 201-209. Madrid.
- MARTINELL, J.; RUIZ DE LOIZAGA, M.J. & DOMÈNECH, R. 1991.-El mètode paleontològic i les seves limitacions. Aplicació al jaciment de "La Cabrua" (Montsec, Catalunya, Espanya). In: Institut d'Estudis Ilerdencs (Ed.) *Catalunya litogràfiques del Cretaci del Montsec. Deu anys de campanyes paleontològiques*: 45-50. Llérida.
- MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. 1996.-El registro fósil de los insectos. *Boletín de la Asociación española de Entomología*, 20 (1-2): 9-30.
- MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. & MARTINELL, J. 1993.-Insect taphonomy experiments. Their application to the Cretaceous outcrops of lithographic limestones from Spain. *Kaupia. Darmstädter Beiträge zur Naturgeschichte*, 2: 133-144.
- MARTINS-NETO, R.G. 1991.-Sistemática dos Ensifera (Insecta, Orthopteroidea) da Formação Santana. Cretáceo inferior do Nordeste do Brasil. *Acta Geologica Leopoldensia*, 14 (32): 5-162.
- MARTINS-NETO, R.G. 1996.-New mayflies (Insecta, Ephemeroptera) from the Santana Formation (Lower Cretaceous), Araripe Basin, northeastern Brazil. *Revista Española de Paleontología*, 11 (2): 177-192.
- PALMER, A.R. 1957.-Miocene Arthropods from the Mojave Desert California. *Geological Survey professional paper*, 294 (G): 237-277. 5 láms.
- PEÑALVER, E. (en prensa).-Insectos fósiles en el Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel). Memoria de la excavación paleontológica de septiembre de 1994. *Teruel*.
- PEÑALVER, E. 1995.-Insectos dípteros (Diptera: Keroplatidae y Scatopsidae) en el ámbar de la República Dominicana. *Cidaris*, 4 (7): 55-65.
- PEÑALVER, E. & MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. 1996.-Niveles con concentraciones de insectos chironómidos en el Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel) y Ribesalbes (Castellón): consideraciones tafonómicas y paleoecológicas. *Comunicaciones de la II Reunión de Tafonomía y Fosilización*: 305-310. Zaragoza.
- PEÑALVER, E.; DE RENZI, M.; MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. & QUEROL, X. 1996a.-Actividad fosildiagnética de bacterias sulfato-reductoras en dípteros biónidos del Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel, España). Un caso de fosilización diferencial. *Comunicaciones de la II Reunión de Tafonomía y Fosilización*: 299-303. Zaragoza.
- PEÑALVER, E.; MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. & DE RENZI, M. 1996b.-Registro de pulgas de agua [Cladocera: Daphniidae: *Daphnia (Ctenodaphnia)*] en el Mioceno de Rubielos de Mora (Teruel, España). *Comunicaciones de la II Reunión de Tafonomía y Fosilización*: 311-317. Zaragoza.
- PEÑALVER, E.; NEL, A. & MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. 1995.-New Nothochrysinæ from the Spanish Miocene (Neuroptera, Chrysopidae). *Bulletin de la Société entomologique France*, 100 (5): 481-487.
- PIETRZAK, T. 1984.-Methods of amber exploitation. In: Amber in Nature. Guide and catalogue of the exhibition. *Polish Academy of Sciences-Museum of the Earth*: 49-54. Warsaw.
- PIKE, E.M. 1993.-Amber taphonomy and collecting biases. *Palaios*, 8: 411-419.
- POINAR, G.O. 1992.-*Life in amber*. Stanford University Press: 350 pp.
- POINAR, G.O. & POINAR, R. 1995.-*En busca de la vida en el ámbar*. Addison-Wesley Iberoamericana: 195 pp.
- RUIZ DE LOIZAGA, M.J. & MARTÍNEZ-DELCLÒS, X. 1990.-Prospección paleontológica en "La Cabrua" (Montsec). *Actas de Paleontología*, Acta Salmanticensis, 68 (3): 325-329.
- SCHLÜTER, T. & STÜRMER, W. 1982.-X-ray examination of fossil insects in Cretaceous amber of N.W. France. *Annals Société entomologique France (N.S.)*, 18: 527-529.
- SZADZIEWSKI, R. 1988.-Biting midges (Diptera, Ceratopogonidae) from Baltic amber. *Polskie Pismo Entomologiczne*, 58: 283 pp.
- VENABLES, E.M. & TAYLOR, H.E. 1962.-An insect fauna of the London Clay. *Proceedings of the Geologists' Association*, 73: 273-279.
- VOISIN, J.-F. & NEL, A. 1993.-Un *Lixus* fossile du Miocène français (Coleoptera, Curculionidae). *Bulletin de la Société entomologique de France*, 98 (1): 19-21.