

## PREPARACION DE GENITALIAS DE INSECTOS

Tomás Yélamos\*

\* c/.Valencia, 109, 3º 1ª ; 08011 BARCELONA (ESPAÑA)

Cada entomólogo tiene sus especiales predilecciones a la hora de preparar el material recolectado en el campo. Los hay que son extremadamente meticulosos en la preparación y en el montaje, vertiendo también un notable esfuerzo para la uniformización de la colección con un sentido estético (cajas, etiquetas, etc.). En el otro extremo se hallan los que valoran el tiempo dedicado a la preparación y a su estética, como tiempo perdido que dejan de dedicar al estudio del material. Tanto si nos situamos más próximos a uno u otro extremo, todos seguramente coincidiremos en considerar que la preparación de las piezas de lo que habitualmente llamamos como genitalias, es un punto tan inevitable como engorroso o difícil de nuestro trabajo entomológico. También en este aspecto, cada uno tiene su predilección por seguir una determinada metodología. Debe puntualizarse que cada grupo de insectos tiene unas necesidades metodológicas ligeramente diferentes que dependen de su particular morfología y tamaño.

Las orientaciones que aquí se expresan están basadas en la experiencia personal en Coleópteros Histéricos, familia que cuenta con especies de tamaño mediano o pequeño (longitud entre 0,5 y 15 mm), con tegumentos muy duros, de forma generalmente bastante convexa y genitalia proporcionalmente grande en relación a la longitud corporal. Estas cuestiones son muy determinantes para el trabajo con las genitalias.

Es evidente que siempre será más fácil trabajar con material fresco, recién capturado, en lugar de material procedente de antiguas colecciones. También generalmente resulta más sencillo trabajar con material conservado en alcohol de 70º o en otros productos tales como el *Mercryl laurilé* (producto comercial ampliamente utilizado para higiene dermatológica), pero de duración limitada. Una de las grandes ventajas que presentan estos medios de conservación líquidos es que frecuentemente los insectos quedan con la genitalia fuera del cuerpo, lo cual facilita notablemente el trabajo de extracción de sus piezas. Por el contrario, para los insectos de colores o con grandes alas (Odonatos, Lepidópteros, Neurópteros, etc.) evidentemente estos medios de

conservación no son apropiados.

Si el material a estudiar estuviera seco, será indispensable proceder a su rehidratación, que puede efectuarse por simple ebullición en agua destilada durante unos minutos. Cuando se requiera efectuar numerosas genitalias, cada insecto se puede colocar dentro de un tubito de vidrio con un número (otro número idéntico lo adheriremos a la etiqueta donde estaba antes montado, así evitaremos confusiones) y tapado con algodón. Los tubitos con el material se deben colocar dentro de un recipiente (p. e., vaso de precipitados) con agua y colocarlo sobre una fuente de calor poco intensa. Esto también puede realizarse perfectamente con unas pequeñas estufas eléctricas de temperatura regulable que disponen de múltiples orificios donde se colocan los tubitos.

Para el estudio de la espermateca femenina a partir de material seco, algunos autores extraen el abdomen y lo hierven en una solución acuosa de hidróxido potásico al 15% (VAZQUEZ, 1993). Con este tratamiento aumenta notablemente el volumen de todo el abdomen y así se puede estudiar bien el aparato reproductor. Después deberá teñirse con negro de clorazol y colocarlo en glicerina o en líquido de Hoyer glicerinado. Otros autores (MARZO & VIENNA, 1982) hierven primero el insecto tal como se realiza para efectuar la extracción de la genitalia. Después se separa el extremo del abdomen y se vuelve a hervir en una mezcla de glicerina y ácido acético (3:1) hasta obtener una correcta hidratación.

Para efectuar la extracción de la genitalia puede resultar útil colocar el insecto en una gota de agua, especialmente si se trata de material de pequeñas dimensiones o bastante convexo, lo cual reduce la posibilidad de que el insecto salte al intentar manipularlo.

El material que se utiliza para realizar la disección debe ser acorde con las características del animal: pinzas de acero, suaves, de extremo finísimo, microbisturries, tijeras de extremo finísimo, agujas enmangadas de acero, con el extremo finísimo, acodado o curvado, etc. También hay quien se confecciona el propio material de disección. No obstante, en el comercio especializado existe una amplia gama de material de precisión que a buen

seguro se adaptará a las necesidades de cada especialista.

La zona por donde procederemos a extraer la genitalia dependerá de cada insecto. Si bien habitualmente se extrae por la parte ventral, en ocasiones resulta muy efectivo realizarlo a través de los terguitos, especialmente cuando éstos no son muy esclerificados. Se extrae con una aguja enmangada con el extremo curvado. En algunos grupos, se extrae todo el abdomen y se trabaja con esta parte separada del cuerpo.

Después de la extracción se debe proceder al aclaramiento con alguna sustancia que pueda eliminar selectivamente las partes musculares y las grasas, sin actuar sobre las partes quitinosas, haciéndolas más visibles. Tradicionalmente se ha venido utilizando el hidróxido potásico en solución acuosa al 10% (algunos autores prefieren el uso de KOH más diluido, por ejemplo al 5%, lo cual permite dominar mejor el procedimiento por ser de acción más lenta), generalmente utilizado en caliente. No obstante, este producto ahora es menos utilizado, pues debido a su elevado poder corrosivo, a menudo destruye estructuras interesantes (sedas, membranas, etc.), así como el material de trabajo. Al no controlar bien el tiempo de actuación del KOH a una determinada temperatura, destruye también partes esclerificadas. Otro producto muy utilizado en su lugar es el lactofenol de Amann (compuesto de glicerina, fenol, ácido láctico y agua destilada), así como el benzoato de metilo. Tanto el fenol como el benzoato de metilo son productos con demostrados efectos cancerígenos. Ultimamente se ha venido utilizando con gran éxito un producto comercialmente conocido como *Genitase*. Se trata de un enzima proteolítico que actúa selectivamente sobre las partes no quitinosas, obteniéndose unas preparaciones de gran calidad, especialmente aconsejable para genitales frágiles y complejas. Con este enzima las partes esclerificadas son notablemente realzadas.

Según el grado de esclerificación de las piezas, puede ser interesante efectuar una tinción. Las genitales poco quitinizadas, las espermatecas y el conjunto del aparato reproductor pueden teñirse con un colorante específico de la quitina, como es el negro de clorazol (1%); el tiempo de tinción depende de las características del material a teñir, oscilando entre pocos minutos y varias horas. Algunos autores utilizan con éxito la fucsina de Ziehl (fucsina básica, alcohol absoluto y agua fenicada) o la eosina acuosa (1:100). Estas tinciones acostumbra a tener una rápida acción y es frecuente tener una sobretinción. Se puede resolver con inmersión de la pieza en etanol de 90° o 95° durante unos segundos y posterior lavado en agua.

El montaje de las piezas puede realizarse en portaobjetos excavados o bien en etiquetas de cartulina o de plástico, junto al propio insecto. Dependiendo del tamaño y de la complejidad de la pieza, se debe

optar por uno u otro sistema, según sea o no necesario utilizar microscopio de bastantes aumentos para su estudio. En lugar de utilizar los portaobjetos excavados, se pueden recortar pequeños trozos de lámina fina de plástico con un orificio central que puede hacerse con una simple perforadora de papel, uniéndolos con cola apropiada sobre un portaobjetos normal.

En entomología se ha utilizado mucho el líquido de Hoyer (goma arábica, hidrato de cloral y agua destilada) y el líquido de Berlèse (hidrato de cloral, goma arábica, glucosa, ácido acético y agua destilada), si bien al secarse se disgregan, pudiendo destruirse la genitalia. Se ha probado con gran éxito el uso del líquido de Hoyer glicerinado (también llamado líquido de Faure). Al secarse adquiere consistencia gelatinosa, sin llegar a un endurecimiento perjudicial para las piezas. Además, al cabo de años se pueden mover o extraer, simplemente añadiéndole una gota de agua con un pincel. Tanto su buen índice de refracción como su fácil solubilidad en agua, le hacen un producto muy recomendable. El bálsamo del Canadá ha sido poco utilizado en entomología, sobre todo a causa de su insolubilidad en agua, lo cual obliga a largas y complejas deshidrataciones en alcohol de diferentes graduaciones y de xileno. Actualmente se está utilizando mucho el DMHF (dimetil hidantoína formaldehído). Se trata de una resina sintética hidrosoluble, con índice de refracción 1,45 en disolución acuosa. El material no requiere ninguna preparación especial. Puede colocarse directamente en DMHF, secándose y polimerizándose rápidamente, siendo totalmente transparente y se puede usar tanto sobre portaobjetos como sobre etiquetas. No se forman burbujas y la rehidratación es bastante rápida, especialmente con agua tibia (ANGUS, 1969 y 1970).

Algunos entomólogos tienen por separado la colección de genitales en portaobjetos. A menudo, esa colección se limita a unos pocos ejemplares de cada especie que se conservan así como base de estudio y comparación. En cambio, las genitales de rutina para comprobar la determinación de una especie, siempre será más conveniente tenerlas junto al propio insecto.

## REFERENCIAS

- ANGUS, R.B., 1969. Revisional notes on *Helophorus* F. (Col., Hydrophilidae). 1.- General Introduction and some Species resembling *H. minutus* F. *Ent. Mon. Mag.*, 105: 1-24.
- ANGUS, R.B., 1970. A revision of the beetles of the genus *Helophorus* F. (Coleoptera: Hydrophilidae). Subgenera *Orphelophorus* d'Orchymont, *Gephelophorus* Sharp and *Meghelophorus* Kuwert. *Acta Zool. Fenn.*, 129, 62 pp.
- MARZO, L. & VIENNA, P., 1982. Studio morfologico della spermateca in Coleotteri Isteridi, con particolare attenzione alla tribù *Saprinini*. *Entomologica*, XVII: 163-179.
- VAZQUEZ, X., 1993. *Fauna Ibérica*, 5. Coleoptera Oedemeridae, Pyrochroidae, Pythidae, Mycteridae, 181 pp., Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Madrid.