

UNA SENCILLA INNOVACION EN LAS PREPARACIONES MICROSCOPICAS DE INSECTOS PEQUEÑOS (*)

Por

HECTOR PAIROA E. ()**

Ing. Agrº. Entomólogo de la Sección Zoolo-
gía Agrícola del Departamento de
Sanidad Vegetal.

Cuando se hace una preparación microscópica de insectos muy pequeños, se coloca simplemente el material por preparar en una gota de bálsamo depositada sobre el porta-objeto, y sobre ella el cubre-objeto.

Si el insecto es ya más grande, el *Apanteles riverae* Porter (Hym., Braconidae) por ejemplo, y se opera sólo con el material antes indicado, el cubre-objeto queda inclinado, hay una gran pérdida de bálsamo, y el insecto nunca queda en la posición deseada. Además, estas preparaciones generalmente presentan burbujas de aire que entorpecen las observaciones posteriores e impiden obtener buenas fotografías. Para eliminarlas habría que comprimir, lo que acarrea el peligro de quebrar la laminilla cubre-objeto, o de destruir el insecto que, en ocasiones, suele ser un único y valioso ejemplar.

Para evitar todas esas dificultades, son de gran utilidad las celdas de Van Tieghem, las que tienen el inconveniente de su costo. Basándonos en este principio, y con el objeto de evitar el inconveniente indicado para estas celdas, es que hemos llegado al sencillo procedimiento que pasamos a indicar. Los materiales que se emplean son los mismos usados para este tipo de micro-preparaciones. La innovación consiste en

(*) El procedimiento que aquí se expone fué ingeniado en la práctica, bajo la necesidad de mejorar las preparaciones obtenidas con los métodos corrientes. El autor no le había dado mayor importancia al nuevo procedimiento puesto en uso por él, pero a instancias de nuestro querido Profesor Porter, debió redactar el presente trabajo para publicarlo en su "Revista Chilena de Historia Natural", el que ha quedado terminado solamente ahora, después de su fallecimiento. En tal situación, ha creído conveniente entregarlo al Boletín del Departamento de Sanidad Vegetal para su publicación.

(**) Para el autor de estas líneas es muy grato dejar constancia de sus agradecimientos al Dr. Leonidas Durán M., por su colaboración al revisar el original.

el reemplazo de las celdas de Van Tieghem por pequeños cortes o placas de celofán de la forma y tamaño de los cubre-objetos que se utilizan.

Para este uso es preferible que el celofán sea delgado, pues es más flexible. Esta flexibilidad facilita la adhesión de las placas al vidrio porta-objeto, o de las placas entre sí, al pegarlas con bálsamo. Si el celofán es grueso y el pliego grande (del que se han obtenido las placas) ha estado enrollado, los trocitos conservan parte de este enroscamiento. La fuerza de cohesión del bálsamo no es suficiente para mantenerlos adheridos en toda su extensión contra la superficie a la cual se les quiere pegar. Siempre tendrán en estos casos la tendencia a levantarse en alguna parte.

Además, a medida que el insecto por preparar es más voluminoso, se hace necesario aumentar, como veremos más adelante, el número de placas de celofán, las que lógicamente deberán superponerse. En estos casos, con placas delgadas es más fácil igualar el espesor de acuerdo con el grosor del insecto y así adhieren mejor entre sí.

INSTRUMENTAL NECESARIO.—Desde luego, en este capítulo no se consigna nada nuevo. Tiene solamente por objeto hacer la exposición más completa.

1) Un microscopio binocular de platina horizontal (para evitar que por gravedad el bálsamo escurra);

2) Una luz concentrada que permita obtener una buena iluminación indispensable;

3) Dos agujas de punta fina, para poder manipular en las delicadas extremidades del insecto mismo;

4) Porta-objetos limpios y sin rayaduras;

5) Cubre-objetos en la misma forma;

6) Pequeños cortes o placas de papel celofán del tamaño y forma de los cubre-objetos;

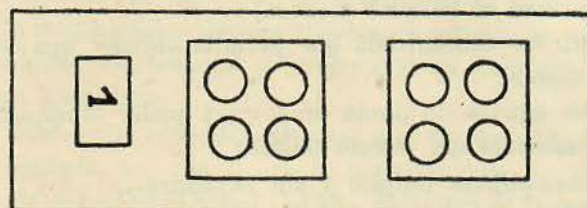
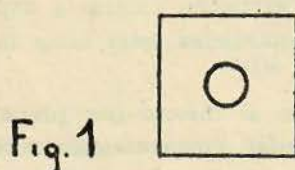
7) Un perforador "Soenneken 231-8"

8) Eter, para matar los insectos; y

9) Bálsamo, como medio lubricante que permita extender con facilidad los apéndices del insecto, y como medio definitivo de conservación. Esta substancia se aplica por medio de una baqueta de vidrio, de punta delgada, en pequeñas cantidades.

MODUS OPERANDI.—Según sea el tamaño del insecto que vamos a preparar, podemos dividir el modo operatorio en dos grupos:

a) Supongamos que se trata de hacer una preparación de un insecto muy pequeño, por ejemplo, de un micro-himenóptero de la especie *Leptomastidea abnormis* (Girault) (Hym., Encyrtidae). Para este insecto basta con una placa de celofán. Esta deberá ser perforada en el lugar donde se va a colocar el insecto. El perforador arriba indicado efectúa el trabajo en muy buena forma. La abertura que practica es regular, y la presentación resulta excelente (Fig. 1).



Esta placa perforada se pega sobre el porta-objeto con bálsamo en cantidad suficiente, como para que no se pierda por los bordes un exceso, ni la falta de esta substancia provoque la formación de burbujas entre las placas. Este bálsamo debe colocarse sobre el celofán y no sobre el porta-objeto, a fin de calcular la cantidad estrictamente necesaria y dejar libre de bálsamo, en el porta-objeto, el lugar correspondiente a la perforación circular.

Una vez listo el porta-objeto con su placa perforada, se coloca en

la parte central de la perforación una pequeña cantidad de bálsamo y sobre ella el insecto, el que debe estar recién muerto para evitar la rigidez y la consecuente destrucción que se puede producir. Se prefiere matar los insectos con éter, pues de esta manera conservan su flexibilidad, la que no se observa en los que han muerto por la acción del gas cianhídrico.

Sobre el insecto se agrega otra pequeña cantidad de bálsamo, de modo que éste quede completamente bañado, sin exceso. De no suceder así, el manipuleo con los alfileres para extender bien todos los apéndices, se dificultará enormemente con grave peligro para la integridad corporal del insecto. Cuando el bálsamo está recién colocado es muy flúido, lo que permite que las extremidades recién extendidas se contraigan muchas veces, nuevamente. Por esto deberá esperarse un corto tiempo para que, por volatilización del xilol (disolvente del bálsamo), esta sustancia se haga algo más consistente, evitándose así, en gran parte, este contratiempo. La mejor manera de proceder consistirá en ir probando periódicamente su consistencia con las agujas. Si el bálsamo espesa demasiado, nunca resulta buena la preparación, pues se dificulta la extensión de las extremidades y éstas casi siempre se rompen. Si se pretende agregar xilol en estos casos, para disolver el bálsamo, la preparación resulta manchada. La práctica le indicará a cada preparador el tiempo que deberá esperar según la consistencia del bálsamo.

Después de extendidas las patas, alas y antenas, se espera que el bálsamo se seque más todavía con el objeto de que estas extremidades queden en la posición deseada. Una desecación excesiva puede deformar al insecto; además, con una larga exposición, la preparación se llena de polvo. Para evitar esto último es conveniente colocarla durante este tiempo, dentro de una caja cerrada, siempre en posición horizontal. Luego se completa con bálsamo el resto de la cavidad, tratando que rebalse un poco hacia arriba (Fig. 2). Este exceso tiene como objeto evitar que se formen burbujas de aire al tapar con el cubre-objeto, como sucedería si el bálsamo formara, por el contrario, una concavidad en dicho lugar.

Antes de colocar el cubre-objeto sobre la preparación debe untársele con bálsamo en cantidad suficiente en la cara inferior, para facilitar la salida del aire y la adhesión. En las operaciones de agregar bálsamo, se deberá evitar hacerlo en exceso, pues, éste rebalsaría posteriormente por los bordes ensuciando la preparación.

Para aprovechar mejor el material, en caso de que se disponga

de varios insectos de la misma especie, se puede practicar con el perforador hasta cuatro aberturas en las placas de celofán, y aun se puede colocar dos de estos grupos en cada porta-objeto (Fig. 3). Además, en esta forma se puede dejar a los insectos en diferentes posiciones, en sus diferentes estados, colocar machos y hembras juntos, etc.

b) Si se trata de insectos más voluminosos, por ejemplo, el pulgón negro del durazno: *Brachycaudus persicae-niger* Smith (Hom., Aphididae), es necesario emplear más placas, las que deben ser, como se dijo anteriormente, colocadas superpuestas: tres, cuatro o más, según su espesor. Para que las aberturas queden yuxtapuestas, formando una cavidad única, deberán ser perforadas en conjunto. Las placas se pegarán entre sí con bálsamo.

Este conjunto, como lo ha aconsejado la experiencia, debe dejarse secar previamente. Si no se procede así, y luego de haber pegado las placas se continúa el trabajo, al introducir el insecto y luego agregar el bálsamo (de acuerdo con el mayor tamaño del insecto esta substancia se agrega ahora en mayor cantidad), éste puede, accidentalmente, ponerse en contacto con el que une los trozos de celofán, produciendo una corriente del líquido desde el orificio hacia las entre-placas ocasionando un innecesario aumento de bálsamo en estos sitios (donde no deberá existir más que la cantidad indispensable para mantener pegados los cortes de celofán entre sí y al porta-objeto). Este inconveniente constituiría una pérdida de bálsamo y es un contratiempo en el trabajo.

La desecación previa aconsejada no es indispensable cuando se preparan insectos muy pequeños, por necesitarse en este momento al empezar la preparación, sólo una pequeña cantidad de bálsamo que no alcanza a juntarse con la que mantiene unidas las placas.

El trabajo posterior es el ya indicado para la preparación de insectos muy pequeños.

Listas, ya, las preparaciones microscópicas deberá dejárselas, según las instrucciones conocidas, en posición horizontal para evitar que el bálsamo, que siempre conserva algo de su fluidez, permita que las preparaciones se corran.

Posteriormente se puede rodear los bordes del cubre-objeto con una delgada capa de cera, o "secotina" por ejemplo, para mayor seguridad de la preparación.

Esta innovación en las preparaciones microscópicas de insectos ofrece una serie de ventajas:

1.o Se evita, como en el caso de las celdas de Van Tieghem, que el peso del cubre-objeto destruya al insecto por compresión, pues este elemento se apoya sobre el celofán y no sobre el insecto.

2.o Su costo será siempre inferior al de las celdas indicadas, si bien hay que considerar el gasto de celofán.

3.o El gasto de bálsamo se puede reducir al minimum indispensable.

4.o Las burbujas de aire que por cualquier motivo hayan quedado afeando la preparación o entorpeciendo la visión clara se pueden eliminar comprimiendo suavemente, cuidando no romper el cubre-objeto. Muchas veces estas burbujas se eliminan por sí solas. Pero si su presencia se debe a falta de bálsamo, es inútil comprimir.

5.o Si se montan varios ejemplares bajo un cubre-objeto, se evita que estos se aglomeren al colocar esta laminilla, como sucede en las preparaciones en que no se emplea el celofán perforado.

6.o Se logra dar a cada ejemplar la posición deseada.

7.o Las preparaciones tienen una hermosa presentación.