

Preparace vnějších genitálií brouků čeledi drabčíkovitých (Coleoptera: Staphylinidae)

The preparation of genitalia of staphylinid beetles (Coleoptera: Staphylinidae)

Matuš KOCIAN

Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, CZ-161 06 Praha 6

Preparation methods, genitalia, Coleoptera, Staphylinidae

Abstract. The preparation method of genitalia of staphylinid beetles is described.

ÚVOD

V poslední době se u zástupců čeledi Staphylinidae jako i u ostatních brouků velmi rozšířilo používání determinačních znaků na vnějších genitáliích. Tyto znaky jsou často jediným spolehlivým záchytným bodem při určení mnoha druhů. Často je možné jen určení samců podle znaků na aedeagu, méně jsou používány znaky na spermatékách samic. Používání těchto znaků při determinaci však přináší určité nároky na vybavení a metodické postupy, zejména u velmi malých druhů a tam, kde je nutno genitálie prosvětlit a studovat jejich vnitřní strukturu. V české literatuře chybí modernější práce s návodem na preparaci genitálií u drabčíkovitých. Starší autoři (Hrbáček 1954, Novák et al. 1969, Táborský 1961, Winkler 1974) se zaměřili většinou detailně na preparační postup při preparaci do kanadského balzámu a o konkrétních metodách vhodných pro studium genitálií drabčíků se zmínili spíše okrajově. Smetana (1958) popsal postup vhodný pro studium rozměrově větších druhů (*Xantholinus*, *Leptacinus*). Monografická díla o preparačních metodách (Novák et al. 1969, Táborský 1961) se podrobně zabývají obecnými preparačními postupy, které jsou však většinou pro běžnou praxi zbytečně náročné jak na vybavení, tak časově. Zde bych rád seznámil zájemce o studium brouků čeledi Staphylinidae s nejčastěji používaným a prakticky nejjednodušším postupem při preparaci a studiu genitálií resp. terminálií drabčíkovitých. Vycházím přitom z vlastních zkušeností i zkušeností ostatních kolegů, kteří se studiem této čeledi zabývají.

Pracovní postup se skládá z vypreparování kopulačních orgánů z těla brouka, prosvětlení, prohlížení a montování do trvalého média.

PREPARACE GENITÁLIÍ

Nejdříve je nutné z brouka vypreparovat genitálie (aedeagus, spermatéka) či potřebné sklerity posledních zadečkových článků. Pokud chceme vypreparovat pouze aedeagus, je doporučováno vyjmout jej z konce zadečku hned při preparaci a nalepit jej, stejně jako brouka, vodou rozpustným lepidlem na štítek s broukem. Lze jej pak kdykoli snadno odlepit a studovat. K lepení brouků se používá např. Syntetikon, Glutofix, Herkules nebo „rybí klíč“ (viz dále). O vhodnosti Herkulesu k lepení hmyzu není mezi entomology jednotný názor. Dle mé zkušenosti je toto lepidlo vyhovující a objekt jím nalepený lze snadno odlepit.

U menších druhů a tam, kde je nutno aedeagus prosvětlit (Tachyporinae, Aleocharinae) se tento postup nezdá nejvhodnější, neboť aedeagus je často slabě sklerotizován nebo dosti pevně spojen se sklerity genitálního segmentu a při takovéto preparaci se může snadno poškodit. V těchto případech je lépe odtrhnout celý konec zadečku a aedeagus či spermatéku z něj vypreparovat až po vymacerování (viz dále). Je vhodné, když je brouk vypreparován s nataženým zadečkem, neboť pak stačí na konec zadečku kápnout kapku vlažné vody a po několika minutách je možné jej odtrhnout. Doporučuji tedy (viz také Dvořák 1978, Černý 1984) preparovat drabčíky s maximálně nataženým zadečkem už i proto, že jsou potom dobře viditelné znaky na tergitech a sternitech. Velmi často však pracujeme se starým sbírkovým materiálem, kde je nezřídka celý konec zadečku teleskopicky zatažen dovnitř. Tady je lépe celého brouka rozvlhčit a znovu vypreparovat na nový štítek. Nejjednodušší rozvlhčovací metodou je zakápnutí celého brouka přímo na štítku kapkou vlažné vody (viz také Havelka 1968). Malí brouci jsou takto rozvlhčeni již za 20-30 minut. O stupni rozvlhčení se snadno přesvědčíme mírným opakovaným tlakem na zadeček, čímž zároveň docílíme lepšího proniknutí vody dovnitř brouka. Manipulace musí být velmi šetrná, abychom neporušili chaetotaxi, či nepolámali končetiny. Po rozvlhčení brouka osušíme položením na jemný savý papír. U druhů, které jsou pokryty jemným tomentem či s jinými ozdobnými chloupky je lepší uzavřít je do zavařovací sklenice s vlhkou vatou (pozor, aby brouk nebyl v přímém kontaktu s vodou) a po 24 hodinách pobytu ve vodních parách je většinou brouk dostatečně rozvlhčen. Některými autory je doporučováno rozvlhčení v 50% roztoku vody a koncentrovaného amoniaku (NH_4OH) po dobu 1-2 minut. Takovéto rozvlhčení je vhodné u silně znečištěných nebo zamaštěných exemplářů, neboť amoniak tyto nečistoty spolehlivě odstraní. Pro entomology, kteří nemají k dispozici digestoř, je však práce s amoniakem nepříjemná. Ve většině případů je zcela dostačující rozvlhčení ve vlažné vodě.

Odtržený konec zadečku s genitáliemi buď ihned dále studujeme (v kapce vody nebo glycerolu, aby objekt při manipulaci neodskočil a neztratil se) nebo jej nalepíme podobně jako aedeagus vedle brouka na štítek a k dalšímu studiu se můžeme kdykoli vrátit. Podrobně se lze o preparaci drabčků dočíst v práci Smetany (1958).

PROSVĚTLOVÁNÍ GENITÁLÍ

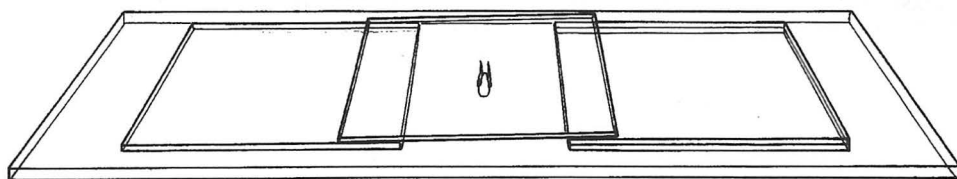
U větších druhů, jejichž genitálie jsou dobře sklerotizované s dostatečnými diagnostickými znaky na povrchu, předchozím postupem, t.j. vypreparováním aedeagu resp. spermatéky, preparace zpravidla končí. Je tak tomu u mnohých zástupců podčeledi Staphylininae, Paederinae, Steninae aj. K jejich prohlížení většinou stačí stereoskopická lupa o zvětšení 50-100x. U některých jiných skupin (Tachyporinae, Aleocharinae) se často nejdůležitější znaky nacházejí uvnitř aedeagu ve formě specificky utvářených skleritů. K tomu, aby tyto struktury byly zřetelně vidět, je nutno aedeagus prosvětlit (vymacerovat). Macerační činidlo rozruší chitínózní a svalové struktury a ztenčí kutikulu těla aedeagu natolik, že lze vidět dovnitř. Zároveň se rozruší intersegmentální membrány, čímž snadno a bez poškození chaetotaxe můžeme rozdělit konec zadečku na jednotlivé sklerity a vyjmout aedeagus či spermatéku. S postupy při prosvětlování se můžeme seznámit ve všech entomologických metodických příručkách. Zde předkládám postup nejjednodušší, mající malé nároky na chemikálie i ostatní vybavení.

Vypreparovaný aedeagus, spermatéku či celý odtržený konec zadečku vhodíme do epruvety s 15% roztokem hydroxidu draselného (KOH) a necháme za pokojové teploty macerovat. U dru-

hů s méně sklerotizovaným aedeagem (Tachyporinae, Aleocharinae) stačí doba 3-4 hodin, u druhů velkých (Xantholininae) je doba delší, kolem 24 hodin. K tomuto účelu si můžeme připravit řadu epruvet s hydroxidem a zpracovávat více preparátů současně. Doba prosvětlování se dá zkrátit varem. Je to vhodné u velkých druhů (Xantholininae), kdy je prosvětlení varem hotovo již za několik minut. U malých objektů je vhodnější uvedená 3-4 hodinová macerace, neboť při varu by mohlo snadno dojít ke ztrátě preparátu.

Po prosvětlení vhodíme objekt do nádoby s vodou s několika kapkami konc. kyseliny octové (CH_3COOH), abychom zastavili působení hydroxidu. Poté máme preparát připraven a můžeme jej prohlížet.

Jak bylo napsáno výše, větší objekty lze studovat pomocí stereoskopické lupy se zvětšením 50x - 100x. Ke studiu menších prosvětlených objektů (chaetotaxe skleritů, vnitřních struktur aedeagu apod.) je však nezbytné prohlížet je v procházejícím světle. K tomuto účelu je vhodný jakýkoli mikroskop s rozsahem zvětšení asi 100x - 400x. Pro pozorování si objekty připravíme do preparátu, jak je znázorněno na obr.1. Na podložní sklíčko umístíme na jednu stranu 1 a na druhou stranu 2 krycí sklíčka na sebe. Mezi ně kápneme glycerol ($\text{CH}_2\text{OHCHOHCH}_2\text{OH}$), umístíme do něj studovaný objekt a přiklopíme dalším krycím sklíčkem. Takto připravený preparát můžeme studovat v mikroskopu. Pokud chceme změnit polohu např. penisu z ventrální strany na laterální, stačí jemně posunout vrchní sklíčko. Při různé tloušťce preparátu se jen přidá nebo ubere některé z krajních krycích sklíček.



Obr. 1. Způsob přípravy preparátu ke studiu a kreslení prosvětlených terminálií v mikroskopu.

Fig. 1. A way of arrangement of preparation for study and drawing of cleared terminalia in microscope.

MONTOVÁNÍ GENITÁLÍ DO TRVALÝCH MÉDIÍ

Po prostudování preparátu je více možností jak jej uchovat pro pozdější studium. Velké objekty můžeme zcela jednoduše nalepit na štítek vedle brouka, tak jako genitálie, které nemacerujeme. Menší a vyschnutím zboritelné objekty musíme montovat do trvalého média. Vhodné jsou 3 metody:

Nejjednodušší je objekt umístit do kapky ve vodě rozpustného média, umístěné přímo na štítku vedle brouka či na samostatném papírovém nebo celuloidovém štítku. Takovým médiem je např. tzv. „rybí klíč“ (látko získávaná z kostí kytovců). Výhodou je možnost snadného opětovného rozvlhčení kapkou vody a rychlá montáž. Nevýhodou může být dlouhodobá časová nestabilita. Přesto je tato metoda dnes užívána i ve velkých světových muzeích.

Druhým způsobem, generacemi ověřeným, je uchování v kanadském balzámu. Opět je možné jej kápnout přímo na štítek vedle brouka nebo na samostatný štítek, který umístíme pod brouka. Než však objekt do balzámu umístíme, je nutno jej odvodnit. Poslouží k tomu vzestupná alkoholo-

lová řada až po konc. etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$). Není nutné dodržovat striktně přenášení objektu postupně do 70%, 80%, 90% a 96% etanolu. Postačí objekty nejdříve vložit do malé kapky vody na podložním sklíčku, potom do ní postupně přikápnout 5-10 malých kapiček etanolu a nakonec vložit objekt na ca 15 minut do koncentrovaného (96%) etanolu. Potom preparát přeneseme do nádoby s xylenem ($\text{C}_6\text{H}_4(\text{CH}_3)_2$) a necháme v něm 15-30 minut a z xylenu přeneseme objekt do kapky kanadského balzámu. Do kanadského balzámu je vhodné preparovat materiál, na kterém záleží, aby bez nebezpečí poškození vydržel po dlouhou dobu. Pro běžnou praxi je to metoda časově náročnější. Podrobněji o přípravě preparátů v kanadském balzámu pojednávají výše zmíněná díla.

Třetí možností, rovněž často používanou, je uchovávání v glycerolu. Glycerol nevysychá a je dobře mísitelný s vodou. Vymacerovaný materiál v něm vydrží neomezeně dlouho bez jakéhokoli nebezpečí poškození a je možné jej kdykoli ihned studovat. Preparáty se uchovávají v malých skleněných či plastických lahvičkách, které jsou umístěny na špendlíku pod broukem.

LITERATURA

- ČERNÝ Z. 1984: Ještě ke způsobu preparace drabčků. *Zpr. Čs. Společ. Entomol. ČSAV*, 20: 31-32.
DVOŘÁK M. 1978: Poznámky k preparační praxi. *Zpr. Čs. Společ. Entomol. ČSAV*, 14: 141-146.
HAVELKA J. 1968: Preparace brouků. *Zpr. Čs. Společ. Entomol. ČSAV*, 4: 21-35.
HRBÁČEK J. 1954: *Jak a proč sbírat hmyz*. ČSAV, Praha, 214 pp.
NOVÁK K. et al. 1969: *Metody sběru a preparace hmyzu*. ČSAV, Praha, 214 pp.
SMETANA A. 1958: *Fauna ČSR 12. Drabčíkovití - Staphylinidae 1*. ČSAV, Praha, 435 pp.
TÁBORSKÝ K. 1961: *Muzejní práce. Metodika zoologických prací v muzeích I*. Nár. museum, Praha, 392 pp.
WINKLER J.R. 1974: *Sbíráme hmyz a zakládáme entomologickou sbírku*. SZN, Praha, 211 pp.