

ZALÉVÁNÍ DROBNÝCH ENTOMOLOGICKÝCH OBJEKTŮ DO ŽELATINOVÉHO BALZÁMU (TRVALÝ MIKROSKOPICKÝ PREPARÁT BEZ PŘIKRYTÍ A ODVODNĚNÍ)

Karel Majer

Následující příspěvek má za cíl seznámit širokou entomologickou veřejnost s novou metodou preparace drobných objektů, které nesnášejí klasickou preparaci na sucho - tj. nejdrobnější příslušníky různých řádů členovců, např. Acarina, Diptera, Hymenoptera, Aphidoidea, Mallophaga, Thysanura, Anoplura atd., stejně tak jako měkké části hmyzu, které bývají po poškození a prosvětlení předmětem taxonomických studií - např. kopulační orgány, zejména kladélka, případně i chodidla, tykadla atp.

V entomologické praxi jsou používána nejrůznější media na zalévání, především kopulačních orgánů. Převádění do těchto médií vyžaduje však naprosté odvodnění objektů (např. přes alkoholovou řadu). Tyto metody jsou příliš zdoluhavé a např. při studiu variability kopulačních orgánů časově zcela nevyhovující. Je možné též použít do polyvinylalkoholu, tato látka je však těžko dostupná a zasychá ve velmi tenké vrstvě.

Ve Winklerově knize o sběru a preparaci hmyzu (Winkler, 1976) je na str. 190 recept na "Želatinový lepicí tmel". Autor mě upozornil na eventuelní možnost použití této látky jako zalévacího média na kopulační orgány hmyzu. Akceptoval jsem jeho myšlenku a po 4 roky nepoužívám jiného média než želatinového lepicího tmelu. "Želatinový lepicí tmel" byl původně vyvíjen jako entomologické lepidlo. Teprve později byly shledány jeho výborné optické a manipulační vlastnosti. S ohledem na nové použití navrhuji pro tuto látku název "Želatinový balzám".

Níže uvedená metodika předpokládá drobné objekty, velikosti do 3-4 mm a výšky maximálně 0,5-1 mm. Objekty musí být zcela mokré, průhledné až průsvitné, musí mít kyselou, nanejvýš neutrální reakci, jakákoliv stopa po zásaditých substancích musí být předem odstraněna. Pokud jsou objekty barvené, potom tedy příslušnými barvivami, např. kongo červení nebo kyselinou pikrovou.

Potřeby k preparaci

- a) Zhotovíme si želatinový balzám: Želatinu necháme nabobtnat přidáním malého množství cca 10% vodního roztoku kyseliny octové. Po nabobtnání vaříme ve vodní lázni a přidáme 1/4 až 1/6 obsahu chloral-

hydrátu, podle potřeby přidáváme po kapkách další okyselenou vodu. Dbáme na to, aby médium obsahovalo maximum sušiny (tedy maximum želatiny), aby právě již "netáhlo vlas". Případně si připravíme 2 typy balzámu: řidší a velmi hustý. Používáme co nejčistší želatinu, ideální je stěží dostupná želatina potravinářská lístková, většínou však dostaneme želatinu drcenou. Hotové médium necháme několik týdnů ustát, aby se případné nečistoty (většinou ve formě bílého prášku) usadily na dně. Stěží se nám podaří připravit zcela průhledné médium, často je balzám jenom průsvitný, což není na závadu, jelikož v tenké vrstvě se nám jeví jako zcela průhledný.

- b) Připravíme si průhledné štítky normalizovaného formátu obvyklých štítků nalepovacích. Jako materiálu použijeme jakoukoliv vhodnou průhlednou hmotu, dostatečně silnou (nedoporučuji štítky celuloidové, které se časem bortí). Používám štítky z rentgenové folie s oboustranně smytou emulzí. Rentgenové snímky je vhodné nechat několik dnů bobtnat v teplé vodě, emulzi potom setřít prsty a vyhnout se tak případnému mechanickému poškrábání, např. kartáčem. Doporučuji použít fólii lehce namodralé barvy, která odfiltruje nažloutlé zabarvení média.

Postup zalévání objektů

- a) Zcela mokrý objekt přeneseme na štítek (znovu zdůrazňuji - objekt zcela mokrý, případně jej umístíme do kapky vody na štítku) a zakápneme kapkou balzámu. Máme tedy 1/2 minuty času na to, abychom objekt upravili do náležité polohy, po této době začíná balzám již vysychat a "táhne vlas". Přenášení mokrého objektu do předem připravené kapky balzámu je méně vhodné, dochází často k tvorbě nežádoucích vzduchových bublinek.
- b) Asi po 5 minutách zakápnutí opakujeme.
- c) Zakápnutí opakujeme znovu po 1/2 - 1 hodině, případně druhý den. Tuto fázi možno vynechat podle povahy objektu, zvláště je-li objekt zcela plochého anebo trubicovitého charakteru. Objekty, které obsahují rozměrné uzavřené prostory naplněné tekutinou, kam nemůže balzám proniknout, vyžadují více fází zakapávání, případně jsou pro tuto metodu preparace vůbec nevhodné.
- d) Poslední zakápnutí objektu provádíme po několika týdnech, lépe však až po 1 měsíci. Po tomto posledním zakápnutí by měl balzám dostat trvale sklovitý, tvrdý povrch. V této fázi je vhodné použít

zvláště hustého balzámu.

Upozornění:

Nedoporučuji zalévat celý štítek (nebo větší část jeho plochy), ale zakapávat objekty jednotlivě. Po zalití celého štítku se následkem pnutí vysychajícího balzámu štítek prohne směrem dolů. Nepomůže však ani natření druhé strany, protože vlivem dvojího pnutí balzám popraská. Pokud máme štítek vyroben ze silné hmoty, např. z "Celonu", tzn., že velikost štítku č. 2,3,4 má sílu téměř 1 mm, problémy s plošným pnutím balzámu odpadají. Želatinový balzám je agresivní médium, které nemá přijít do trvalejšího styku s gumou nebo kovem (zcela nevhodné je např. uchovávání balzámu ve sklenicích od dětské výživy).

Nevýhody želatinového balzámu

- Útvary, které nemůže balzám vyplnit, se sesychají současně s ním a deformují se.
- Nevhodnost použití pro rozměrnější objekty.
- Nutnost 3-4 násobného zakapávání objektu.
- Vytváření vrásek a nerovností na povrchu příliš vysoké vrstvy schnoucího média a to někdy i po zalití definitivním.
- Nežádoucí bývá přílišné prosvětlení objektu (nutno s tímto jevem počítat, zvláště v případě blanitých kladélek). Prosvětlení ovšem již nepokračuje, jakmile balzám dokonale ztvrdne, a navíc je objekt možno upravit vhodným přibarvením (viz výše).
- Pnutí balzámu při aplikaci ne celou plochu štítku.
- Vznik krystalinních artefaktů v případě stopového množství zásaditých látek (špatně vymytý KOH).

Výhody želatinového balzámu

- Preparát má charakter miniaturizovaného klasického trvalého mikroskopického preparátu, je tedy schopen pozorování v procházejícím světle pod silným zvětšením. Liší se od něho pouze tím, že se nepoužívá krycí sklíčko, neboť pevná a tvrdá vrstva balzámu jej nahrazuje a objekt dokonale chrání.
- Preparát má současně klasický entomologický charakter - průhledný štítek normalizované velikosti je napíchnut na špendlíku pod základním objektem.
- Balzám je snadno a rychle rozpustný v teplé okyselené vodě.
- Želatinový balzám je chemicky vyváženou soustavou výhradně kyselých látek a proto vytváří společný molekulární zámek, na rozdíl

od jiných chloralhydrátových medií, obsahujících arabskou gumu a a vytvářejících po delší době nerozpustné sraženiny, příp. nastává krystalizace chloralhydrátu, protože tato média jsou chemicky nesourodou soustavou kyselých a zásaditých komponentů.

- e) Objekt není třeba odvodňovat, naopak vlhkost je podmínkou.
- f) Balzám lne pevně na jakoukoliv hladkou plochu, neláme se a nepraská (pokud není vystaven nežádoucímu pnutí při vysychání-viz výše).
- g) Je vhodný i na zalévání měkkých částí hmyzího těla, jako je např. trávicí soustava, anebo na celkové preparáty shora zmíněných řádů členovců.
- h) V případě napadení sbírky rušníky zůstanou zalité genitálie v balzámu netknuty.

Shora uvedená metoda byla vyzkoušena na poměrně úzkém spektru bezobratlých živočichů, není vyloučeno, že možnosti její aplikace jsou mnohem širší, než předpokládám. Zcela nenahraditelnou se mi stala při preparaci kopulačních orgánů, zejména kladélek.

Věřím, že tato nová metoda preparace najde široké uplatnění v mnoha oborech entomologické činnosti a především, což je vlastním účelem tohoto článku, usnadní práci mnoha taxonomům.

S u m m a r y

Mouting of small insects specimens or their dissected bodyparts (e.g. male or female genitalia) on a bluish X-rays foil microsheet with a water soluble hard mouting balsam (components: chloral hydrate and gelatine in ratio 1: 4-5 in few drops of 8-10 per cent acetic) as mouting medium is proposed and procedure of mouting is described.

The above mentioned mouting medium is an original formula of "želatinový lepicí tmel" and mentioned in several papers (now in press) under the name "gelatine - chloral hydrate hard mouting lacquer cement". "Gelatine balsam" is a newly proposed name for the same agent.

L i t e r a t u r a

Winkler, J.R., 1974: Sbíráme hmyz a zakládáme entomologickou sbírku.

SZN Praha. 214 stran.

Adresa autora (Author's adress):

Karel Majer, LF VŠZ, Zemědělská 3, 662 66 Brno