

Zofia Ciesielska

Barbara Pieronek

WYBRANE PRZYKŁADY Z ZAKRESU PREPARATYKI ZOOLOGICZNEJ

I. W s t ę p

Celem tego opracowania jest przedstawienie wybranych przykładów z techniki sporządzania preparatów zoologicznych z dokładnym opisem kolejnych czynności przy ich wykonywaniu oraz z podaniem receptury na utrwalacze, barwniki itp.

W literaturze krajowej trudno jest znaleźć dane na ten temat. Opublikowana jest jedynie technika mikroskopowa, histologiczna oraz kilka opracowań o konserwowaniu, przechowywaniu zbiorów itp. Brak jest natomiast publikacji na

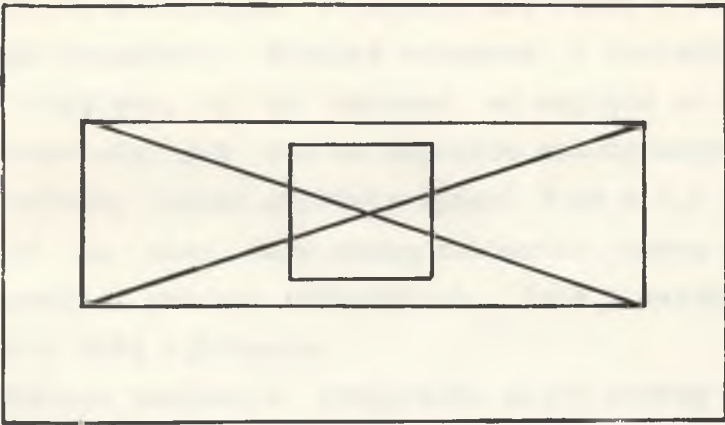
temat zasad sporządzania preparatów totalnych z drobnych zwierząt, czy takich mikroskopowych, jak narządy gębowe owadów i in., wymagających umiejętności preparowania.

Umiejętność wykonywania takich pomocy naukowych może mieć ważne znaczenie dla nauczycieli biologii, borykających się często z trudnościami związanymi ze zdobyciem pomocy dydaktycznych. Przykłady podane tutaj, dotyczące sporządzania preparatów zoologicznych, jak i metody ich sporządzania są na ogół bardzo proste i możliwe do zrealizowania niemal w każdej szkolnej pracowni biologicznej.

Wskazane byłoby także zainteresowanie uczniów preparatyką zoologiczną, np. w czasie poświęconym na zajęcia w kółku przyrodniczym, większość bowiem podanych przykładów nadaje się do przeprowadzenia w szkole ogólnokształcącej, głównie średniej.

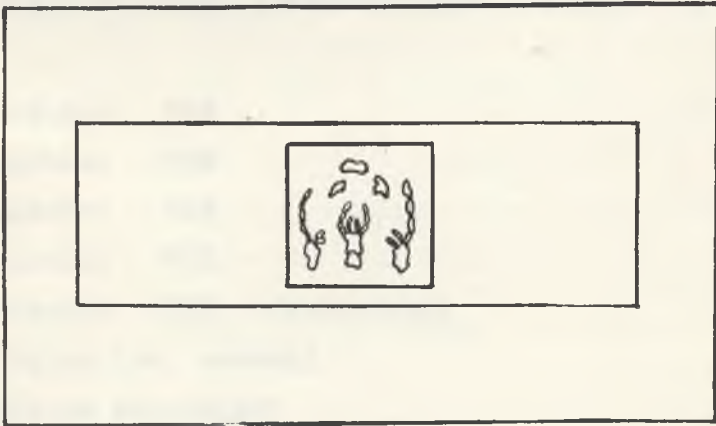
II. T e c h n i k a s p o r z ą d z a n i a p r e p a r a t ó w

Szczegółowe omawianie metod wykonywania trwałych preparatów zwierzęcych należy rozpocząć od podania kilku ogólnych zasad dotyczących techniki ich sporządzenia. Przede wszystkim przy seryjnym wykonywaniu preparatów winno się znormalizować sposób i miejsce ułożenia ich na szkiełku. Dokonuje się tego w sposób bardzo prosty. Na kartoniku obrysowuje się zarys szkiełka podstawowego, po czym wyznacza środek i na nim wyrysowuje zarys szkiełka nakrywkowego (Rys. 32). Z rysunku tego korzysta się następnie przy każdorazowym wykonywaniu preparatów, układając na wykonanym szkicu szkiełko podstawowe. Obiekt umieszcza się w wyzna-



Rys. 32

Wzór podkładki do układania obiektu
na szkiełku podstawowym



Rys. 33

Schemat rozmieszczenia wypreparowanych
narządów gębowych owada na szkiełku
podstawowym

czonym punkcie środkowym. Otrzymuje się równo i estetycznie ułożone preparaty. Również staranne i znormalizowane winny być etykiety, a to zarówno ze względu na wartość naukową preparatu, jak też ze względów estetycznych. Najczęściej używany wymiar etykiety wynosi 2 cm x 1,5 cm, wypisane zaś na niej dane muszą zawierać: nazwę obiektu (nazwa narządu i gatunku zwierzęcia), imię i nazwisko wykonawcy oraz datę wykonania.

Do trwałego zamykania preparatów służy szereg odczynników, różniących się między sobą zarówno wadami, jak i zaletami. Najlepszy jest niewątpliwie balsam kanadyjski. Jednakże zamknięcie w nim obiektu musi być poprzedzone całkowitym jego odwodnieniem. W tym celu obiekt przeprowadza się przez alkohole o wzrastającym stężeniu, wg schematu:

| | |
|---------------------|-------------------|
| alkohol | 50% |
| alkohol | 70% |
| alkohol | 80% |
| alkohol | 90% |
| alkohol | 100% (dwukrotnie) |
| ksylen (ew. benzen) | |
| balsam kanadyjski | |

(Sporządzanie rozcieńczeń alkoholu wg załączonej tabeli)

Czas przetrzymywania obiektu w poszczególnych odczynnikach jest zależny od rodzaju obiektu i jego grubości. Zaletą balsamu kanadyjskiego jest długotrwałość preparatu. Następnie powszechnie znanym odczynnikiem, służącym do zamykania preparatów, jest gliceryna z żelatyną. Jej składniki:

Tabela rozcieńczeń alkoholu 96%

| Pożądane stężenie alkoholu | Potrzebna ilość alkoholu w mililitrach | | |
|----------------------------|--|---------------|--------------|
| | 1000 ml | 500 ml | 250 ml |
| 90% | 940 al.+ 60w. | 470 al.+30 w. | 235 al.+15w. |
| 85% | 882 al.+118w. | 441 al.+59 w. | 220 al.+30w. |
| 80% | 826 al.+174w. | 413aal.+87 w. | 207 al.+43w. |
| 75% | 772 al.+228w. | 383 al.+117w. | 193 al.+57w. |
| 70% | 718 al.+282w. | 359 al.+141w. | 180 al.+70w. |
| 50% | 510 al.+490w. | 255 al.+245w. | 128al.+122w. |
| 30% | 309 al.+691w. | 154 al.+346w. | 77 al.+173w. |

Objaśnienia skrótów:

al. = alkohol (96%)

w. = woda dest.

- 10 g żelatyny,
- 54 cm³ gliceryny,
- 60 g wody destylowanej,
- 0,5 - 1 g tymolu krystalicznego.

Żelatynę rozpuszcza się w wodzie destylowanej, ogrzewając na palniku, po czym dodaje się gliceryny i tymolu. Otrzymany roztwór przesącza się przez karbowany sącdek w cieplarni w temperaturze 35 - 40°C, albowiem gliceryna z żelatyną bardzo szybko zastyga. Przy każdorazowym korzystaniu z tego odczynnika należy go rozpuszczać, wkładając naczynie zawierające go do gorącej wody.

Zaletą gliceryny z żelatyną jest jej natychmiastowe stężenie oraz możliwość przenoszenia obiektu bezpośrednio z wody. Natomiast wadą jest to, że po stosunkowo krótkim czasie (ok. roku) żelatyna mętnieje. Trwałość preparatu można zwiększyć, obramowując lekko szkiełko nakrywkowe po upływie kilku miesięcy balsamem kanadyjskim.

Mało rozpowszechnioną metodą, ale godną polecenia, jest zamykanie preparatów w płynie FAURE'a. Skład tego odczynnika jest następujący:

- 10 g gliceryny,
- 15 g gumy arabskiej,
- 20 g chloroformu,
- 25 g wody destylowanej.

Zaletą płynu FAURE'a jest również możliwość przenoszenia obiektu bezpośrednio z wody oraz duże właściwości prześwietlania obiektu. Wadą jest powolne wysychanie preparatu oraz częste tworzenie się w trakcie wysychania

przestrzeni próżniowych, które usuwa się poprzez lekkie podgrzanie preparatu i dodanie odczynnika.

Można również sporządzać preparaty w samej glicerynie: Na szkiełku podstawowym umieszcza się kroplę gliceryny, do niej wkłada obiekt, następnie nakrywa się szkiełkiem nakrywkowym i obramowuje tzw. płynem KRONIGA (kalafonia z woskiem) w sposób następujący: należy wziąć drucik i na końcu zagiąć go w kształt trójkąta o podstawie równej szerokości szkiełka nakrywkowego. Drucik rozgrzewa się bardzo mocno nad palnikiem i wkłada do płynu KRONIGA, który topi się pod wpływem gorąca i przylega do drucika. Następnie, drucik ten przykładają się do brzegów szkiełka nakrywkowego.

Innym sposobem zabezpieczania preparatów w samej glicerynie jest stosowanie parafiny.

Tuż obok szkiełka nakrywkowego umieszcza się nieco parafiny i całość ogrzewa lekko nad palnikiem. Parafina topi się, wnika pod szkiełko, nie mieszając się jednak z gliceryną. Po zastygnięciu, dla otrzymania trwalszego preparatu, można obramować parafinę lakierem nitrocelulozowym.

Prócz wymienionych dotąd, mniej lub więcej tradycyjnych odczynników, coraz większe zastosowanie przy wykonywaniu preparatów mikroskopowych i konserwowaniu zbiorów przyrodniczych znajdują sztuczne tworzywa. A oto niektóre spośród nich:

1) Masa nitrocelulozowa, której podstawowym składnikiem jest nitroceluloza, służy do zamykania preparatów mikroskopowych bez ich uprzedniego odwadniania. Jej skład (na 100 g masy nitrocelulozowej):

14 g nitrocelulozy,

29 g octanu etylu,

- 35 g octanu amylu,
- 11 g ksylenu,
- 6 g bromonaftalenu,
- 2 g palatynolu C,
- 1 g oleju rącznikowego,
- 2 g alkoholu butylowego,

Można też z powodzeniem zastosować mniej skomplikowany przepis, łącząc nitrocelulozę z octanem etylu, octanem amylu i ksylenem.

Masa nitrocelulozowa ma to do siebie, że preparaty w niej zamknięte nie wymagają stosowania szkiełek nakrywkowych i żywic ochronnych. Preparaty takie można oglądać nawet pod imersją. Odczynnik ten może być także używany do zabezpieczenia preparatów mikroskopowych, np. glicerynowo-żelatynowych. Preparaty takie są trwalsze i posiadają bardziej estetyczny wygląd niż przy stosowaniu np. laku asfaltowego.

2) Polimetakrylan butylu (PB), rozpuszczony w octanie etylu, ma postać przezroczystego, bezbarwnego lakieru. Jako takiego można używać do konserwacji zbiorów zoologicznych, jak: szkielety kręgowców, większe pająki i owady, a nawet narządy anatomiczne - przez powlekanie ich warstewką polimetakrylanu butylu. W przypadku obiektów wysychających powlekanie musi być wykonane bardzo dokładnie, bez pozostawiania wolnych, nie zabezpieczonych miejsc. Odczynnik ten można także nakładać na powierzchnie wilgotne, bez obawy zmętnienia wytworzonej powlekającej błonki. Jest to, jak widać, jeden ze sposobów zabezpieczania zbiorów przed szkodnikami.

Wymienione tutaj odczynniki, jak i roztwór polimetakrylanu metylu (nazwa handlowa plexiglas) mogą być zastosowane z dużym powodzeniem również przy sporządzaniu tzw. reliefów, tj. odcisków powierzchniowych. Na przykład w celu zbadania skulptury skóry robaków, owadów i ich larw, skóry płazów itp., pokrywa się ją warstewką masy nitrocelulozowej lub metakrylanu butylu czy metylu (w roztworze). Po krótkim czasie błonka zasycha, a po jej zdjęciu otrzymuje się bardzo wierny, choć negatywowo obraz powleczonej powierzchni. Reliefy takie można następnie przechowywać dłuższy czas bez żadnej szkody dla nich, bez zabezpieczenia.

III. P r e p a r a t y t o t a l n e ¹⁾

Z pierwotniaków najłatwiej jest wykonać preparaty totalne z Testaces oraz z Foraminifera z tego względu, że są one oskorupione.

1. Preparaty z otwornic (Foraminifera)

Wybrane z piasku morskiego skorupki otwornic wkłada się do 96% alkoholu na kilka minut, celem usunięcia powietrza z ich wnętrza, po czym wkłada się je do olejku goździkowego (względnie ksylenu), a następnie umieszcza na szkiełku podstawowym z kroplą balsamu i przykrywa szkiełkiem nakrywkowym. Jeśli otwornice są duże, to należy wyko-

1) Wiadomości przeznaczone wyłącznie dla nauczyciela; dla ucznia tylko na zajęciach w kole biologicznym. Zawierają rozszerzenie wiedzy zoologicznej poza program, z wyjątkiem punktu 7.

nać tzw. "nóżki" woskowe: na każdym rogu szkiełka nakrywkowego umieszcza się równe, malutkie skrawki wosku lub parafiny, po czym lekko ogrzewa nad lampką. Wosk przykleja się do szkiełka. Po wystygnięciu szkiełka przykrywa się nim obiekt. Znane są również suche preparaty z otwornic. Wykonuje się je następująco: Na środek szkiełka podstawowego nakleja się czarny papier, a następnie na to kartonik o wymiarach szkiełka podstawowego i grubości 1-2 mm, z otworem pośrodku. W powstałym w ten sposób zagłębieniu o ciemnym tle umieszcza się kilka skorupki otwornic, nakrywa szkiełkiem nakrywkowym, przyklejając jego brzegi do kartonu. Wreszcie całość nakleja się identycznym jak wyżej kartonikiem. Tak wykonane preparaty można oglądać wyłącznie pod lupą (najlepiej binokularną), zwaną mikroskopem stereoskopowym, używając oświetlenia z góry.

2. Gąbki (Spongiae)

W bardzo prosty sposób można wykonać stały preparat z gąbki. Bierze się maleńki kawałeczek naszej słodkowodnej gąbki (wielkości główki od szpilki), dokładnie rozdrabnia igłą preparacyjną i bardzo dobrze wysusza na wolnym powietrzu. Następnie układa się go na szkiełku podstawowym, zalewa kroplą balsamu kanadyjskiego i nakrywa szkiełkiem nakrywkowym. Oglądać można na takim preparacie pąki i złogi szkieletowe.

3. Jamochłony (Coelenterata)

Przy wykonywaniu preparatu totalnego z larw chełbi bałtyckiej i stułbi trzeba zwrócić szczególną uwagę na jej prawidłowe utrwalenie. Ażeby możliwie zapobiec skurczeniu

się ciała zwierzęcia, należy stułbię umieścić na szkiełku zegarkowym w minimalnej ilości wody, zaczekać chwilę, aż wyciągnie się i następnie zalać bardzo szybko płynem BOUTINA, podgrzanym do temperatury ok. 70°C. Następnie stułbię płucze się dokładnie w 80% alkoholu, po czym przeprowadza przez alkohole o malejącym stężeniu, wkłada się do wody, a następnie barwi się. Jako barwnika najlepiej jest używać karminu boraksowego lub alunowego. W barwniku preparat pozostawia się na kilka minut, następnie obiekt przeświecła się w olejku goździkowym i zamyka w balsamie kanadyjskim, względnie przeprowadza przez alkohole o wzrastającym stężeniu (wg schematu podanego w rozdz. II) i również zamyka się w balsamie.

Sporządzanie barwnika alunowego i boraksowego

Składniki: 3,5 g alunu boraksowego lub amonowego (ew. siarczanu glinowo-potasowego):

- 2 g karminu,
- 100 cm³ wody destylowanej,
- 1 cm³ 4% formaliny.

Alun rozpuszcza się w wodzie destylowanej, po czym dodaje się karminu. Roztwór gotuje się ok. 1 godziny, dolewając wody. Następnie przesącza się i pozostawia na 2-3 dni, po czym dodaje się formaliny dla konserwacji.

Przepis na płyn BOUINA

- 75 cz. nasyconego wodnego roztworu kwasu pikrynowego,
- 25 cz. formolu (40% roztwór formaliny),
- 5 cz. kwasu octowego lodowatego.

Nasycony roztwór kwasu pikrynowego sporządza się w sposób następujący: 15 g kwasu pikrynowego rozpuszcza się w 100 g wody, ogrzewa do rozpuszczenia, po czym otrzymany roztwór przefiltrowuje się i wykrystalizowuje.

4. Wyplawek (Dendrocoelum sp.)

Wyplawka utrwała się roztworem BOUINA (najlepiej na gorąco). Ponieważ łatwo się kurczy, nie zalewa się go od razu całego utrwalaczem, lecz wkrapla cieniutką pipetą, rozpoczynając od tylnego odcinka ciała. Po utrwaleniu obiektu płucze się go kilkakrotnie w alkoholu 80%, następnie przeprowadza przez alkohole 70% i 50%, wkłada do wody i do barwnika, tj. do karminu boraxowego lub alunowego. Po zabarwieniu obiekt różnicuje się alkoholem 70% z kilkoma kroplami 1/10 n HCl, (do nabycia w handlu), wreszcie odwadnia się i zamyka w balsamie kanadyjskim wg podanego już schematu.

Z utrwalonego w ten sposób wyplawka można wykonać preparaty przekroju poprzecznego. Jednakże wykonanie takiego preparatu wymaga już znajomości techniki mikrotomowej. Omówienie jej przekracza ramy tego artykułu, ma on bowiem na celu zaznajomienie zainteresowanych z prostą techniką sporządzania preparatów totalnych (o dużych wartościach dydaktycznych) oraz takich mikroskopowych, które nie wymagają skomplikowanej, trudno osiągalnej aparatury.

5. Przywry i kolcogłowy (Trematodes i Acantocephala)

W celu znalezienia tych pasożytów należy wyciąć przewód pokarmowy oraz płuca żaby i włożyć je do roztworu fizjologicznego (dla żab 0,6% NaCl). Następnie trzeba roz-

ciąć wyizolowane narządy i znaleźć w nich pasożyty. W jelicie często znajdują się zarówno przywry, jak i kolcogłowy. Otrzymane okazy zalewa się gorącym roztworem BOUINA i dalej postępuje jak z wyplawkami, z tym, że kolcogłowy barwi się karminem boraksowym (3 godz.), przywry zaś alunowym (20 min.).

6. Pijawki (Hirudinea)

Z małych pijawek z rodzaju Harpobdella lub Glossiphonia można również wykonać preparaty totalne, postępując podobnie jak z wyplawkami. Różnica tkwi tylko w sposobie utrwalania. Pijawkę należy uśpić 10% alkoholem, po czym rozciągnąć na kawałku korku lub parafiny, przyczepiając szpilkami jej końce. Dopiero potem zalewa się ją gorącym płynem BOUINA i pozostawia w nim przez 20 minut. Po wyjęciu z utrwalacza płucze się dokładnie w alkoholu 80% i dalej postępuje jak wyżej z wyplawkami.

7. Pajęczaki i owady (Arachnoidea i Insecta)

Z drobnych pajęczaków również można wykonać preparaty totalne. Z owadów mogą to być drobne Apterygota, a z pajęczaków małe pająki (Araneida), roztocze (Acarina) i zaleszczotki (Pseudoscorpionida). Osobniki utrwalone w alkoholu 70% przeprowadza się przez alkohole o malejącym stężeniu do wody włącznie, po czym zamyka w płynie FAURE'a.

Można także zarówno pajęczaki, jak i owady zalewać na szkiełku podstawowym płynem FAURE'a bezpośrednio po zatruciu, bez utrwalania ich.

Jeżeli preparat ma być zamknięty w balsamie kanadyjskim, to obiekt musi być uprzednio całkowicie odwodniony.

Za zamykaniem tego rodzaju preparatów w płynie FAURE'a przemawia fakt, że odczynnik ten ma duże własności prześwietlające obiekt, co jest szczególnie ważne w przypadku zwierząt o twardym, sklerotyzowanym oskórku.

Przy układaniu okazów na szkiełku należy pamiętać o ich starannym rozłożeniu, ażeby po zamknięciu preparatu można było dokładnie obserwować pod mikroskopem budowę zwierzęcia.

IV. P r e p a r a c j a r ó ż n y c h n a r z ą d ó w

1. Preparat narządów gębowych pająka

Sporządzenie trwałego preparatu mikroskopowego narządów gębowych pająka jest bardzo proste, nie wymaga większych umiejętności preparowania. Należy tylko za pomocą igieł preparacyjnych oddzielić od głowotułowia pająka szczękoczułki (chelicerae) i nogogłaszczki (pedipalpi). Przy preparowaniu nogogłaszczek trzeba uważać, aby nie oderwała się od głaszczka płytka żująca, gdyż w takim wypadku narząd gębowy, jako niekompletny, będzie bez wartości. W celu ułatwienia preparacji narządów gębowych oraz ich częściowego prześwietlenia, można przed preparowaniem wygotować głowotułów pająka w 5 - 10% roztworze KOH, przez 5-10 minut, a następnie wypłukać w wodzie zakwaszonej kilkoma kroplami kwasu solnego (HCl). Taki sam wynik można uzyskać przez moczenie danego obiektu w roztworze KOH. W zasadzie długość moczenia czy gotowania zależy od stopnia stwardnienia materiału. W przypadku, gdy pająk przeznaczony do preparacji konserwowany był w alkoholu, a preparat z wypreparowanych narządów będzie zamknięty w płynie

FAURE'a, uprzednie gotowanie w KOH jest zbyteczne. (Uwaga: pająki konserwowane w alkoholu etylowym, jeśli jest skażony alkoholem metylowym, nie nadają się do ługowania).

Wypreparowane narządy gębowe pająka układa się w centrum szkiełka podstawowego, szczękoszczułki w środku, pazurkowatymi członami do siebie, a nogogłaszczki na zewnątrz nich płytką żującą do środka. Następnie preparat zamyka się w płynie FAURE'a lub innym odczynnikiem, jak balsam kanadyjski, gliceryna z żelatyną, masa nitrocelulozowa itp.

Jeżeli są trudności w ułożeniu preparatu na szkiełku, tzn. że po dodaniu do niego odczynnika konserwującego poszczególne części rozsuwają się, można korzystać ze specjalnego kleju do przyklejania obiektu do szkiełka podstawowego. Klej taki przyrządza się z białka i gliceryny. Odważa się równe ilości białka jaja kurzego i gliceryny. Z białka ubija się sztywną pianę i miesza ją dokładnie z gliceryną. Całość należy przesączyć przez podwójny sączek w cieplarni w temp. 30 - 35°C. Do przesącza wrzuca się dla konserwacji kryształek tymolu. W ten sposób otrzymanym klejem smaruje się cieniutko szkiełko podstawowe, a następnie umieszcza obiekt, po czym podsusza preparat, zabezpieczając go przed kurzeniem, i dopiero potem zamyka. (Białko z gliceryną jest głównie stosowane do przyklejania skrawków krojonych na mikrotomie). Można również przyklejać obiekt w sposób prostszy, a mianowicie: szkiełko smaruje się cienką warstwą balsamu kanadyjskiego i układa na nim obiekt, następnie lekko podsusza, po czym dolewa balsamu i nakrywa szkiełkiem nakrywkowym. Podobnie można przyklejać płynem FAURE'a lub innym odczynnikiem.

2. Preparat z brodawek przędnych pająka, tzw. kądziółkóv

W celu wypreparowania brodawek należy uprzednio wylugować odwłok pająka (w 5-10% KOH), a po wylugowaniu dokładnie wypłukać w wodzie zakwaszonej HCl. Dopiero po tych czynnościach można pod lupą wypreparować brodawki z polami przędnymi za pomocą igieł preparacyjnych w wodzie, na szalce PETRIEGO.

Przy sporządzaniu preparatów dla celów szkolnych, wystarczy oddzielenie brodawek wraz z otaczającą je częścią powłoki odwłoka, bez preparowania poszczególnych brodawek. Po wypreparowaniu należy je przenieść na szkiełko podstawowe, w przypadku zamykania ich w płynie FAURE'a bezpośrednio z wody. Jednak bardziej wskazane byłoby sporządzenie preparatu w balsamie kanadyjskim, który przy wysychaniu nie powoduje tworzenia się między poszczególnymi brodawkami przestrzeni próżniowych, trudnych potem do usunięcia. Na preparacie sporządzonym według podanego tutaj sposobu, dobrze są widoczne dwie pary brodawek przędnych: przednia i tylna, a gorzej znajdująca się między nimi środkowa. Poniżej brodawki tylnej widoczne jest pole odbytowe, z mieszczącym się na wznórku odbytowym - odbytem.

3. Preparat odnóży pająka

Preparaty mikroskopowe odnóży pająka można sporządzić bardzo łatwym sposobem. Jak w przypadku brodawek przędnych, tak i tutaj należy wylugować głowotułów wraz z odnóżami i dokładnie wypłukać. Następnie za pomocą pincety wyrwać z głowotułowia nogę, uważając, by wszystkie jej człony by-

ły zachowane w całości. W końcu sporządzić preparat mikroskopowy w wybranym odczynniku.

Dużą wartość dydaktyczną posiadają także preparaty ostatniego członu nogi pająka - stopy, w związku z mieszczącymi się na niej pazurkami i szczecinami. Preparat sporządza się w taki sam sposób, jak w przypadku nogi pająka.

5. Preparat rogówki oka złożonego owada

Dla sporządzenia preparatu mikroskopowego rogówki oka złożonego owada najlepiej wybrać muchówki, dla ich dużych oczu, z których rogówek można sporządzić wiele preparatów. W tym celu głowy muchówek należy wygotować (przez kilkanaście minut) w 10-15% roztworze KOH, a potem dokładnie wypłukać w wodzie z HCl. Następnie dla lepszej widoczności usunąć wszystkie "wnętrznosci", mieszczące się w puszcze głowowej i dopiero potem wypreparować rogówki. Każdą z wypreparowanych rogówek pociąć żyłką na kilka kawałków i z nich sporządzić preparaty w płynie FAURE'a lub innym odczynniku. Poszczególne fragmenty rogówki wystarczająco dokładnie oddają strukturę całej rogówki oka złożonego.

5. Preparaty czułek owadów

Do sporządzenia preparatów mikroskopowych nadają się tylko czułki nieduże, takie, które w całości mogą się zmieścić pod szkiełkiem nakrywkowym; np. czułki komara, muchy, pszczoły, niektórych motyli i chrząszczy itp. Sporządzenie takich preparatów jest łatwe, a ich dydaktyczna wartość przy omawianiu budowy owadów bardzo duża. Cała rzecz polega na oddzieleniu czułka (w całości) z głowy owada i zamknięciu go między szkiełkiem podstawowym a nakryw-

kowym w dowolnym odczynniku. W celu porównawczego zestawienia różnych typów czułek można na jednym preparacie umieścić kilka czułek różnych owadów. Np. nitkowate czułki pszczoły, ze szczecinką piórkowatą muchy domowej, buławkowate bielinka, wachlarzykowate chrabąszcza itp. Sporządzając te preparaty, należy pamiętać, aby owad przeznaczony do sporządzania z jego czułek preparatu, nie był zbyt suchy, gdyż wtedy łatwo odpadają poszczególne człony czułek i wypreparowanie ich w całości jest prawie niemożliwe.

6. Preparat przetchlinki owada

W celu sporządzenia preparatu przetchlinki owada, należy uprzednio wylugować jego odwłok. Następnie po wypłukaniu wypreparować wszystkie wnętrzości, tak aby pozostał tylko sam pancerz odwłoka. Dalej, pooddzielać od siebie szkielety poszczególnych segmentów, a z nich płytki boczne, tzw. pleuryty, na których zwykle mieszczą się przetchlinki. Z preparowanego pleurytu należy wyciąć kawałek błony szkieletowej z mieszczącą się na niej przetchlinką i sporządzić trwały preparat w dowolnym odczynniku.

7. Preparaty fragmentów tchawek owadów

Dla sporządzenia preparatów, przedstawiających fragmenty układu tchawkowego owada, należy rozpreparować od strony grzbietowej odwłok owada. Następnie usunąć ciała tłuszczowe i dotrzeć do przewodu pokarmowego. Przy oglądaniu przewodu pokarmowego przez lupę można zobaczyć, że pętle jelita otoczone są rozgałęziającymi się rurkami tchawkowymi, o srebrzystym zabarwieniu. Preparacji tchawek

należy dokonywać w wodzie. Do sporządzenia preparatu wystarczy fragment układu tchawkowego. W tym celu, za pomocą igieł preparacyjnych, wydziela się kawałek pnia tchawkowego. Następnie przenosi go na szkiełko i przepłukuje kilkakrotnie wodą (wstrzykując ją z pipety), w celu usunięcia zanieczyszczeń, pochodzących z jamy ciała. Po przepłukaniu zamyka się preparat w wybranym odczynniku.

8. Preparaty odnóży owadów

Podobnie jak w przypadku nóg pająka czy czułek owadów, można sporządzić preparaty mikroskopowe odnóży owadów. Preparaty takie mogą być pomocne przy zapoznawaniu się z budową owada, jak i przy badaniu zmian morfologicznych, zachodzących w odnóżach owadów w związku z przystosowaniami do pełnionych funkcji.

Nie każde odnóże nadaje się do tego celu, mogą to być jedynie niewielkie, mieszczące się w całości pod szkiełkiem nakrywkowym. Na przykład odnóże koszyczkowe III p. pszczoły miodnej (Apis mellifica L.), chwytne I p. płoszczyca (Nepa cinerea L.), pływne III p. grzbietopławka (Notonecta sp.) itp. Przy sporządzaniu tych preparatów wskazane jest w celu prześwietlenia uprzednie wyługowanie nóg w KOH, w przypadku jeśli nie zostaną one zamknięte w płynie FAURE'a. Przy zamykaniu odnóży grubszych należy zastosować podpórki unoszące szkiełko nakrywkowe, tzw. "nóżki".

9. Preparaty skrzydeł owadów

Preparaty skrzydeł niektórych owadów mają zastosowanie przy opracowywaniu morfologii owadów, a głównie przy ich

oznaczaniu. Dla celów tych nadają się przede wszystkim błoniaste skrzydła niezbyt dużych owadów, np. pszczoły, muchy, komara, niektórych pluskwiaków itp. Preparaty takie można sporządzać bez użycia płynu zamykającego, tzn. przechowywać je na sucho, między szkiełkiem podstawowym a nakrywkowym. Należy jednak zabezpieczyć preparat przez odpowiednie przymocowanie szkiełka nakrywkowego do podstawowego. W tym celu na rogi szkiełka nakrywkowego, lub lepiej wzdłuż wszystkich jego boków, należy rozprowadzić niewielką ilość balsamu kanadyjskiego, płynu FAURE'a, masy nitrocelulozowej lub innego odczynnika. Wymienione odczynniki można zastąpić szkłem wodnym lub lakierem acetonowym, które to substancje w doskonały sposób łączą ze sobą szkło.

W podobny sposób "na sucho" można sporządzić preparat łusek ze skrzydeł motyli. Łuski ze skrzydła zdejmuje się za pomocą igły preparacyjnej, lekko zdrapując nią "pyłek" (łuski) z górnej powierzchni skrzydła.

10. Narządy gębowe owadów

Nieco bardziej skomplikowane jest wykonywanie preparatów z narządów gębowych owadów. Poniżej omawia się kolejno poszczególne ich typy. Dokładny przebieg czynności podczas preparacji zostanie podany na przykładzie typu najprostszego, tj. gryzącego chrząszczy.

a. Aparat typu gryzącego

Głowę chrząszcza oddziela się ostrożnie skalpelem (może to być zarówno świeżo zabity okaz, jak też suchy, lub zakonserwowany w alkoholu) i następnie gotuje w 20% KOW w celu rozpuszczenia mięśni głowy i aparatu gębowego.

Z chwilą gdy głowa opadnie na dno naczynia, tj. po upływie 2 do 3 minut, wyjmuje się ją z łągu i płucze dokładnie w wodzie lekko zakwaszonej HCl. Następnie głowę umieszcza się na szalce PETRIEGO z wodą, ustawiając ją częścią ciemieniową do siebie, i ogląda pod lupą.

Po dokładnym obejrzeniu wszystkich części aparatu gębowego, można przystąpić do preparacji. W tym celu wbija się między oczy igłę preparacyjną, mocno ją naciskając. Pod lupą łatwo można zauważyć rozsuwające się żuwaczki (mandibulae) i szczęki I p. (maxillae I). Drugą igłą należy oddzielić żuwaczki w miejscu ich połączenia się z głową, rozrywając łączące je miękkie błonki poprzez kilkakrotne przeciąganie igły w miejscach przyczepu. Po oderwaniu żuwaczek, odwraca się głowę częścią dolną ku górze i oddziela ostrożnie wargę dolną (labium) tak, aby nie uszkodzić szczęk. Następnie w ten sam sposób odpreparowuje się szczęki i wreszcie wargę górną (labrum). Podczas preparowania przez cały czas należy przytrzymywać głowę owada igłą preparacyjną, trzymaną w lewej ręce.

I wreszcie, jak zwykle, jeżeli preparat ma być zamknięty w balsamie kanadyjskim, to należy uprzednio odwodnić wypreparowane części w alkoholu abs., 3-krotnego zmieniając. W sumie obiekt musi być przetrzymany w alkoholu 100% 20 do 30 min. Ponieważ wypreparowane części są bardzo małe i łatwo je uszkodzić przy przekładaniu, najlepiej jest włożyć je do małej probówki i zalać alkoholem, zmieniając go po upływie odpowiedniego czasu. Odwodniony obiekt wkłada się do olejku goździkowego lub do ksylenu (w celu prześwietlenia) na 10 do 20 min. Poszczególne części aparatu gębowego układa się na szkiełku podstawowym (jak zwykle

przy sporządzaniu preparatów mikroskopowych uprzednio idealnie wymyтым i wytartym) w taki sposób, aby można było swobodnie obejrzeć pod mikroskopem wszystkie elementy:

Warga górna w części górnej, obok zwrócone ku sobie powierzchniami żującymi żuwaczki, niżej szczęki i u dołu warga dolna (Rys. 33). Po ułożeniu daje się kroplę balsamu kanadyjskiego i zamyka szkiełkiem nakrywkowym, bardzo ostrożnie, dotykając najpierw jednym brzegiem szkiełka balsamu, a następnie delikatnie spuszczać szkiełko całą jego powierzchnią na balsam. W ten sposób zapobiega się powstawaniu banieczek powietrza w preparacie. Jeżeli mimo wszystko tworzą się niewielkie, to należy nacisnąć ostrożnie szkiełko nakrywkowe igłą preparacyjną, banieczki powinny zniknąć. Gdyby okazało się, że kropla balsamu nie wypełnia całej przestrzeni pod szkiełkiem, to trzeba go dodać. Po całkowitym wyschnięciu preparatu, tj. po ok. 14 dniach, oczyszcza się go ksylenem i przykleja etykietkę. W przypadku zamykania preparatów w płynie FAURE'a, podobnie jak w przypadkach poprzednio opisanych, obiekt zamyka się bezpośrednio po wyjęciu z wody.

Celem uniknięcia rozsuwania się poszczególnych elementów, po nakryciu szkiełkiem, wskazane jest przyklejać wy-preparowane części do szkiełka podstawowego w sposób powyższej opisany (IV,1).

b. Narządy gębowe typu gryząco-liżącego

Materiału dostarczyć tu może pszczola (Apis mellifica L.). Głowę pszczoły zakonserwowanej w alkoholu 70% przygotowuje się w 10% KOH, po czym płucze w wodzie zakwaszonej kilkoma kroplami HCl i ogląda pod lupą. Po obejrzeniu

wszystkich części narządu gębowego przystępuje się do preparacji w sposób podany w p. 10a. Preparując narządy gębowe pszczoły, należy zwrócić szczególną uwagę na oddzielenie szczęk, chodzi o to, aby nie uszkodzić i nie oderwać bardzo delikatnych głaszczków szczękowych (palpi maxillares). Po wypreparowaniu preparat zamyka się jak wyżej.

Preparat z narządu gębowego pszczoły można również wykonać bez oddzielania poszczególnych części narządu. Po prostu odcina się głowę wraz z oczami, wyługowuje, płucze i układa na szkiełku, starając się wysunąć jak najbardziej wystające części aparatu. Preparat taki pozwala zorientować się w naturalnym układzie całego narządu, natomiast nie da się na nim obejrzeć szczegółowo budowy jego elementów.

c. Narządy gębowe typu kłująco-ssącego i filtrującego

Głowę pluskwiaka (typ kłująco-ssący) wyługowuje się lekko w 5% KOH i następnie po dokładnym wypłukaniu układa się ją w całości na szkiełku podstawowym, rozkładając poszczególne części narządu gębowego (w tym przypadku żuwaczki i szczęki I p. zmienione w kłujki) w taki sposób, aby były dobrze widoczne. Następnie preparat zamyka się. Głowy komara nie należy ługować. Preparat z aparatu gębowego muchy domowej (typ filtrujący), również najlepiej jest wykonać w całości, nie wyodrębniając poszczególnych jego części.

U muchówek z rodziny Tabanidae należy wypreparować części składowe narządu po uprzednim wyługowaniu głowy przez 2 do 5 minut w 20% KOH.

d. Aparat gębowy typu ssącego

Ten typ narządu gębowego występuje u motyli.

Głowę małego motyla wylugowuje się w 10% KOH, po czym wypreparowuje części narządu, które są tu zredukowane do I pary szczęk, mających kształt ssawki i wargi dolnej. Szczególnie ostrożnie należy preparować wargę dolną, gdyż bardzo łatwo jest uszkodzić znajdujące się na niej głaszczki wargowe (palpi labiales).

11. Preparat tarki (radula) ślimaka

Język ślimaka ze względu na mieszczącą się na nim tarkę, zbudowaną ze stwardniałego naskórka, nadaje się do sporządzenia trwałego preparatu mikroskopowego. W tym celu należy wypreparować pod lupą, za pomocą igieł preparacyjnych, język z otworu gębowego, uprzednio zabitego ślimaka. Język mieści się w dolnej części jamy gębowej. Z powodu jego powierzchni, pokrytej ząbkami, łatwo go wyczuć poza otworem gębowym, przy dotykaniu opuszką palca. Wypreparowany język ślimaka (całość lub kawałek), należy położyć na szkiełko podstawowe, powierzchnią pokrytą ząbkami na zewnątrz do szkiełka nakrywkowego, a następnie zamknąć w płynie FAURE'a lub, po uprzednim odwodnieniu, w balsamie kanadyjskim.

V. Sporządzanie szkieletów kręgowców

Przedstawione tutaj wskazówki, dotyczące metod sporządzania szkieletów zwierząt kręgowych, z konieczności mają charakter ogólny.

Zwierzę, z którego preparuje się szkielet, winno być w stanie świeżym, ponieważ (w takim przypadku) istnieje wówczas większe prawdopodobieństwo zachowania wszystkich części składowych szkieletu, a głównie zębów. Również i poszczególne kości będą miały prawidłowe ułożenie dzięki temu, że mięśnie łączące je nie będą wyschnięte lub skurczone. Zwierzęta konserwowane w alkoholu lub w formalinie nie nadają się do tych celów, gdyż mięśnie ich są stwardniałe i jako takie trudno je oddzielić od kości.

Po zabiciu zwierzęcia np. chloroformem należy najpierw wypreparować z jamy brzusznej wszystkie narządy wewnętrzne, a następnie usunąć razem ze skórą większe partie mięśni okrywających szkielet. W przypadku zwierząt, u których w skład szkieletu wchodzi elementy chrzęstne (np. żaba), należy uważać, aby nie usunąć ich wraz z mięśniami.

Zwierzęta małe (o ciężarze do około 1/2 kg), w celu zdjęcia z nich skóry i mięśni, można zanurzyć we wrzącej wodzie, a po sparzeniu zdjąć z nich za pomocą pincety skórę i mięśnie.

Całkowitego oczyszczenia szkieletu, po zdjęciu z niego skóry i głównej masy mięśni, można dokonać trzema metodami:

1) Przez włożenie szkieletu na 5 do 7 dni do naczynia z wodą o temperaturze pokojowej. Po upływie tego czasu z łatwością można oddzielić od kości wszystkie miękkie części. Wykonując tę czynność, należy jednak bardzo uważać, by nie uszkodzić małych kości (płetw, palców), czy chrząstek (np. u żaby w pasie barkowym i chrząstka gdykowa).

2) Przez polewanie szkieletu wrzącą wodą albo przez wielokrotne, krótkotrwałe (1 min) zanurzanie go we wrzątku.

Po każdorazowym polaniu wrzącą wodą lub zanurzeniu w niej szkieletu, oczyszcza się go z mięśni, używając do tego celu pincety i tępej strony skalpela.

3) Przez gotowanie szkieletu w wodzie w ciągu około 5 do 15 min. W trakcie gotowania należy jednak sprawdzać co pewien czas stan połączenia kości w celu uchwycenia momentu, kiedy kości są jeszcze połączone, a mięśnie można łatwo od nich oddzielić.

Oдноśnie szkieletów małych zwierząt, wydaje się lepsza metoda polewania wrzątkiem. Przy tej czynności wskazane jest umieszczenie szkieletu na sicie, które chroni przed ewentualnym zgubieniem w wodzie kości.

Dla ułatwienia oczyszczenia poszczególnych kości, można rozdzielić szkielet preparowanego zwierzęcia na kilka części: głowę, kręgosłup, pasy - barkowy i miednicowy, oraz kończyny. W celu zachowania przy rekonstrukcji szkieletu naturalnego układu takich kości, jak żebra czy kręgi, można jeszcze przed ich wypreparowaniem ponumerować je, wypisując na nich tuszem kolejne numery.

Kości dokładnie oczyszczone z mięśni, nerwów, ścięgien, naczyń krwionośnych itp., należy przemyć jeszcze kilkakrotnie w gorącej wodzie i, o ile to jest możliwe, wyszorować (odpowiednią do tego celu) szczoteczką. Następnie trzeba kości odtłuścić przez umieszczenie ich w benzynie lub w trójchloroetylenie ("tri").

Chcąc otrzymać ładne, białe kości, można je poddać zabiegowi wybielania. W tym celu należy je włożyć do szklanego naczynia z wodą utlenioną lub perhydrolem, naczynie przykryć płytką szklaną i umieścić na świetle (w celu przyspieszenia reakcji). Wybielanie kości nie może trwać

zbyt długo (od kilku godzin do kilku dni), proces ten należy stale kontrolować, gdyż kości dłużej bielone stają się bardzo kruche.

Przy rekonstruowaniu całości danego szkieletu należy posługiwać się dokładnymi rysunkami, a jeszcze lepiej (o ile jest to możliwe) takim samym już zrekonstruowanym szkieletem. Poszczególne kości łączy się ze sobą za pomocą szybko schnącego i dobrze spajającego kości kleju acetonowego, cienutkich drucików lub skrawków celofanu czy kalki technicznej, w zależności od rodzajów połączeń kości ze sobą.

W celu nadania szkieletowi trwałości i zabezpieczenia przed niekorzystnymi zewnętrznymi wpływami, można go powlecić cienką, ale jednolitą warstewką roztworu metakrylanu butylu. Szczególnie duże znaczenie ma ten zabieg w przypadku szkieletów z licznymi elementami chrzęstnymi, które po wyschnięciu kurczą się (np. u żaby). Szkielety z dużą ilością chrząstki można także przechowywać w 60% alkoholu,

LITERATURA

- ADOLPH W., ŻABA, PZWS, Warszawa. 1950.
- BOGDANOW-KATKOW N.N., RUKOWODSTWO K PRAKTICZESKIM ZANIATIAM PO OBSZCZEJ ENTOMOLOGII, Moskwa, 1947.
- JANEC-SUSŁOWSKA W., OSTEOLOGIA SZCZUPAKA, PWN, Warszawa, 1957.
- KRZYSIK S., CNIDARIA-PARZYDEŁKOWCE. Podręcznik do zbierania i konserwowania zwierząt. Opracowanie zbiorowe pod redakcją W.Polińskiego. Zeszyt 2. Warszawa "Jan Cotty". 1926.
- MACHOWKO W.W. i inni, PRAKTIKUM PO OBSZCZEJ BIOLOGII, Moskwa, 1960.
- MIKULSKA I., PAJĄK, PWN, Warszawa, 1953.
- KRZEMIENIECKI N., ĆWICZENIA Z ZOOLOGII, PWRiL, Warszawa, 1953.
- REJMANÓWNA M. i STUCHLIK L., PRÓBY ZASTOSOWANIA POLIMERÓW W PRACOWNI PALEOBOTANICZNEJ, Wiad. Botan. T.III, Zeszyt 2. 1959.
- SCHILDKNECHT C.E., POLIMERY WINYLOWE, PWT, 1950
- SIMM K., GĄBKI SŁODKOWODNE, PWN, Warszawa. 1960.
- URBANOWICZ K., OSTEOLOGIA KARPIA, PWN, Warszawa. 1956.