

Zoologické preparáty pro výuku přírodovědy a biologie

4. Bezobratlí a menší objekty

Poslední díl seriálu (předchozí viz *Živa* 2020, 3: LXXXIV–LXXXVI) je věnován pryskyřičným, entomologickým, sádrovým a dalším podobným preparátům. Zoologické preparáty zalévané do pryskyřic se začaly vytvářet od 50. let 20. století, kdy se poprvé aplikovaly průmyslově vyráběné, číré pryskyřice určené k těmto účelům. Entomologické preparáty se zhotovují již od 18. století obdobným způsobem. Sádrové, voskové a plastové odlitky živočichů a částí anatomických struktur s následnou kolorací a povrchovou úpravou se objevovaly od konce 19. století, v současné době bývají nahrazovány materiály s větší odolností proti mechanickému poškození. Lze provádět také korozivní preparáty, tedy pryskyřičné nebo silikonové odlitky dutých útvarů, jejichž tkáň je odbourána.

Zalévání přírodnin do pryskyřice

Současný trh nabízí mnoho transparentních pryskyřic, pomocí nichž se dá snadno vytvořit preparát. Pryskyřice mají specifické vlastnosti, proto je nutné dodržovat postup stanovený v příbalovém letáku nebo po opakovaných pokusech postup upravit. Do pryskyřice lze zalévat drobné a malé živočichy do velikosti asi 15 cm. Vhodnější jsou křišťálové pryskyřice, které na rozdíl od dvousložkových nevytvářejí okolo preparátu mléčné zakalení. Některé preparáty vyžadují nejprve odmaštění v benzínu. Pro zalévání objekt je třeba koupit nebo vytvořit z vhodného materiálu (plast atd.) formu adekvátních rozměrů a následně ji ošetřit separátorem, případně vhodným tukem. Před zalitím je nutné živočicha upravit do požadované polohy a tvaru. Bezbarvá polyesterová pryskyřice EfkoXor a tvrdidlo se používají pro zalévání botanických objektů, hmyzu, ryb, malých plazů, savců (obr. 1), drobných kůstek (obr. 2) a dalšího materiálu. Vlivem stabilizačního činidla, které pryskyřice obsahuje, je možné zalévat i mokré předměty. Vytvrzování se provádí přidávkou tvrdidla v poměru 1,6 až 3 % na objem použité pryskyřice, např. na 50 ml pryskyřice se přidá 0,8 až 1,5 ml tvrdidla. V případě pryskyřice GPE 100 je poměr 100 : 1,25. Dále lze použít např. pryskyřici Superacryl Plus, EPOXY 1200, Gédéo nebo ProBase Cold (Odcházelová 2012). Doba mezi smícháním pryskyřice s aktivátorem a aplikací se pohybuje mezi 5–30 min. Nalije se první vrstva, na kterou se živočich umístí, poté se nanáší další vrstva. Při vzniku bublinek vzduchu je odstraňujeme např. jehlou nebo štětečkem. V případě delšího časového odstupu jednotlivých vrstev jsou vrstvy pak viditelné. Po zalití objektu musíme pro dokonalé vytvrzení horní část formy zakrýt. Vytvrzení trvá 50–80 min, podle množství zpracovávaného materiálu a teploty prostředí. Větší

množství materiálu a vyšší teploty tvrdnutí urychlují, nižší teploty zpomalují. V případě práce s dvousložkovou pryskyřicí GPE 100 lze k zalévání objektů použít jednoduché plastové krabičky, bez separátoru. Nejprve nalijeme potřebnou tenkou vrstvu pryskyřice (s ohledem na výslednou tloušťku pryskyřičného bloku), po jejím vytvrzení naléváme druhou vrstvu, do které jemnými kývavými pohyby vtlačíme pomocí pinzety objekt. Poté pozorujeme únik drobných bublinek a vyháníme je nejlépe pomocí jehly. To je nutné provést ještě dříve, než pryskyřice získá „gelovou“ konzistenci (ca po 5–10 min). Vytvrzený blok vymáčkne z plastového média, seřízneme na požadované rozměry a brousíme na smirkovém papíru (postupujeme od hrubšího po jemnější), doporučuje se použít tzv. vodní smirkový papír. Po přebroušení blok leštíme jemnou látkou, na kterou nanese malé množství leštící pasty. Použití této pryskyřice není zcela vhodné u objektů obsahujících větší množství vody. Z tohoto a dalších důvodů je nutné vlastnosti pryskyřic a reakce s preparátem vyzkoušet.

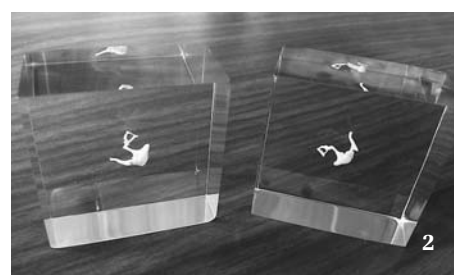
Uložení, poškození a možnosti oprav

Odlitky je dobré uložit do upraveného kufru, který zabrání mechanickému poškození, nebo do vitríny bez přístupu přímého slunečního svitu. Mechanické poškození pryskyřičného bloku s preparátem je v mnoha případech neopravitelné a nezbyvá než zhotovit nový. Některé pryskyřice se mohou začít časem kalit nebo žloutnout, např. účinkem ultrafialového záření.

Entomologické preparáty

● Vzor chvostoskok

Tento způsob preparace se vyznačuje uchováváním hmyzu ve fixačních tekutinách, jako je 4% formalin nebo z důvodu zdravotní nezávadnosti daleko vhodnější 70% etanol. Nejčastěji se používá u chvosto-



1 a 2 Embryo myši domácí (*Mus musculus*) obarvené alizarinem (obr. 1) a středoušní kůstky domácího psa (Saarloosův vlčák, 2), oba preparáty zalité do pryskyřice GPE 100

3 Zleva: Preparace dvoukřídlých (Diptera) podle vzoru chvostoskok (a); vzor brouk – druh *Tricentotoma childreni* z Vietnamu (b); preparace nalepením vzor brouk – *Nacerderes* sp. (stehenáčovití – Oedemeridae), Vietnam (c); a preparace napíchnutím vzor brouk – střevlík *Chrysotribax hispanus*, Francie (d)

4 Správné napíchnutí brouka uprostřed horní třetiny krovky (a) a preparace vzor brouk – levá strana okrasný, pravá strana základní způsob (b)

5 a 6 Uložení hmyzu v balíčku.

Nosatci rodů *Hylobius* a *Liparus* (obr. 5) a nákras uložený brouka v balíčku (6)

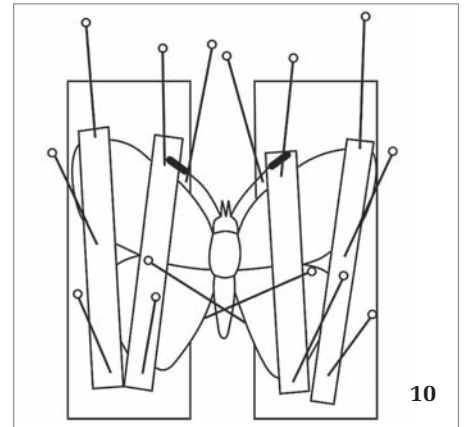
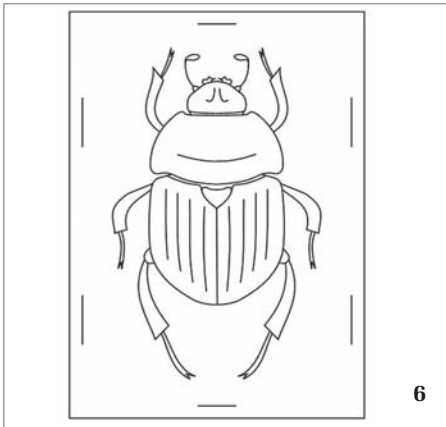
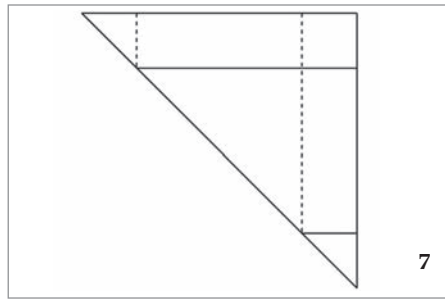
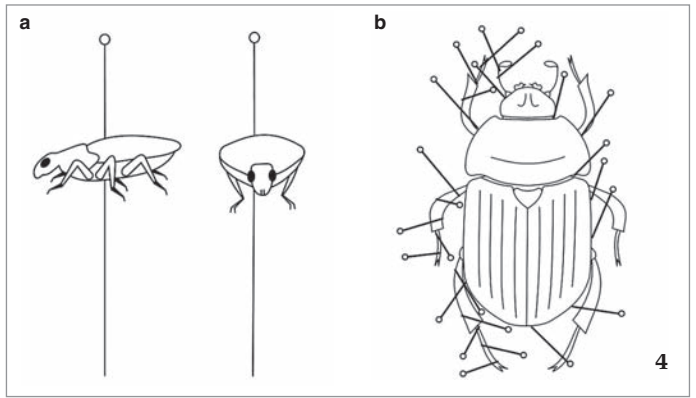
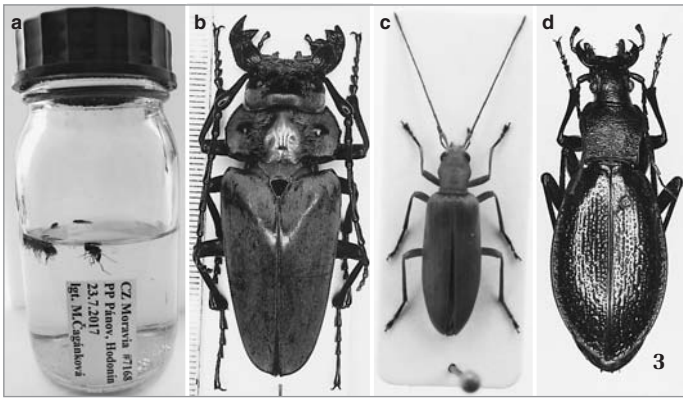
7 a 8 Složený motýlářský sáček (obr. 7) a se vzorkem motýla (Lepidoptera, 8)

9 a 10 Babočka admirál (*Vanessa atalanta*) a žlutásek řešetlákový (*Gonepteryx rhamni*, obr. 9) a preparace vzor motýl (10)

skoků, hmyzenek, pisivek, vší, mšic, chrostíků, dvoukřídlých nebo larev. Preparát je ponořen v epruvetě či ve skleněné lahvičce s lokální štítkem již během sběru (obr. 3a). Metoda zachovává přirozený tvar jedince a často slouží k přípravě mikroskopických preparátů. Epruvety s preparáty lze uchovat i v nádobách se 70% etanolem. Tato metoda se hodí pro hmyz s málo sklerotizovanou kutikulou.

● Vzor brouk

Na rozdíl od tekutinové preparace postup využívá přirozeného vyschnutí jedince. Postup se uplatňuje u řádů brouci, ploštic, rovnokřídlí, blanokřídlí, švábi a vyznačuje se složenými křídly (obr. 3b). Končetiny, kusadla a makadla jsou v přirozené poloze. Preparace můžeme provádět nalepováním na papírový (případně plastový)



štítek nebo napichováním na preparační podložku z polystyrenu či poretenu. V posledních letech se i u velkých exemplářů mnoho odborníků přiklání k metodě nalepování. Okrajem štítku eliminujeme možnost poškození chitínového skeletu, zejména nohou a tykadla. Nejprve je jedinec usmrcen výparů octového éteru v poměru s vodou 1 : 1 nebo etylacetátem, kde může zůstat půl roku až rok. Delší uchování je možné v suchém stavu nebo v mrazicím boxu. Hmyz propereme v sítku v jarové vodě s následným „rozvlhčením“ v Petriho misce s vlhkým filtračním papírem s několika kapkami octa, ledové kyseliny octové nebo lépe okeny (čisticího přípravku na okna). Jedince do velikosti 1 cm pak upravujeme do přirozené polohy – kratší tykadla před hlavu, delší podél těla, nohy přiloženy k tělu a ohnuty. První pár dopředu, druhý a třetí dozadu (obr. 3c). Úpravu provádíme pomocí pinzety, preparační jehly a štětečku. Nakonec zvíře nalepíme na štítek v oblasti hrudi a zadečku disperzním lepidlem. Drobné exempláře, zejména kříšů, blanokřídlých a much, lepíme bez rozvlhčování na špičky trojúhelníkových nebo pětiúhelníkových štítků. Větší jedince napícheme na špendlík co nejlépe jejich těžišti, v případě brouků ve třetině pravé horní krovky (obr. 3d, 4a), u ploštic obvykle do štítku a u rovnokřídlých do zadní části štítu, poté

rovnáme a fixujeme tělní přívěsky pomocí entomologických špendlíků velikosti 000 až 7 (obr. 4b). Správnou výšku jedince při přímém napíchnutí i etiketování kontrolujeme pomocí výškáčku a necháme schnout zhruba týden při pokojové teplotě (Novák 1969). Chitínové útvary hmyzu se dají přibarvovat kyselinou pikrovou. Zamaštěné exempláře můžeme i po preparaci odmastit v lázni lékařského benzínu (jedinci musejí být v naprosto suchém stavu). Delší uložení preparátu je možné v krabici s buničitou vatou, v balíčku (obr. 5 a 6) nebo ve sbírkové krabici. Některé druhy lze lyofilizovat (vysušit, Davies 1954). Lepený objekt je díky štítku lépe chráněn před poškozením při manipulaci, ale obtížně se studují znaky na spodní straně těla. U napíchnutého jedince je tomu opačně.

● Vzor motýl

Využíváme při preparaci jedinců rádu motýli a vážky. Charakteristikou této metody jsou křídla rozevřená a vypnutá do letové polohy, nohy pod exemplářem, tykadla před hlavu. Jedinec se umísť na špendlík nejlépe již v den odchyty. Pokud ne, uloží se do motýlkářského sáčku (obr. 7, 8). Motýl na špendlíku se zabodne do žlábků mezi boční lišty napínadla. Zadeček zůstává ve žlábků a proti poklesu ho podložíme vatou. Křídla fixujeme na dřevěné plošky papírovými nebo celofánovými pásky a krátkými

špendlíky tak, aby zadní okraj předního křídla svíral s podélnou osou těla pravý úhel (obr. 9, 10). Motýl vysychá asi týden (Mourek a Lišková 2010).

● Vzor majka

Tímto způsobem upravujeme kromě majek velké exempláře rovnokřídlého hmyzu, kudlanky, strašilky nebo vážky (obr. 11). Majku usmrcenou octovým éterem přeneseme na preparační podložku, a to ventrální (břišní) stranou nahoru. Zadeček rozstříhneme jemnými nůžkami nebo rozřízneme skalpelem směrem kraniálně k hrudním článkům. Pinzetou vybereme obsah zadečku a vsuneme vatový tampon. Jedince ponoříme do benzínu, kde dojde k odmaštění zbytků tukové tkáně. Poté tampon vytáhneme a místo něj vyplníme dutinu zadečku suchou vatou až do přirozeného tvaru, právě kvůli jeho zachování. Alternativně lze využít injekce formaldehydu. Nakonec majku nalepíme na papírový štítek, případně napícheme na špendlík ve třetině pravé krovky podle vzoru brouk.

● Mikroskopické preparáty

Tato preparace je vhodná u pisivek, třásnokřídlých, všenek, vší, mšic, molíc atd. U dočasných preparátů, jakými mohou být drobný hmyz nebo části těla většího hmyzu, provádíme pozorování mezi krycím a podložním sklíčkem pomocí binokulárního mikroskopu. Zkoumaný objekt se

nachází v tekutém médiu – ve vodě, glycerolu nebo želatině. Poté ho musíme rámovat asfaltem či několika vrstvami laku (na nehty) a po prostudování uschováme preparát do epruvety s fixáží. Trvalé preparáty jsou připevněny mezi sklíčky pomocí tekutého média (např. glycerinu), nebo do pevného média, třeba kanadského balzámu.

● Preparace larev a kukel

U larev hmyzu, kdy nám jde o zachování vnitřních orgánů a nezáleží na zachování barev, uchováváme exempláře v alkoholu, formaldehydu nebo histologické fixáží. Pro sbírku např. housenek motýlů přistupujeme k suché preparaci vyfukováním nebo kožkováním. Při vyfukování se housenka usmrtí v éteru. Potom se stiskne mezi prsty v horní polovině těla mezi dvěma filtračními papíry tak, aby nedošlo k poškození barevných pigmentů. Po vyprázdnění (eviscerace tělního obsahu) vsuneme do řitního otvoru tenkou skleněnou trubičku a housenku ústy nebo balonkem nafukujeme a současně zahříváme nad plotýnkou nebo kahanem ve skleněném válci. Tyto preparáty jsou ideální pro výuku, nevýhodou je však jejich křehkost (opatrně lze preparovat i podle vzoru majka, viz výše).

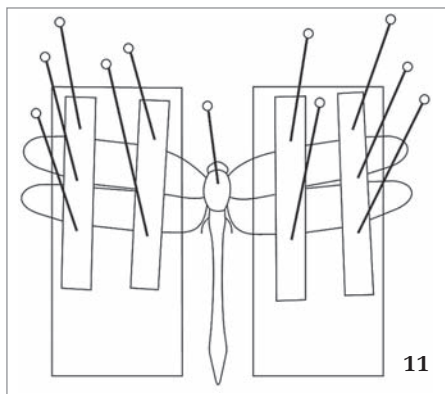
Při kožkování provádíme podélný řez skalpelem na spodní straně těla a celý tělní povrch roztáhneme do vodorovné polohy tak, že pokožka housenky tvarem připomíná staženou kůži. Vybereme vnitřnosti a plochou kožku vložíme do celofánového sáčku nebo mezi dvě sklíčka. Metoda se hodí zejména pro vědecké a dokumentární účely, výhodou je menší křehkost preparátu. Při preparaci kukel mrtvou kuklu nabodneme na špendlík a necháme vyschnout.

● Preparace kopulačních orgánů

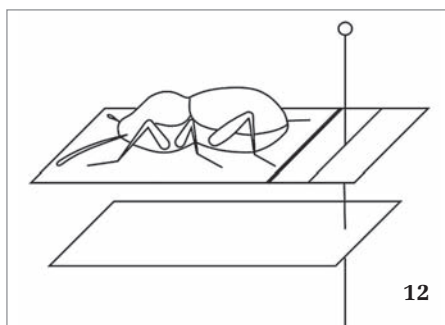
Používá se pro determinaci druhů u některých skupin hmyzu, např. brouků, motýlů nebo dvoukřídlých, u nichž nám jejich uniformita ztěžuje zařazení do druhu či poddruhu. V těchto případech preparujeme samčí kopulační orgán, který je obklopen zvláštním chitinovým obalem s charakteristickými špičkami a vnitřním vakem. Začínáme rozvlhčením a odhrnutím posledního článku zadečku špendlíkem, kde penis vypáčíme. Ten je zasunut mezi hřbetními a břišními zadečkovými články. U dvoukřídlého hmyzu nebo motýlů se vaří konec zadečku v roztoku hydroxidu draselného (KOH). Následně můžeme u vyjmutého kopulačního orgánu studovat i jeho vnitřní vak, když ho přes tenkou jehlu vyplníme vzduchem, silikonem nebo bílou zubní pastou. Konečným krokem je nalepení penisu na zvláštní štítek, poté lze studovat pod mikroskopem. Dobře sklerotizované samčí genitálie mají brouci (ale ne všechny skupiny), u motýlů se dělají spíše mikroskopické preparáty, nebo se samčí genitálie umísťují do plastové epruvety pod napíchnutý exemplář. V případě blanitých a rosolovitých struktur je vhodné uložení do kapsulí s glycerolem. Samičí genitálie se také preparují.

Zakládání entomologické sbírky

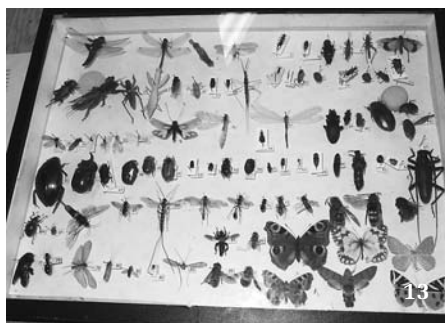
Vypreparovaný suchý materiál na etiketovacích štítcích nebo špendlicích se štítkem (obr. 12) s lokalitou sběru, datem nálezu a jménem sběratele a s determinacním štítkem obsahujícím rodový a druhový název zařazujeme do entomologických krabic. Normalizované krabice jsou zhotoveny



11



12



11 Preparace vážky (Odonata) podle vzoru majka

12 Napíchnutí na etiketovacím štítku s lokálním štítkem. Všechny orig.: J. Tauš

13 Entomologická krabice se skleněným víkem. Snímky z archivu autorů

z lepenky se dnem z plastazotu, izolačního materiálu o síle 10 mm. Dříve se používal polystyren, poretan, plastizol a velkým neštěstím pro sbírku bývala lisovaná rašelina nebo korek (tyto přírodní materiály byly porézní a stávaly se ideálním prostředím pro vývoj škůdců – rušníka, červotoče, kozojeda, viz dále). Krabice je kryta plným nebo proskleným víkem (obr. 13) a polepena černou tapetou. Rozměry bývají 23 × 30 cm, 30 × 40 cm a 40 × 50 cm. Materiál řadíme podle taxonomických jednotek, řádů, čeledí, rodů, druhů a poddruhů. Sbírkové mají hodnotu vědeckou, sběratelskou i estetickou.

Ochrana sbírky hmyzu

Je nezbytné dodržovat několik důležitých zásad. Do sbírkových krabic vkládáme materiál vždy naprosto suchý, jinak dochází k rozvoji plísní a korozi ocelových špendlíků. Krabice uchováváme v těsných skříních a suchých místnostech při teplotě 16–25 °C. Tím zamezíme vniknutí škůdců. Nejčastějšími jsou larvy rušníků (*Anthrenus*) a kozojeda (*Attagenus*), živící se chitinovými těly mrtvého hmyzu, a pisivky (*Psocoptera*), které napadají tkáně spojující jednotlivé

hmyzí články. Pro uložení sbírkového materiálu používáme pouze kvalitní těsné krabice. Do krabic a skříní lze jako preventivní opatření vložit repelentní látky. Můžeme použít látky neobsahující nitrobenzen – Invet, naftalen (k zakoupení např. na www.entosphinx.cz), Biolit, thymol nebo Dermestes stop. Z vlastní zkušenosti postačí těsné krabice a občasná kontrola jejich obsahu. Při zjištění výskytu škůdce je nutná jeho fyzická likvidace a následné umístění krabice do mrazicího boxu po dobu jednoho týdne. Při teplotě -30 °C se zničí veškeré živé organismy včetně jejich vajíček.

Nejčastěji dochází k mechanickému poškození během manipulace s krabicemi nebo škůdci sbíre. Pokud jde o cenné exempláře, je třeba se obrátit na preparátora, který se zabývá hmyzem, aby zhodnotil možnosti opravy a případně je i provedl.

Preparace schránek měkkýšů

Pokud jsou ulity nebo lastury starší a vnitřek neobsahuje měkké tkáně, provádí se pouze opatrné mechanické očištění. V případě, že se uvnitř stále nachází mrtvý plž nebo mlž, je třeba ho zkusit opatrně mechanicky odstranit. Když to jde obtížně, lze vnitřek ulity macerovat např. 40% etanolem nebo 0,5% hydroxidem sodným (NaOH) a postupně opatrně odstraňovat. Pokud má schránka periostrakum, můžeme je čistit např. ponořením do vodného roztoku chloru 1 : 1 na zhruba hodinu. Po chemické preparaci je vhodné proces neutralizovat vypráním ve vodě.

Výukové modely ze sádry a dalších materiálů

Sádrové a další modely (Brodersen 1913, 1914) se dnes již prakticky nepoužívají kvůli nevhodným vlastnostem (až např. na odlitky pobytových stop zvířat při terénních exkurzích). Poškození v podobě prasklin nebo odlomení části modelu se dají opravit výtuzí z drátků s doplněním pryskyřicí či sádrou a následným kolorováním. Daleko vhodnější jsou v současné době běžně dostupné modely z umělé hmoty nebo silikonu, které sádrové odlitky zcela nahrazují. Dalšími alternativami jsou drahé výrobky z plastů nebo korozivní, nástřikové preparáty, které se zhotovují nástřikem kolorovaného média, nejčastěji do cév s následným tvrzením a odbouráním měkkých tkání v kyselině, případně louhu. Vzhledem k poměrně náročnému postupu je vhodné si je zakoupit u internetových prodejců.

Závěrem

Preparace pryskyřičné, entomologické a další lze provádět i při výuce pod vedením zkušeného pedagoga. Vytváření preparátů studenti rozvíjí praktické dovednosti při práci s biologickým materiálem, rozvíjí kompetence k učení a řešení problémů při určování jednotlivých skupin organismů. Významem vyučovacích modelů a biologických preparátů ve školní praxi se zabývají i některé publikace (např. Jančaříková 2017), kde najdete další inspiraci a podrobnější informace.

Tento seriál bychom chtěli věnovat našemu kolegovi Luboši Bílkovi.

Použitá literatura je na webu Živý.