

## Genitaalpreparaten van kevers maken

---

In een nieuwsbrief van april 2000 uitgegeven door de sectie Everts (Nederland) vonden we deze methodes voor het behandelen en bewaren van genitaalpreparaten van kevers. De bewaarmethodes zijn echter ook geschikt voor genitaliën van andere insecten. We geven de tekst hier integraal weer.

### Doden van kevers (Enkel indien echt nodig!!)

Hoe kevers geprepareerd worden is mede afhankelijk van de wijze waarop de kevers gedood en daarna bewaard zijn.

*Azijner* (ethylacetaat) is het meest geschikt wanneer men later genitaalpreparaten wil maken. De kevers kunnen daarna bewaard worden in 60 - 70% alcohol (of tijdelijk ingevroren worden in een vriesvak). Tegen verdamping van de alcohol kan men er wat glycerine aan toevoegen.

*Kokend water* - Een snelle manier, voornamelijk geschikt voor grotere kevers. Niet voor harige soorten.

*Laurierkers* (*Prunus laurocerasus*) - Ouderwets middel. Jonge blaadjes in stukjes snijden en met een hamer tot moes slaan of in een oude koffiemolen vermalen. Leg het moes onder filtreerpapier in de vangpot. Doodt langzaam maar effectief. De kevers blijven suf als de vangpot wordt geopend. Het middel voorkomt tevens rotting en schimmel. Niet geschikt voor grote kevers! - *Smart*. 1962. *Instruction for collectors 4a: Insects. British Museum (Natural History) London*.

Het doden van kevers in **alcohol**, **formaline** of **benzine** is af te raden: de dieren verstijven hierdoor min of meer.

### Genitaal uitprepareren.

De wijze waarop het genitaal uit de kever wordt verwijderd is afhankelijk van de kevergroep. Een bekende techniek is de volgende: bij verse, net opgeplakte exemplaren trekt men het achterlijf onder de dekschilden vandaan met een kromme insectenspeld. Hieruit verwijdert men het genitaal met dezelfde speld. De laatste achterlijfssegmenten kunnen dan achter het dier op het kartonnetje geplakt worden. Gedroogd materiaal in azijn (5-7% zuur) 5 - 10 minuten op een theelichtje (even in de magnetron lukt ook; verwijder wel eerst de speld!). Vaak moet het hele achterlijf verwijderd worden. Met twee gebogen spelden kan men de zachte tergieten scheiden van de sternieten waarna het genitaal eruit gehaald kan worden. Daarna achterlijf weer op het kartonnetje plakken of weer terugplaatsen. Het genitaal kan men

in een druppel glycerine op een voorwerpglasje bekijken. Jordan (1963) adviseert een alcoholglycerine mengsel of alcohol-ethyleenglycol mengsel om uitdroging van het genitaal tijdens het bekijken te voorkomen. Plak na afloop het genitaal op het kartonnetje van de kever. Een genitaal dat van één zijde wordt bekeken en plat genoeg is, kan ingesloten worden tussen voorwerpglasjes. Fijne structuren zijn nu goed waar te nemen. Voor een aantal keversoorten is dat zelfs noodzakelijk. Gebruik twee dekglasjes (10x10 mm., liefst kleiner) of neem als drager stevig plastic folie (b.v. van sheets). Sommige insluitmiddelen zoals Canadabalsem en DHMF kan men ook zonder dekglas gebruiken. De weefselresten van het genitaal kan men in een druppel water met een fijne naald verwijderen. Daarna plaatst men het in een druppel insluitmiddel op het dekglasje. Door plaatsing van het tweede dekglasje gaat het genitaal soms schuiven. Dit is te voorkomen door het preparaat eerst op het glas te laten drogen en pas later het insluitmiddel aan te brengen. Luchtblaasjes tussen de dekglasjes verdwijnen doorgaans in enkele uren. De dekglasjes vervormen het genitaal soms, maar zolang dit reproduceerbaar is, is dat geen bezwaar. Zo nodig kan men strookjes doorzichtig kunststof (van een sheet) ter ondersteuning onder het tweede dekglasje leggen. Plak de glasjes deels op een tweede kartonnetje (met plasticlijm) en prik het aan de speld van de kever. Kever en genitaal horen aan dezelfde speld te zitten: het risico dat de opgezette kever en het gescheiden microscoopglasje na verloop van tijd elk een eigen weg gaan, is aanzienlijk!

*Onprepareerbare kevers* - In formaline of benzine gedode kevers zijn zeer moeilijk of vrijwel niet te prepareren. Het door deze stoffen gemodificeerde proteïne kan men afbreken met Pepsine. Los 1 gram Pepsine in 100 ml water op en voeg daarna 1 ml geconcentreerd zoutzuur toe. Kevers uit alcohol of formaline eerst goed spoelen. Kleine soorten 3 à 4 dagen in oplossing leggen; voor grotere dieren is tot 14 dagen nodig. - *J Kless. 1989. Die Käfer Mitteleuropas 12: 16-17.*

*Zwelveleistof* - Onderstaande methode van Scheerpeltz is bruikbaar voor materiaal dat *niet* in alcohol of formaline is gedood! Na doding, bij de kleinste keversoorten zo snel mogelijk en in elk geval binnen 2 à 3 uur, overbrengen in aangezuurde alcohol: voeg aan 70% alcohol (bij kleine dieren) of 75% alcohol (voor grotere dieren) ijsazijn (onverdund azijnzuur) toe. Op 30 - 50 cm<sup>3</sup> 1 druppel ijsazijn (kleine dieren) of 2 à 3 druppels (grotere dieren) toevoegen. Na enkele uren zwelt het achterlijf wat op. Na enkele dagen zwelt het genitaal uit het achterlijf. Een paar dagen later stulpt ook de interne zak van het mannelijk genitaal uit. Als men het genitaal droog wil prepareren dan moet men trapsgewijs alcoholpercentage (zonder ijsazijn) naar 96% verhogen, daarna dompelen in terpentijn en tenslotte in xylol. De uitgestulpte interne zak blijft dan onvervormd en verschrompelt niet. Zijn de te behandelen kevers reeds gedroogd, dan opkoken of langzaam met warm water opweken (evt. met druppeltje afwasmiddel). Is er geen (droge) rotting opgetreden, dan werkt de zwelveleistof eveneens, maar niet zo spectaculair. . *Scheerpe/tz. 1927. Kol. Rundschau 13: 246-251.*

*Kaliloog* (KOH) - Verkleefd weefsel rond het genitaal van gedroogde kevers kan met een

10% oplossing van (evt. verwarmd) kaliloog verwijderd worden. Pas op met kaliloog voor met spetters in gezicht, handen en kleding. Leg je het genitaal te lang in kaliloog, dan lost het geheel op! Grondig uitspoelen in alcohol!

*Melkzuur* - In plaats van kaliloog kan men ook 30% melkzuuroplossing gebruiken. Deze vloeistof maakt het verkleefde weefsel los en verheldert het preparaat, waardoor de fijne structuren beter te zien zijn. Goed uitspoelen in water! *Steffan. 1957. Ent. Blätter 53: 176-179.*

*Genitase* - Eveneens voor het oplossen van fijn weefsel. Biopraxis verkoopt het enzym, onder de naam Genitase. Neem 7 druppels drinkwater met een druppel afwasmiddel. Voeg een paar kristallen kaliumcarbonaat aan toe. Dan 4 à 7 korrels van het enzym. Goed roeren. Genitaal gedurende een nacht in deze oplossing leggen. De fijne weefsels zijn dan opgelost. Het proces kan versneld worden door de temperatuur te verhogen (optimum = 60°C.) Het genitaal kan zonder bezwaar enige dagen in de oplossing liggen. Uitspoelen in een druppel water. - *P. Kanaar. 1990. Ent. Ber. 50: 141-142.*

*dr.Beckmanns vlekken reiniger* - Deze vlekkenreiniger voor bloed en eiwitten is bij Het Kruidvat te koop en te gebruiken als een kant-en-klare vloeistof en werkt als Genitase. (tip van Hommo Edzes)

*Kleuren van preparaten* - Indien nodig kan men te lichte preparaten kleuren. Hiervoor zijn in de microscoophandel verschillende kleurstofoplossingen verkrijgbaar, zoals: methyleenblauw (Biopraxis), carbofuchsine (Biopraxis) of pyrogallol. Recept pyrogallol: verzadigd oplossen in 70% alcohol en verwarmen tot 40 - 60°C. Het preparaat 10 minuten tot enkele uren behandelen. - *Jordan, 1963. Ent, Nachr. 3: 26- 28*

## Insluitmiddelen.

Bij gebruik van insluitmiddelen op waterbasis kan het genitaal gemakkelijk weer verwijderd worden voor later onderzoek. Voorbeeld: *Berlese* en *Aquamount*. Indrogen en kristalliseren van het preparaat kan men voorkomen door de glasranden met nagellak te verzegelen en daarna met paraffine in te smeren. Onder invloed van chemicaliën die niet goed uitgespoeld zijn (b.v. kaliloog, melkzuur), kan gehele zwarting van het preparaat optreden! Insluitmiddelen met chloraalhydraat ontkleuren het preparaat op den duur!

*Canadabalsem* en *Euparal* kennen die bezwaren niet. Bij deze stoffen dient men de preparaten echter eerst ontwateren. (stapsgewijs alcohol 50%, 80% 95% 100% ethanol; meestal voldoet ook twee keer spoelen in ijsazijn).

Als men het genitaal van meerdere zijden moet onderzoeken kan men het beter onbehandeld op een kartonnetje plakken. Voorbeeld: *Gummisirup*.

Van Doesburg beschrijft "microvials" uit PVC-slang om genitaliën in b.v. glycerine te

bewaren. - *P.H. van Doesburg. 1980. Ent. Ber. 40:177-178.*

*Gummisirup* - Naar Apáthy, 1892. Dit insluitmiddel is in water oplosbaar en hardt snel uit. Bruikbaar op doorzichtige kunststofplaatjes (van sheets) of op kartonnetjes. Alcohol maakt de substantie troebel. Het wordt niet bros en er ontstaan geen barstjes. Heldert het preparaat niet op (huidachtige structuren blijven beter zichtbaar). Ook geschikt voor microscooppreparaten op voorwerpglasjes. Recept: 1 deel Arabisch gom, 1 deel geraffineerde suiker. In 70% azijnzuur (b.v. verdunde azijnessence) oplossen tot een honingachtige substantie verkregen is. Door de luchtblaasjes ziet het er troebel uit, maar na enkele dagen is het weer helder. Brekingsindex 1.52. - *Franzen & Kamer.1998. Die Käfer Mitteleuropas 15: 20-22.*

*Berlese* - Dit insluitmiddel heldert het preparaat op. Minder geschikt voor in kaliloog bewerkt materiaal! Recept: 12 gram Arabische gom, 20 gram chloraalhydraat, 5 ml ijsazijn, 5 ml 50% glucose-oplossing, 30 - 40 ml. gedistilleerd water. De Arabische gom wordt in gedistilleerd water opgelost. De overige ingrediënten in bovenstaande volgorde toevoegen. Laat een druppel op een objectglasje opdrogen. Het moet zeer licht barnsteenkleurig zijn. Is het korrelig of witachtig, dan bevat het mengsel te veel glucose. Dan moet men een tweede hoeveelheid Berlese aanmaken, nu echter zonder glucose. Voeg telkens een kleine hoeveelheid van de eerste oplossing eraan toe. Test het mengsel iedere keer op kleur en structuur door een druppeltje te laten drogen, tot het mengsel de geschikte samenstelling heeft. Brekingsindex 1.48. - *Franzen & Kamer, 1998. Die Käfer Mitteleuropas 15: 20-22.*

*Aquamount* - Biopraxis verkoopt onder deze naam een kant en klaar in water oplosbaar insluitmiddel.

*Canadabalsem* - Insluitmiddel Canadabalsem (hars van *Abies balsamea*) evt. oplossen in xylol (kankerverwekkend!). Preparaten via alcohol of ijsazijn watervrij maken. Het is een betrouwbaar insluitmiddel (barnsteen!) en heeft een gunstige brekingsindex (1.52 - 1.54). Na jaren vergeelt Canadabalsem.

*Euparal* - Insluitmiddel Euparal heeft een brekingsindex van 1.48. Oplosbaar in absolute alcohol. Objecten moeten beslist watervrij zijn! Preparaat uitwassen met alcohol, aceton of Euparal-essence. Euparal vergeelt niet.

*Entellan* . Een synthetische harssoort, die te koop is bij Biopraxis. Brekingsindex 1.491.50.

*Entofix* - Deze lijmsort op waterbasis laat zich ook gebruiken voor microscooppreparaten. Pas wel op voor indrogen! Te koop bij Biopraxis.

*DMHF* - Het insluitmiddel dimethylhydantoïne formaldehyde (DMHF), een grondstof uit de haarlakindustrie, is ideaal voor preparaten op waterbasis op kartonnetjes of voor preparaten op

objectglazen. Heeft een zeer goede brekingsindex (1.54), is heel helder en barst niet. Het is in Engeland te koop, maar niet in kleine hoeveelheden. - *F. Bameul*, 1990. *Le DMHF: un excellent milieu de montage en entomologie*. *Entomologiste* 46: 233-239.

Zie verder: *J. Huijbregts*. 1988. *Chemicaliën voor de keververzamelaar*. *Nieuwsbrief EIS-Nederland* 18: 11-13.

Het allergrootste probleem is dat veel preparaten op termijn uitdrogen, barsten of zelfs zwart worden. De verschrikkelijke details zijn te vinden in: *Brown*. 1997. *A review of techniques used in preparation, curation and conservation of microscope slides at the natural history museum, London*. *The Biology Curator* 10.

Met dank aan Oscar Vorst en Hans Huijbregts voor hun kritische opmerkingen.