

NOTA CIENTÍFICA

INSUFLADO: UNA FORMA INUSUAL DE CONSERVACIÓN DE ESTADÍOS LARVALES (LEPIDOPTERA, COLEOPTERA, DIPTERA Y NEUROPTERA)

INSUFLATED: AN UNUSUAL FORM OF CONSERVATION OF LARVAL STAGES (LEPIDOPTERA, COLEOPTERA, DIPTERA AND NEUROPTERA)

Rubén A. Guzmán Pittman

Asociación Científica Para la Conservación de la Biodiversidad, Lima, PERÚ. ragp1981@gmail.com // <https://orcid.org/0000-0002-9826-6100>

Recibido: 15 de abril de 2021. Aceptado: 15 de junio de 2021. Publicado online: 30 de junio de 2021.

Citación: Guzmán, R. 2021. Insuflado: Una forma inusual de conservación de estadíos larvales (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera y Neuroptera). *Sagasteguiana* 9(1): 45-56.

La conservación de los estadíos inmaduros de algunos órdenes de insectos ha tenido un interés para los investigadores desde el inicio de las colecciones. El problema constante era lo mórbido de las muestras, ya que el exoesqueleto no está altamente quitinizado como en los adultos, lo que tiende a encogerse y contraerse al momento del secado o a deformarse al conservarlo en líquidos como en el alcohol; tradicionalmente se vino realizando colecciones clásicas con la técnica de insuflado, que permite acceder a ventajas tales como la conservación del color y la forma del espécimen, así como de mostrar características que son inapreciables con especímenes contraídos en alcohol.

Pero debido a que es un proceso laborioso, que demanda tiempo, paciencia y la posibilidad de malograr especímenes. Esta técnica de insuflado facilita y reemplazó casi en su totalidad a la conservación básica en líquido, que tiende a decolorar los especímenes por la disolución de los pigmentos en reacción a los conservantes.

Desde finales del siglo XIX, los naturalistas buscaron conservar los estadíos inmaduros de los insectos, particularmente del orden Lepidoptera, por lo que se ideó el insuflado, una técnica que poco ha cambiado desde las primeras colecciones de finales del siglo XIX conservadas en museos como el Smithsonian National Museum of Natural History, o la colección entomológica de Cornell University. En algunos casos incluso se pintaba manualmente los especímenes para recuperar el color original, lo que no es conveniente para especímenes destinados a la investigación.

Colecciones históricas de orugas insufladas han sido encontradas guardadas en muy buen estado en lo más recóndito de las colecciones de los museos; recientemente, se encontró una colección de larvas de lepidóptera insufladas en la Colección entomológica del Colegio de Agricultura y Recursos Naturales de la Universidad de Estado de Michigan, con especímenes que datan entre 1881-1916 colectados y preparados por el profesor A.J. Cook (Michigan University, 2019).

Aunque la técnica amerita ser usada, lo más simple para la mayoría, es colocar los especímenes directamente en alcohol (Gaviño, 1972), ya que conserva los órganos internos y todo el animal, con el inconveniente de que puede teñirse de verde y otros pigmentos después de morir la larva o quedar en posiciones que dificulten su estudio; al igual que todas las técnicas de conservación, tiene sus ventajas y desventajas, por lo que se recomienda no sólo usar el insuflado

en colecciones científicas si no todas las técnicas disponibles para una sola especie, de tal forma de tener material con diferentes métodos de conservación para estudios más detallados.

Si bien se comenta la técnica en los cursos de conservación de colecciones entomológicas, muy poco se practica. Son muy escasos quienes en el siglo XXI dominan la técnica de insuflar larvas y se tienen hasta tres formas de montaje que requieren mayor o menor daño al espécimen insuflado.

Por otra parte, los especímenes conservados en líquido tienden a blanquearse u oscurecerse rápidamente, y en el caso de las larvas con pilosidades, estas se quiebran o se desarticulan de sus inserciones y finalmente quedan suspendidas en el líquido, otro inconveniente con el alcohol, es que los componentes internos tienden a endurecerse a las pocas horas, y sin un recambio periódico, las muestras se pierden. El recambio significa casi necesariamente una manipulación, por lo que se da un paso más en el deterioro de la muestra, ya que se las tienen que manipular directamente.

En relación con las larvas de lepidópteros se desarrollan también otras técnicas como el extendido y secado de las pieles de larvas, es una técnica aún menos habitual, que supone cortar el vientre de la larva, y extender la piel (como se hace en los herbarios) sobre una cartulina de pH neutro, bien extendida para mostrar todos los detalles. Lamentablemente por desgracia, la piel tiende a deteriorarse por la manipulación y no queda en buenas condiciones.

LA TÉCNICA

En esta experiencia se ha modificado la técnica básica tanto de Hammond, 1942 - 1960 como de Arroyo, 1975. El montaje realizado es una adaptación a los tradicionales, de tal forma de poder mostrar el máximo de características taxonómicas diagnósticas, además de en lo posible, conservar el color, excepto el verde que se pierde en cualquier forma de conservación.

Básicamente consiste en extraer el contenido del espécimen por presión, inflarlo de aire y a la vez secarlo (Hammond, 1948; Hammond, 1960), de tal manera que la piel se expanda mostrando todas las características diagnósticas que se requieren para determinar la especie u otros trabajos de investigación. El trabajo es delicado y no se preparan de esta técnica especímenes aceptables en los primeros intentos, por cuanto debe haber un equilibrio entre la presión del aire insuflado, la tensión de la piel, y el calor usado para el secado, dependiendo de esas variables el insuflado va a ser aceptable (Arroyo, 1875).

PROCESO

Paso 1.- Con una aguja de tamaño adecuado, introducir por la abertura anal con cuidado de no atravesar la piel, hasta llegar a la cabeza, donde con la punta, se hacen movimientos pendulares para separar el esófago de la boca.

Paso 2.- Se retira la aguja, y con sumo cuidado se presiona desde el primer segmento torácico hacia atrás, si deslizar sobre la piel cubierta por papel higiénico o papel toalla, presionando suavemente llevando el contenido hacia la abertura posterior donde se invaginará el tracto digestivo. Evacuándose consigo todo el resto de órganos, cuerpo graso y hemolinfa; acción que se repetirá hasta que la piel en su interior quede completamente limpia, y con el cuidado necesario para no desprender la membrana interna de la piel que contiene los pigmentos de ésta. Se deja unos 5mm de los intestinos, que actuarán como tapón al momento de inyectar el aire.

Guzmán: Insuflado: una forma inusual de conservación de estadios larvales (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera y Neuroptera).

Paso 3.- Se inserta luego una aguja hipodérmica (o de insulina, dependiendo del tamaño) por la abertura posterior, ésta se conecta por medio de una manguerilla de acuario, a una o más bombas de aire de acuario para controlar la cantidad y presión de aire insuflado. No tiene que romperse la piel en ningún punto del cuerpo de la larva, esto permitiría la salida de aire y el desinflado de la piel con lo que esta colapsa y no se llega a un insuflado aceptable.

Paso 4.- Se enciende un bombillo incandescente de 100W para la emisión de calor, introduciéndolo, por debajo, en una lata lo suficientemente grande para que entre con facilidad este; dejando espacio en los bordes para el ingreso de aire; la corriente de aire se canaliza por una segunda lata (previa resección de ambos lados) de tal manera que se dé un flujo de aire caliente continuo (túnel de aire caliente).

Paso 5.- Encender la bomba de aire para iniciar el insuflado; se introduce la aguja hasta casi la mitad interior del espécimen y en que la piel extendida (de ser posible) y se lo coloca por la parte superior del horno improvisado, de tal forma de que el calentamiento sea homogéneo, girando el espécimen y cambiando de vertical a horizontal, cuidando siempre de que la aguja no se pegue en la cara interna de la piel.

Paso 6.- Controlar constantemente la presión de aire, de tal forma no sea tan poca que colapse la piel, ni tanta que la dispare o la reviente. Esto permitirá que la piel se seque completamente estirada; no será un estirado perfecto, ya que las capas musculares dejan una tenue marca al secarse, el proceso puede durar varios minutos, inclusive horas.

Paso 7.- Una vez seco el espécimen, se retira de la fuente de calor, aún con la aguja y motor conectados hasta que adquiera la temperatura ambiental, cortando con sumo cuidado la porción evaginada del intestino que sobresale por la abertura posterior.

Paso 8.- Se retira con cuidado la piel seca insuflada de la larva y se prepara el montaje. Con un alfiler entomológico #06 un trozo de corcho de 4 x 4 x 10 mm y un alambre galvanizado delgado de 0.52mm aproximadamente; se atraviesa el alfiler en el corcho, quedando a 10mm de la cabeza por uno de los extremos del corcho, por el otro, perpendicular al alfiler, se atraviesa el alambre de longitud adecuada (unos 100mm) y se enrolla en la base aproximadamente 10mm.

Paso 9.- Se insertan los filamentos libres del alambre por la abertura posterior de la larva, permitiendo que ingrese por lo menos a la mitad del cuerpo, en larvas arqueadas como Geometridae, se curva ligeramente el alambre para que sólo ocupe la porción ascendente.

Paso 10.- para finalizar, se coloca una gotita de cola sintética u otro adhesivo líquido en el punto de entrada de los alambres, moviendo hacia delante la piel de la larva y volviéndola a su sitio después de colocar el pegamento. Se colocan las etiquetas de datos básica y taxonómica y se ingresa el espécimen a la casa Smith de cuarentena, posteriormente puede incluirse dentro de la colección principal junto con los adultos, pupas y huevos (Fig. 3) o independientemente en una colección exclusiva de larvas (Fig. 2).

Montajes alternativos

El montaje descrito es uno entre tres principales, se podría decir que es el más recomendable ya que muestra todo el espécimen. Otro es pegar las pseudopatas a una varilla o ramita que después será traspasada por un extremo por el alfiler entomológico, lo cual impide una observación de los extremos de las pseudopatas, luego una similar es introducir por la abertura posterior un trozo de

corcho o madera blanda (Álvarez, 1974) y por el extremo libre atravesar el alfiler, esta varilla puede dañar el espécimen, por lo que se tiene que tener sumo cuidado.

Recomendaciones

En caso de especímenes muy pequeños, donde no se pueda incluir el alambre sólo queda mantenerlos en alcohol; asimismo, parte de los especímenes de un lote se conservan insuflados, la otra parte en alcohol. Los especímenes con cerdas o pelos muy abundantes, se los trata con mucho cuidado, en el momento de la expulsión de las vísceras, se presiona de tal forma que los pelos se alineen con la dirección de la presión (hacia atrás, en posición natural), en caso de especies urticantes, hacerlo todo con guantes adicionalmente, así como también con mascarillas y lentes protectores; para colecciones científicas, no se realiza otra operación adicional, pese a que antaño se recuperaba el color pintándolo tal cual era el espécimen original.

Para larvas muy pequeñas, se recomienda usar una aguja de insulina, para las de mayor tamaño, distintas medidas de tubos de plástico, incluso, la porción anterior de pipetas Pasteur, de tal forma que se amolde a la posición posterior de la larva a insuflar.

En larvas muy pilosas, hay que tener sumo cuidado de no romper los pelos, para lo cual, se las coloca en una plancha de espuma de poliestireno expandido, en posición natural, fijándola lateralmente con alfileres para proceder al montaje, teniendo siempre sumo cuidado de no romper las pilosidades, ya que son de carácter taxonómico, las larvas que no presentan pigmentos, terminan transparentes aunque de la forma casi exacta de la larva en vida, dejando ver las tráqueas que se extienden debajo del tegumento, el inconveniente es que deja ver con facilidad los alambres introducidos.

VENTAJAS

Dado a que es material seco, se los puede incluir junto con los especímenes adultos o pupas secas para conservar el conjunto taxonómico (Fig. 3). La coloración se conserva, tanto los tonos pardos, rojizos o amarillos quedan muy bien conservados (Fig. 5-9), excepto los tonos verdes que se pierden, ya que son los pigmentos de la hemolinfa, en ciertos casos, el color puede alterarse debido al calentamiento que se necesita para secar las pieles. Un color marrón claro puede tornarse algo rojizo, lo mismo que cuando se incluye en alcohol.

Las pilosidades se conservan perfectamente, y debido a la expansión de la cutícula por el insuflado, se evidencian con facilidad los segmentos y las características de las inserciones de las cerdas al cuerpo, condición que no se puede lograr en los especímenes conservados en líquido, así como que no se distorsionan o encorvan de manera extraña, mostrando características que normalmente se ocultan en las zonas de pliegue de la cutícula de las larvas; un buen insuflado permite que la piel se extienda perfectamente dejando observar todos los detalles en el mejor de los casos, se conservan incluso características internas del tegumento, tales como las tráqueas o inclusive, los ganglios nerviosos ventrales.

AGRADECIMIENTOS

Al Blg°. José N. Gutiérrez Ramos por las revisiones y comentarios al manuscrito, así como las recomendaciones en bibliografía relacionadas a la conservación de colecciones entomológicas y a la Dra. Vera Alleman Haeghebaert, por el constante apoyo brindado durante todos estos años de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arroyo, J.** 1975. Cómo coleccionar mariposas, edit. Tiempo Libre, 103 pp.
- Álvarez, F.** 1974. Nuevas Técnicas en el Método de Insuflación para la Preservación de Estados Inmaduros de Insectos, Revista Peruana de Entomología, Vol. 17, N° 1, 103 pp.
- Gaviño, G.** 1972. Técnicas Biológicas Selectas de Laboratorio y Campo, Ed. Limusa, México; 457pp.
- Hammond, H.** 1948. Preserving Caterpillars, how to “blow” and “pinkle” larvae successfully; LEAFLET N° 20: pag.4 – 14.
- Hammond, H.** 1960. The Preservation Of Lepidopterous Larvae Using The Inflation And Heat- Drying Technique, Journal Of the Lepidopterists' Society, Vol. 14 N°. 1:pag.67-78.
- Salinas, P.** 2010. Colección, preservación y estudio de insectos; Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela, 192 pp.

LINKOGRAFÍA

The Caterpillar Blog – Inflated Caterpillar

[https://caterpillarblogger.com/2013/03/24/inflated-caterpillars/#:~:text=Inflating%20\(or%20%E2%80%9Cblowing%E2%80%9D\),study%20than%20specimens%20in%20alcohol](https://caterpillarblogger.com/2013/03/24/inflated-caterpillars/#:~:text=Inflating%20(or%20%E2%80%9Cblowing%E2%80%9D),study%20than%20specimens%20in%20alcohol)

Colección entomológica del Colegio de Agricultura y Recursos Naturales de la Universidad de Estado de Michigan

<https://www.canr.msu.edu/news/skewered-caterpillars-are-examples-of-19th-century-collection-methods>

Guzmán: Insuflado: una forma inusual de conservación de estadios larvales (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera y Neuroptera).

ANEXOS



Fig. 1. Materiales empleados para insuflar las larvas de insectos: Bombas de aire, Acoples, mangueras, jeringuilla, aguja hipodérmica, alfileres entomológicos (Fotos.- Rubén Guzmán P.).



Fig. 2. Colección de Erebidae insufladas con sus pelos en posición natural (Fotografía: Rubén Guzmán P.).



Fig. 3. Especímenes *Melipotis* spp. (arriba) y *Anicla* sp. abajo, con larvas pupas y adultos mostrando la conservación en las cajas de individualización de especies en la colección (Fotografía: Rubén Guzmán P.).



Fig. 4. Espécimen de *Oiketicu kirbyi*, larva insuflada junto a su capullo, escala: 10mm. (Fotografía.- Rubén Guzmán P.).

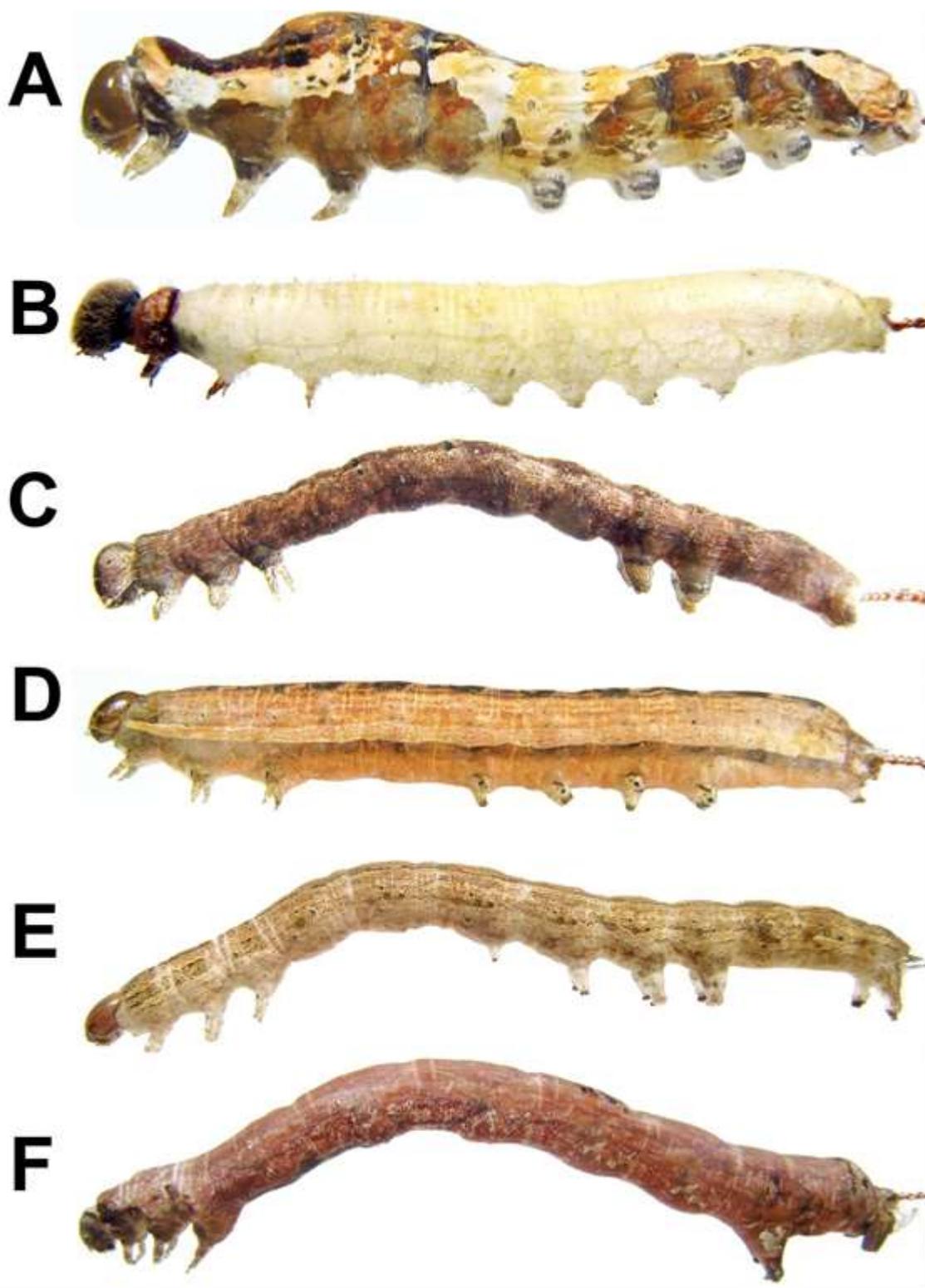


Fig. 5. Especímenes de larvas de Lepidopteros insufladas: A. *Papilio* (Heraclides) *paeon paeon*; B. *Pyrgus choe*; C. *Mocis frugalis*; D. *Spodoptera* sp.; E. *Melipotis novanda*; F. *Pero rodriguezi*, mostrando el tipo de montaje y detalle de los especímenes finalizados en vista lateral. (Fotografía: Rubén Guzmán P.).

Guzmán: Insuflado: una forma inusual de conservación de estadios larvales (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera y Neuroptera).



Fig. 6. Porción anterior de una larva insuflada de *Melipotis novanda*, mostrando los detalles de la conservación de este tipo, escala: 1 mm (Fotografía: Rubén Guzmán P.).



Fig. 7. Porción anterior de una larva insuflada de *Spodoptera* sp., mostrando los detalles de la conservación de este tipo, escala: 1 mm (Fotografía: Rubén Guzmán P.).



Fig. 8. Cuarto segmento de la larva de *Pero rodriguezi*, mostrando un espiráculo y la coloración del tegumento, escala: 1 mm (Fotografía: Rubén Guzmán P.).



Fig. 9. Mismo cuarto segmento a contraluz, mostrando las tráqueas bien conservadas radialmente a partir del espiráculo, escala: 1 mm (Fotografía: Rubén Guzmán P.).

Guzmán: Insuflado: una forma inusual de conservación de estadios larvales (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera y Neuroptera).