

LÍQUIDO PARA PRESERVAÇÃO DAS ESTRUTURAS INTERNAS DE LEPIDÓPTEROS E DEMAIS INSETOS QUE HABITUALMENTE SE MONTAM EM ALFINETES

p o r

LAURO TRAVASSOS FILHO

O processo comum de colecionar lepidópteros, consiste em matá-los, ou por meio de forte compressão torácica, ou então pelos vapores desprendidos pelo éter, clorofórmio ou cianeto de potássio, em ambiente confinado, ou ainda pela injeção de doses mínimas de certos líquidos tóxicos voláteis, como amônia, gasolina, xilol, etc., que matam rapidamente o inseto e evaporam rapidamente.

Depois de mortos, são espetados em alfinetes próprios e montados em fôrmas especiais, para que conservem uma atitude favorável à observação de seus característicos; essa posição é obtida pela secagem de tôdas as partes moles do inseto.

Quando a coleta é feita longe do laboratório, são os exemplares, depois de mortos, guardados em envelopes de papel forte, e estes conservados, por até três ou quatro dias, em latas bem fechadas, com grandes doses de desinfetantes (naftalina, cânfora, ou mesmo cianeto de potássio); isso permite que os espécimes cheguem ao laboratório ainda suficientemente moles para a montagem na forma.

Nas excursões mais demoradas porém, é uso serem os envelopes postos a secar, isto é, colocados algumas horas ao sol ou em lugar aquecido, para que os lepidópteros neles contidos sequem sem sofrer putrefacção, o que nem sempre se consegue nos exemplares volumosos. Chegados ao laboratório, são os envelopes colocados em câmara húmida, e tão logo fiquem "amolecidos", deverão ser montados, e mais uma vez postos a secar.

De qualquer modo porém, há sempre uma desintegração quase total dos tecidos do animal, em geral agravada por fenómenos de putrefacção, que nem sempre se exteriorizam graças ao revestimento quitinoso do inseto; nos exemplares volumosos é sempre difícil evitar que a desintegração post-mortem não se acompanhe de putrefacção, o que acontece ao menor descuido na secagem e na desinfecção, com o que se soltam todos os apêndices, devido à destruição das membranas articulares, perdendo-se geralmente o exemplar.

Contudo, embora se tenham tomado todos os cuidados, sempre que se vai dissecar um exemplar seco, de coleção, encontra-se grande dificul-

dade, motivada pela desintegração dos tecidos, que fatalmente ocorreu antes do exemplar ter ficado completamente seco; quando a porção a dissecar entra em contacto com os reativos habituais, geralmente solução aquosa de potassa (KOH) ou de carbonato de sódio (Na_2CO_3), as peças internas soltam-se ou mostram-se de tal modo retraídas e frágeis, que nos obriga a requintes de cautela para que não se perca ou a peça ou suas relações com as outras; sempre se notam, entretanto, a falta de membranas, ligamentos e outras organelas delicadas, que são destruídas quando da desintegração post-mortem, principalmente nos espécimes em que chegou a haver putrefacção franca.

Nos exemplares volumosos, principalmente nas fêmeas, em que ocorreu a putrefacção, vamos encontrar posteriormente apenas as partes bem esclerosadas, e assim mesmo é necessário bastante cautela para evitar a dissociação inoportuna das diversas peças. Outras vezes porém, acontece terem certos exemplares grandes reservas de gordura, e essa substância, extravasando das células depois da morte do inseto, acarreta uma boa preservação das organelas, mas sempre em caráter accidental.

Diante destas dificuldades procuramos achar um líquido que não só matasse rapidamente o lepidóptero como também fosse capaz de fixar suas partes moles, permitindo por meio de uma secagem lenta, a conservação dos elementos morfológicos não encontrados ou conservados precariamente nos exemplares secos habituais.

Na longa série de excursões mensais que realizamos de abril de 1947 a março de 1950 na região de Boracéia (Município de Salesópolis, Estado de São Paulo), tivemos oportunidade de experimentar em material abundante diversas fórmulas, até chegarmos a uma, que nos pareceu satisfatória, e que passamos a adotar com bons resultados. E' a seguinte:

Ácido acético glacial	1 cm ³
Formalina (40 %)	2 "
Glicerina	10 "
Álcool 95°	12 "
Água destilada	75 "
Nipazol sódico	5 g

A injeção de uma pequena dose desse líquido na região torácica mata rapidamente o lepidóptero, fixando praticamente tôdas as partes moles torácicas e abdominais; naturalmente, quanto maior e mais volumoso for o lepidóptero, maior deverá ser a quantidade de líquido a injetar, para garantir uma fixação satisfatória.

A glicerina condiciona uma secagem lenta, dando uma condição oleosa às partes fixadas, impedindo, por exemplo, retrações prejudiciais por dessecação completo; depois de seco, toma o inseto consistência pergaminhosa, não friável, o que permite sua manipulação sem riscos de fraturas. A glicerina oferece ainda a vantagem de permitir um humedecimento mais rápido quando é requerido o uso da câmara húmida, dada a sua grande avidez pela água; isso confere ao líquido grande facilidade de penetração, o que todavia torna perigoso seu uso em excesso, pois nesse caso há possibilidade dele vir a espalhar-se pela superfície do inseto, o que não é aconselhável. A glicerina remanescente permite ainda mais rápida miscibilidade com outros reativos utilizados em microtécnica.

Houve dificuldade no acerto da percentagem de glicerina; o material injetado com as fórmulas iniciais, mesmo depois de uma permanência de 30 dias na fôrma de montagem, ao ser dela retirado, ia abaixando as asas pouco a pouco, até atingirem o fundo da caixa, obrigando-nos a reconduzir os exemplares às fôrmas, onde tinham que permanecer por muito tempo; na percentagem indicada, porém, uma permanência de 15 dias na fôrma é tempo suficiente para boa secagem de lepidópteros grandes, assegurando-lhes a atitude imposta, mesmo para os que receberam dose considerável de fixador; apenas os de abdômens muito volumosos é que devem ficar na fôrma por cerca de 20 dias à temperatura ambiente.

Contudo, não é bastante injetar o lepidóptero e guardá-lo no envelope; é importante, para facilitar a montagem posterior, que o lepidóptero permaneça de asas abertas, horizontais, pelo menos durante duas horas após a injeção, ao abrigo de acidentes. A razão é a fixação da musculatura das asas efetuada pelo líquido; para verificarmos isso basta deixar o lepidóptero fixar com as asas abertas, e sentiremos a resistência apreciável que estas oferecem quando forem levantadas para guardar-se o espécime no envelope; quando daí o retirarmos para a montagem, as asas tenderão logo a voltar para a posição aberta em que haviam sido fixadas.

Si o lepidóptero injetado for envelopado imediatamente, iremos encontrar grande dificuldade na montagem, que exigirá uma permanência muito demorada na fôrma, para que com a secagem completa as asas não mais se levantem, buscando a posição imposta pelo envelope aonde foram fixadas.

Na montagem tardia, mesmo em exemplares quase secos, mas que foram fixados de asas abertas, tendem estas a atitude em que foram fixadas, assim que se tira o inseto do envelope, facilitando a operação.

Essa condição de fixar de asas horizontais, é aparentemente pouco prática para coleta de pequeno prazo, mas nesses casos não é obrigatória a fixação imediata; pôde matar-se o lepidóptero com os processos habituais (compressão torácica, amónia, cianeto de potássio, etc.), e mais tarde, no laboratório, ainda em tempo hábil, injetar o líquido fixador, deixando os exemplares fixar de asas abertas.

E' esse o processo que usamos nas capturas de lepidópteros diurnos; na coleta são mortos e acondicionados em envelopes; ao regressarmos da excursão, são retirados dos envelopes, injetados e deixados em caixas fechadas, de asas abertas, para serem reacondicionados horas mais tarde; si a montagem pôde ser feita logo após a injeção do líquido fixador, não há evidentemente necessidade de espera alguma. Nas coletas noturnas, são injetados à medida que os vamos apanhando no fóco luminoso e depositados com asas horizontais em caixas de madeira ou lata, bem tampadas, para serem acondicionados durante o dia seguinte; não verificamos qualquer inconveniente nos exemplares injetados que permaneceram de asas abertas desde as primeiras horas da noite, e que só foram acondicionados no dia imediato.

Nas coletas muito numerosas não é obrigatória a montagem imediata dos exemplares colecionados. Tivemos oportunidade de deixar os envelopes em latas bem fechadas, por cerca de 20 dias, para só então procedermos à montagem; o material encontrava-se perfeitamente

“mole” e bem conservado, sem o menor sinal de putrefacção, o que não acontece com os processos habituais. Naturalmente é necessária uma quantidade grande de desinfetante (cânfora, naftalina — empregamos naftalina em pó em boa quantidade) dentro da lata e por entre os envelopes, para evitar o desenvolvimento de cogumelos nas superfícies externas dos lepidópteros, o que seria facilitado pela humidade reinante na lata. Essa possibilidade do material poder esperar tanto pela montagem é muito conveniente nos casos de escassez de tempo ou de espaço para a montagem imediata.

Por outro lado sempre que o material tiver secado nos envelopes, será fácil a montagem depois de amolecidos na câmara húmida, pois a glicerina promoverá uma absorção generalizada e rápida de água, sem qualquer perigo de putrefacção. E' evidente, porém, que não se pode deixar indefinidamente o material na câmara húmida, pois a humidade irá, pouco a pouco, enxarcando os lepidópteros, inutilizando o efeito da fixação, e prejudicando a aparência e o colorido por aglutinar pêlos e escamas. Nas latas de transporte isso não ocorre porque o excesso de humidade está, por assim dizer, restrito ao interior do corpo do inseto.

Um problema sério foi o combate aos cogumelos que se desenvolviam com extrema facilidade nos exemplares injetados e guardados nos envelopes, em virtude da humidade no interior das latas; o problema foi contornado afinal, pela associação do “Nipazol sódico” (Eter propílico do ácido para-oxy-benzóico-sódico), solúvel em água, e que se dissolve bem na fórmula aqui apresentada.

EMPREGO EM OUTROS INSETOS

A medida que iam experimentando as diversas fórmulas em lepidópteros, procuramos verificar sua ação também em exemplares de outras ordens.

De espetacular valor mostrou-se essa técnica para os *Mantodea*, insetos que devido ao seu regimen carnívoro, apresentam sempre uma violenta putrefacção post-mortem, principalmente nas fêmeas prestes a desovar. Em 1945 (*) havíamos chamado a atenção para a putrefacção destruidora, que é completamente evitada com a injeção do líquido fixador, devendo a agulha ser espetada ventralmente entre os primeiros segmentos abdominais.

Para os *Coleoptera* também a fixação mostrou-se imprescindível; uma vez injetados —os de grande porte requerem grande dose— são deixados secar, livres da necessidade de calor para secagem rápida, pois não haverá nem riscos de putrefacção nem perigo de serem assaltados por insetos necrófagos tão prejudiciais, principalmente larvas de certos dípteros. Ainda mais, mesmo em excursões demoradas, podem ser acondicionados em latas bem fechadas e assim chegarão ao laboratório ainda suficientemente moles para a conveniente montagem.

De grande valor é o uso desta fixação em *Odonata*, cujos representantes ficam com o abdômen extremamente quebradiço depois de secos.

(*) — TRAVASSOS FILHO, L. — Técnicas gerais seguidas no estudo da ordem *Mantodea* Burm., 1838. *Arq. Zool. Est. S. Paulo*, 4 (5): 113-156, 1945.

Os exemplares secos após a injeção do fixador, mostraram consistência pergaminhosa e apreciável resistência no abdômen longo e delgado, permitindo relativa mobilidade.

Em resumo experimentamos a fixação em grande número de insetos, *Orthopteroides*, *Blattariae*, *Homoptera*, *Hemiptera*, *Neuroptera*, etc., desde que o porte permitisse a introdução de agulha de injeção bastante fina. Os resultados foram sempre muito bons, não só com a garantia de conservação das estruturas moles internas, como geralmente conseguimos que os exemplares conservassem melhor aparência do que os secos habitualmente, onde não raro o colorido próprio é substituído por colorido escuro decorrente de putrefacção interna. Depois de seco, o abdômen membranoso de certos neurópteros (*Sialidae*) apresenta-se completamente corrugado; fixado contudo pela injeção, a aparência do abdômen, ao secar, é muito mais próxima da que tinha em vida, embora ainda persista algum enrugamento.

TÉCNICA DE INJEÇÃO

O preparo da solução é simples, devendo o Nipazol-sódico ser dissolvido em água para ser depois juntado ao resto da solução. Após a mistura total deve agitar-se bastante, e em seguida filtrar, pois o Nipazol-sódico não se mantém completamente dissolvido devido à presença de álcool.

O líquido deve ser distribuído em frascos pequenos, que tenham capacidade para encher a seringa apenas três ou quatro vezes; isso porque toda vez que enchemos a seringa há possibilidade de caírem partículas no líquido, tais como escamas de lepidópteros, pó, etc., detritos comuns em lugares onde se colecionam insetos, como a prática nos demonstrou. Tais detritos acabarão indo à seringa e entupindo a agulha.

O uso de frascos pequenos diminui as possibilidades de se sujar o líquido, pois o frasco será aberto poucas vezes. Convém esclarecer que, para encher a seringa, deve retirar-se o êmbolo e nunca aspirar pela agulha, que sempre contém resíduos dos insetos que perfurou.

A seringa por nós empregada com êxito foi a seringa de uso veterinário, de 10 ou 20 cm³ de capacidade, toda metálica, inclusive o êmbolo; alguns modelos com êmbolo de metal ajustado por anel de borracha não servem porque a glicerina e o ácido acético dilatam a borracha impedindo o funcionamento. O fato de ser metálica é uma garantia contra as quedas; durante os três anos que excursionamos em Boracéia usamos uma única seringa de 20 cm³ que levou seguramente mais de uma dezena de quedas.

A seringa veterinária (Fot. 1) traz a graduação volumétrica no eixo do êmbolo, e por meio da arruela ajustável, que desliza nesse eixo, pôde injetar-se a quantidade requerida com bastante facilidade. Segura-se a seringa com a mão direita, entre os dedos indicador e médio, onde se apoiam as hastes do cilindro; com o polegar faz-se caminhar a arruela por rotação, graduando a quantidade de líquido indicada em cada caso e em seguida o polegar comprime a haste do êmbolo, completando a injeção. O inseto é seguro ou imobilizado com a mão esquerda.

Empregamos sempre agulhas finas, das habituais para injeção subcutânea, ou seja 25-5 ou 30-6. Estes calibres são finos para coleópteros

grandes e insetos muito esclerosados, mas com certa habilidade se consegue enfiar estas agulhas através de ligamentos articulares, seja nas inserções das pernas no tórax, seja no ligamento da articulação da cabeça ao tórax. Também entre os segmentos abdominais conseguem-se pontos facilmente vulneráveis.

Para facilidade de uso a seringa deve ser ajustada em um cilindro de metal ou madeira (empregamos um gomo de bambu), com fendas de encaixe para as hastes laterais de prensão (Fot. 2); este cilindro será suspenso a tiracolo, como uma bainha, para estar sempre ao alcance do capturador. A arruela do eixo do êmbolo, mantida junto do corpo da seringa depois desta cheia, permite que a seringa permaneça suspensa verticalmente dentro do estojo-bainha, com a agulha voltada para baixo, sem haver perda de líquido; ao mesmo tempo é evitada a entrada de ar na seringa. Isso nos obriga a recuar a arruela toda vez que se pretende injetar um inseto, calculando-se a dose a injetar em cada caso.

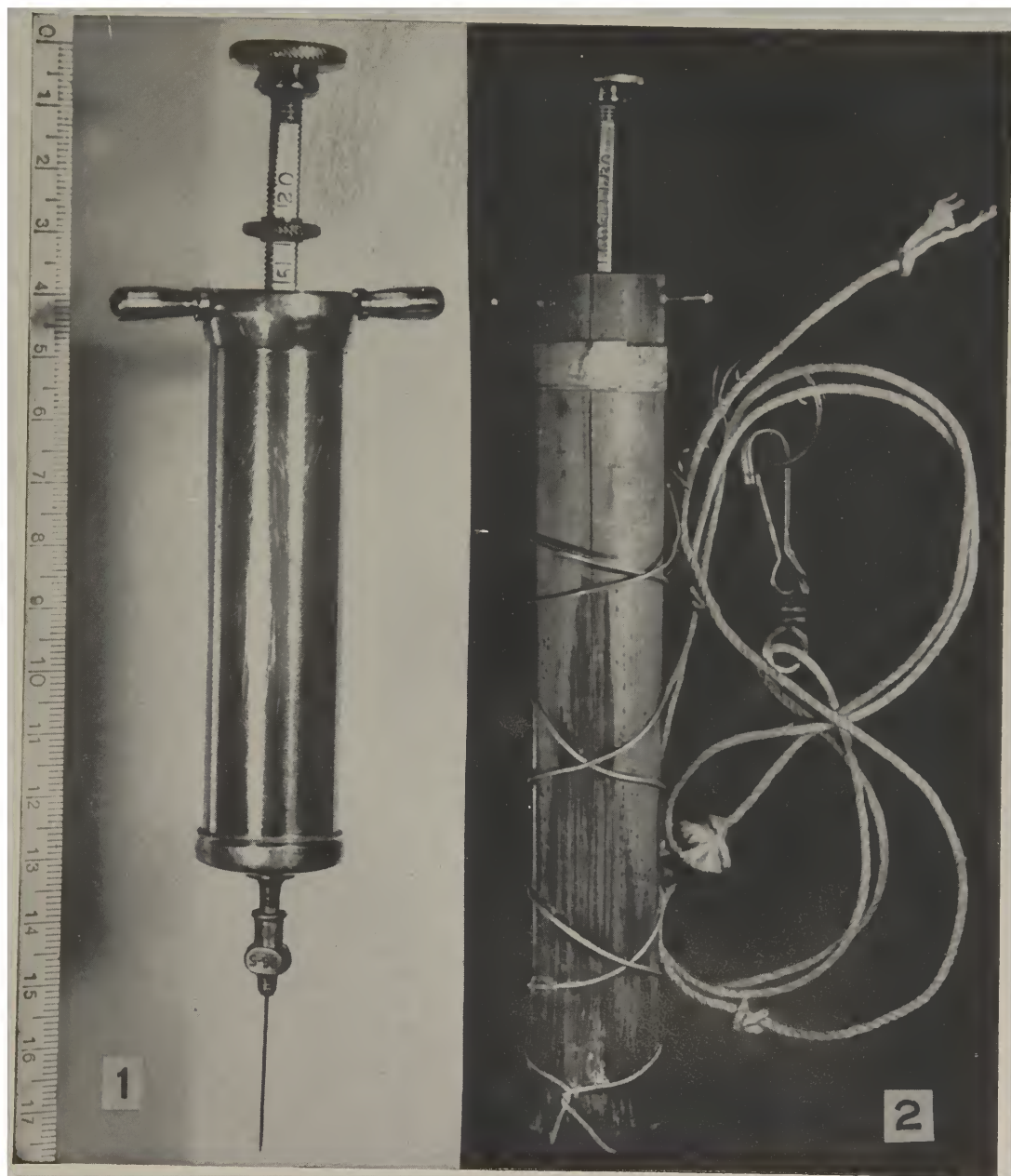
Somos muito gratos ao Sr. Ernesto X. Rabello, do Departamento de Zoologia, que foi nosso constante companheiro nas excursões a Boracéia, e que muito cooperou na coleta e injeção dos milhares de insetos observados.

A B S T R A C T

In this paper a new formula for killing insects, especially *Lepidoptera*, is given. It allows a good preservation of internal structures, usually destroyed in pinned dry specimens. This liquid showed very good results for the various orders generally pinned for preservation.

Insects mounted with the spread wings should be injected and mounted immediately, or left for at least two hours with the wings open horizontally if to be kept in envelopes, as happens during field work. Details are given as to the material, such as syringes, needles, preparation of solution, etc., to be employed in collecting excursions.

(Apresentado na II Reunião Anual da S.B.P.C., em Curitiba, Paraná, em 8-XI-1950).



Fotografia 1

Seringa veterinária metálica, de 20 cm³. Notar a arruela no eixo do êmbolo, entre 15 e 20 (G. Pastore fot.).

Fotografia 2

A mesma seringa no estojo-bainha de bambu. Notar as hastes salientes. A arruela não é visível por estar ajustada ao cilindro. (G. Pastore fot.).

