

Transcripción del video

Cómo preservar nemertinos

Svetlana Maslakova

- Después de haber examinado un nemertino en vivo y documentado las características de su apariencia externa, la armadura de estilete, ya estás listo para preservar tus muestras para el código de barras de ADN e histología.
- Para preservar un nemertino es muy importante relajarlo primero, para que ellos no se fragmenten en pequeños pedazos al entrar en contacto con el fijador.
- Para relajar a un nemertino debes añadir gradualmente cloruro de magnesio al agua de mar que contiene tu espécimen y pipetear hasta que se mezclen.
- Luego debes esperar al menos unos cuantos minutos para asegurarte de que tu nemertino no reaccione y se fragmente, luego agrega un poco más.
- Relajar por completo a un nemertino puede tomar alrededor de ½ a varias horas, dependiendo del tamaño y la especie del individuo.
- Una vez que el nemertino este completamente relajado, ahora ya puedes preservarlo.
- Es una buena práctica preservar una pequeña porción de cada individuo para código de barra de ADN y guardar el resto para histología.
- Para preservar una porción de un nemertino para extracción de ADN necesitas la parte media del cuerpo.
- Así que harás el primer corte en algún lugar en el medio del gusano, y el segundo corte posterior al primer corte.
- Ahora tomaras un vial y lo llenaras con etanol al 95% para fijar el tejido para el trabajo molecular. Usando un par de pinzas tomaras la porción media del gusano y lo pondrás en el vial. Cierra el vial y etiquétalo.
- Las muestras para la extracción de ADN guardadas en etanol al 95% deben mantenerse tan frías como sea posible, es ideal en un congelador a -20 o -80`.
- Para preservar el tejido para la histología, necesitará una serie de soluciones:

- Formalina al 10% diluida en agua de mar
 - Fijador de Bouin
 - Etanol 30%
 - Etanol 50%
 - Etanol 70%
- También necesitaras un par de pinzas, una pipeta y una pequeña bandeja para manipular el tejido en formalina.
 - Si estas manipulando múltiples muestras, necesitaras lavar tus herramientas entre muestras para que no contamines el ADN de un individuo con el ADN de otro individuo.
 - Para ello necesitaras cloro y agua al 10%.
 - Fijadores histológicos como la formalina y Bouin contienen muchos compuestos volátiles perjudiciales y debes trabajar con ellos bajo una cámara de extracción.
 - Vas a pipetear la porción anterior y posterior del espécimen hacia la pequeña bandeja o plato y lo estiraras tanto como puedas para poder cortarlo.
 - 10% en agua de mar) encima del espécimen usando una pipeta para formalina. Puedes manipular al espécimen para que permanezca recto.
 - Y luego vas a gotear lentamente formalina (esto es formalina amortiguada al
 - Después de unos minutos se endurecerá lo suficiente para que puedas transferirlo a un vial.
 - Puedes llenarlo con formalina y dejarlo en la gradilla por 12 ?%93 24 horas.
 - Después de 12 a 24 horas ya puedes reemplazar la formalina con Bouin.
 - Pipetea la formalina fuera del vial hacia un contenedor etiquetado para desechos de formalina y luego la reemplazaras con Bouin
 - El Bouin no es necesario para preservaciones histológicas, pero hace que la tinción y preservación del tejido sea mucho mejor, así que si tienes acceso a él, úsalo.
 - Puedes dejar tus especímenes en Bouin de 1 a 3 días.
 - Después de 1 o 3 días en Bouin, deberás reemplazar el Bouin con etanol al 70%



- Es mejor remplazarlo gradualmente a través de una serie de concentraciones de etanol; que van desde 30% a 50% y luego 70%
- Si pones tus especímenes directamente en etanol al 70%, el tejido se encogerá muy rápido y se puede dañar.
- Deberás pipetear el Bouin fuera del vial hacia un contenedor de desechos etiquetado y diseñado para la solución de Bouin. Y pipetea un poco del etanol al 30% dentro del vial, y déjalo de 30 a 60 minutos.
- Después de 30 a 60 minutos, ya puedes remplazar el etanol al 30% con etanol al 50% y dejarlo por otros 30 minutos.
- Después de otros 30 minutos en etanol al 50%, ya puedes remplazarlo con etanol al 70%.
- Debes remplazar el etanol al 70% diariamente o tanto como sea posible hasta que no se torne amarillo.
- Este espécimen estará estable por muchos años y producirá resultados histológicos superiores.