

# DNA recovery from microhymenoptera using six non-destructive methodologies with considerations for subsequent preparation of museum slides

Adriana J. Guzmán-Larralde, Alba P. Suaste-Dzul, Adrien Gallou, and Kenzy I. Peña-Carrillo

**Abstract:** Because of the tiny size of microhymenoptera, successful morphological identification typically requires specific mounting protocols that require time, skills, and experience. Molecular taxonomic identification is an alternative, but many DNA extraction protocols call for maceration of the whole specimen, which is not compatible with preserving museum vouchers. Thus, non-destructive DNA isolation methods are attractive alternatives for obtaining DNA without damaging sample individuals. However, their performance needs to be assessed in microhymenopterans. We evaluated six non-destructive methods: (A) DNeasy® Blood & Tissue Kit; (B) DNeasy® Blood & Tissue Kit, modified; (C) Protocol with CaCl<sub>2</sub> buffer; (D) Protocol with CaCl<sub>2</sub> buffer, modified; (E) HotSHOT; and (F) Direct PCR. The performance of each DNA extraction method was tested across several microhymenopteran species by attempting to amplify the mitochondrial gene COI from insect specimens of varying ages: 1 day, 4 months, 3 years, 12 years, and 23 years. Methods B and D allowed COI amplification in all insects, while methods A, C, and E were successful in DNA amplification from insects up to 12 years old. Method F, the fastest, was useful in insects up to 4 months old. Finally, we adapted permanent slide preparation in Canada balsam for every technique. The results reported allow for combining morphological and molecular methodologies for taxonomic studies.

*Key words:* parasitic hymenoptera, COI, museum insects, DNA extraction.

**Résumé :** En raison de la petite taille des micro-hyménoptères, une identification morphologique réussie requiert généralement des protocoles de montage spécifiques qui nécessitent du temps, des compétences et de l'expérience. L'identification taxonomique moléculaire est une alternative, mais de nombreux protocoles d'extraction d'ADN appellent à la macération de l'insecte en entier, ce qui est non compatible avec la conservation des spécimens de référence. Par conséquent, les méthodes d'isolement de l'ADN non destructives sont des alternatives intéressantes à l'obtention de l'ADN, permettant de conserver intacts les individus de l'échantillon. Cependant, leur efficacité doit être évaluée sur les micro-hyménoptères. Nous avons évalué six méthodes non destructives : (A) DNeasy® Blood & Tissue Kit; (B) DNeasy® Blood & Tissue Kit, modifié; (C) Protocole de CaCl<sub>2</sub>; (D) Protocole de CaCl<sub>2</sub>, modifié; (E) HotSHOT; et (F) PCR direct. L'efficacité de chaque méthode d'extraction d'ADN a été testée sur plusieurs espèces de micro-hyménoptères en essayant d'amplifier le gène mitochondrial COI à partir de spécimens d'insectes de différents âges : 1 jour, 4 mois, 3 ans, 12 ans et 23 ans. Les méthodes B et D ont permis l'amplification du gène COI pour tous les insectes, tandis que les méthodes A, C et E ont permis l'amplification des insectes présentant jusqu'à 12 ans d'âge en conservation. La technique F, plus rapide, a été utile pour les insectes présents depuis 4 mois en conservation. Enfin, nous avons adapté le montage permanent de lames dans le baume du Canada pour chaque technique. Les résultats présentés permettent de combiner des méthodes morphologiques et moléculaires pour les études taxonomiques.

*Mots-clés :* hyménoptères parasites, COI, spécimens d'insectes de musée, extraction d'ADN.

Received 24 November 2015. Accepted 26 July 2016.

Corresponding Editor: Amanda Naaum.

**A.J. Guzmán-Larralde.** Universidad Autónoma de Nuevo León, Av. Universidad s/n. San Nicolás de los Garza N.L. México 66451.

**A.P. Suaste-Dzul and A. Gallou.** Centro Nacional de Referencia de Control Biológico, Dirección General de Sanidad Vegetal, SAGARPA. Km 1.5 Carretera a Tecomán Estación del FFCC Tecomán, Colima, México 28120.

**K.I. Peña-Carrillo.** INIFAP Campo Experimental General Terán, Carretera Montemorelos-China km 31, Nuevo León, México 67400.

**Corresponding author:** Adriana J. Guzmán-Larralde (email: [adri\\_guzman@yahoo.com](mailto:adri_guzman@yahoo.com)).

Copyright remains with the author(s) or their institution(s). Permission for reuse (free in most cases) can be obtained from [RightsLink](#).