

**Manual de Orientações Básicas Para Estagiários do Núcleo Temático de  
Controle Biológico**

## **República Federativa do Brasil**

*Luiz Inácio Lula da Silva*  
Presidente

## **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

*Roberto Rodrigues*  
Ministro

## **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**

### **Conselho de Administração**

*Luis Carlos Guedes Pinto*  
Presidente

*Silvio Crestana*  
Vice-Presidente

*Alexandre Kalil Pires*  
*Ernesto Paterniani*  
*Helio Tollini*  
*Marcelo Barbosa Saintive*  
Membros

### **Diretoria-Executiva da Embrapa**

*Silvio Crestana*  
Diretor Presidente

*José Geraldo Eugênio de França*  
*Kepler Euclides Filho*  
*Tatiana Deane de Abreu Sá*  
Diretores Executivos

### **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

*José Manuel Cabral de Sousa Dias*  
Chefe-Geral

*Maurício Antônio Lopes*  
Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

*Maria Isabel de Oliveira Penteado*  
Chefe-Adjunto de Comunicação e Negócios

*Maria do Rosário de Moraes*  
Chefe-Adjunto de Administração

## ***Documentos 153***

**Manual de Orientações Básicas Para Estagiários do  
Núcleo Temático de Controle Biológico**

**Zilda Maria de Araújo Ribeiro  
João Batista Tavares da Silva  
William Sihler  
Cláudia Brod Siqueira**

Brasília, DF  
2005

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Serviço de Atendimento ao Cidadão

Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) - Brasília, DF

CEP 70.770-900 - Caixa Postal 02372

PABX: (61) 3448-4700 , Fax: (61) 3340-3624

<http://www.cenargen.embrapa.br>

e-mail:sac@cenargen.embrapa.br

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: Maria Isabel de Oliveira Penteadó

Secretária Executiva: Maria da Graça S. Pires Negrão

Membros: Arthur da Silva Mariante

Maria da Graça Simões Pires Negrão

Maria de Fátima Batista

Maria Isabel de Oliveira Penteadó

Maurício Machain Franco

Regina Maria Dechechi Carneiro

Sueli Corrêa Marques de Mello

Vera Tavares de Campos Carneiro

Supervisão Editorial: Maria da Graça S. Pires Negrão

Normalização bibliográfica: Maria Iara Pereira Machado

Editoração Eletrônica:

**1ª edição**

1ª impressão (2005):

M 294 Manual de orientações básicas para estagiários do Núcleo Temático de Controle Biológico / Zilda Maria de Araújo Ribeiro ... [et al.]. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. 40 p. – (Documentos / Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 0102 – 0110; 153)

1. Controle Biológico - núcleo temático – manual para estagiários. 2. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. I. Ribeiro, Zilda Maria de Araújo. II. Série.

639.96 – CDD 21.

## SUMÁRIO

<b>Introdução.....</b>	<b>6</b>
<b>Embrapa .....</b>	<b>7</b>
<b>Unidades de pesquisa e de serviços .....</b>	<b>8</b>
<b>Embrapa recursos genéticos e biotecnologia .....</b>	<b>9</b>
<b>Os núcleos temáticos no contexto da atual gestão .....</b>	<b>11</b>
<b>Estagiários do cenargen.....</b>	<b>13</b>
<b>Estagiários Do Núcleo Temático De Controle Biológico .....</b>	<b>15</b>
<b>Responsabilidade do orientador.....</b>	<b>20</b>
<b>Procedimentos básicos em laboratórios .....</b>	<b>20</b>
<b>Observação das normas de segurança nos laboratórios.....</b>	<b>21</b>
<b>Infraestrutura Física.....</b>	<b>22</b>
<b>Atividades nos laboratórios .....</b>	<b>30</b>
<b>Metodologia de criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos .....</b>	<b>34</b>
<b>Obtenção de insetos para estabelecimento ou revigoração da colônia....</b>	<b>35</b>
<b>Referência bibliográfica.....</b>	<b>40</b>

## **Manual de Orientações Básicas para Estagiários do Núcleo Temático de Controle Biológico**

---

**Zilda Maria de Araújo Ribeiro**  
**João Batista Tavares da Silva**  
**William Sihler**  
**Cláudia Brod Siqueira**

### **INTRODUÇÃO**

Como forma de interagir com universidades e escolas, a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – CENARGEN tem admitido estagiários e bolsistas que, sob a orientação de pesquisadores do seu quadro efetivo, desenvolvem programas de complementação educacional e curricular, de acordo com as normas internas que regem o assunto.

A utilização de inimigos naturais para o controle de populações de pragas propiciou o surgimento do controle biológico aplicado, como uma biotecnologia baseada na utilização de microrganismos, insetos predadores e parasitóides, assim como os semioquímicos, que são substâncias utilizadas na comunicação intra e inter-específica.

O Núcleo Temático de Controle Biológico (NTCB) do CENARGEN busca desenvolver, viabilizar e aumentar o uso de agentes de controle biológico na agropecuária e agricultura no Brasil, uma vez que sua utilização contribui para a melhoria da qualidade do produto agrícola e redução da poluição ambiental, propiciando a preservação dos recursos naturais e promovendo a sustentabilidade dos agroecossistemas.

O NTCB é composto por laboratórios e casas de vegetação, onde são desenvolvidas atividades de pesquisa que englobam desde a introdução, coleta e levantamento de recursos genéticos, passando pelos processos de isolamento, identificação, caracterização e avaliação, podendo, através de parcerias com instituições públicas e privadas, atingir o desenvolvimento de produtos à base de agentes de controle biológico, cuja eficiência no campo e segurança biológica são avaliadas.

Os estagiários e bolsistas engajados no programa de pesquisa do NTCB participam das diferentes atividades aqui conduzidas, sob orientação dos pesquisadores deste Núcleo. Assim sendo, este manual tem como objetivo tratar assuntos de interesse dos estudantes, mostrando conceitos básicos de manipulação de reagentes e equipamentos de uso comum, segurança pessoal e procedimentos em casos de acidentes, prezando por uma pesquisa de qualidade.

## **EMBRAPA**

Em dezembro de 1972, através da Lei n.º 5851, o Governo Federal criou a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA, órgão vinculado ao Ministério da Agricultura. Foi instalada em 26 de abril de 1973, com a responsabilidade de coordenar e executar a investigação agropecuária em todo território nacional. Atualmente, a Embrapa é vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e tem como missão viabilizar soluções para o desenvolvimento sustentável do espaço rural, com foco no agronegócio, por meio da geração, adaptação e transferência de conhecimentos e tecnologias, em benefício dos diversos segmentos da sociedade brasileira.

Desde sua criação, a EMBRAPA tem contribuído permanentemente na melhoria do panorama da agropecuária brasileira, tendo gerado mais de oito mil tecnologias até o momento. Em consequência disso, melhorou a eficiência produtiva do setor agropecuário, reduziu custos de produção e ajudou o País a aumentar a oferta de alimentos, conservando, ao mesmo tempo, os recursos naturais e o meio ambiente, além de ter diminuído a dependência externa de tecnologias, insumos e materiais genéticos.

A Embrapa atua por intermédio de 37 Centros de Pesquisa, três Serviços e 11 Unidades Centrais, estando presente em quase todos os Estados da Federação, nas mais diferentes condições ecológicas. Para chegar a ser uma das maiores instituições de pesquisa do mundo tropical, a Empresa investiu sobretudo no treinamento de recursos humanos, possuindo, hoje, 8.619 empregados, dos quais 2.221 são pesquisadores, 45% com mestrado e 53% com doutorado, operando um orçamento da ordem de R\$ 877 milhões em 2005.

Está sob a sua coordenação o Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária-SNPA, constituído por instituições públicas federais, estaduais, universidades, empresas privadas e fundações, que, de forma cooperada, executam pesquisas nas diferentes áreas geográficas e campos do conhecimento científico. Tecnologias geradas pelo SNPA mudaram a agricultura brasileira. Um conjunto de tecnologias para incorporação dos cerrados no sistema produtivo tornou a região responsável por 40% da produção brasileira de grãos, uma das maiores fronteiras agrícolas do mundo.

Na área de cooperação internacional, a Empresa mantém 275 acordos de cooperação técnica com 56 países e 155 instituições de pesquisa internacionais, envolvendo principalmente a pesquisa em parceria, seja para aprimorar seus conhecimentos em atividades técnicas e científicas, seja para partilhar seus conhecimentos e suas tecnologias com outros países. Para ajudar neste esforço, a Embrapa instalou nos Estados Unidos e na França, com apoio do Banco Mundial, laboratórios para o desenvolvimento de pesquisa em tecnologia de ponta, os chamados Labex.

## Unidades de pesquisa e de serviços

A Embrapa é um sistema formado por onze Unidades Centrais, localizadas no edifício-sede em Brasília, DF, e por quarenta Unidades Descentralizadas distribuídas nas diversas regiões do Brasil.

As Unidades Centrais são órgãos integrantes da administração superior da Empresa ao lado da Diretoria Executiva, às quais compete planejar, supervisionar, coordenar e controlar as atividades relacionadas à execução de pesquisa agropecuária e à formulação de políticas agrícolas.

Assessoria de Auditoria Interna - AUD  
Assessoria de Comunicação Social - ACS  
Assessoria Jurídica - AJU  
Assessoria Parlamentar - ASP  
Departamento de Administração de Materiais e Serviços - DRM  
Departamento de Administração Financeira - DAF  
Departamento de Gestão de Pessoas - DGP  
Departamento de Tecnologia da Informação - DTI  
Gabinete do Diretor-Presidente - GPR  
Secretaria de Gestão e Estratégia - SGE  
Superintendência de Pesquisa e Desenvolvimento - SPD

As Unidades Descentralizadas são assim classificadas:

- Unidades de serviço
  - Unidades de pesquisa de produtos
  - Unidades de pesquisa de temas básicos
  - Unidades de pesquisa agroflorestal ou agropecuária nas ecorregiões brasileiras
- |                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| ■ Embrapa Acre                       | ■ Embrapa Instrumentação Agropecuária        |
| ■ Embrapa Agrobiologia               | ■ Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical   |
| ■ Embrapa Agroindústria de Alimentos | ■ Embrapa Meio Ambiente                      |
| ■ Embrapa Agroindústria Tropical     | ■ Embrapa Meio-Norte                         |
| ■ Embrapa Agropecuária Oeste         | ■ Embrapa Milho e Sorgo                      |
| ■ Embrapa Algodão                    | ■ Embrapa Monitoramento por Satélite         |
| ■ Embrapa Amapá                      | ■ Embrapa Pantanal                           |
| ■ Embrapa Amazônia Ocidental         | ■ Embrapa Pecuária Sudeste                   |
| ■ Embrapa Amazônia Oriental          | ■ Embrapa Pecuária Sul                       |
| ■ Embrapa Arroz e Feijão             | ■ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia |
| ■ Embrapa Café                       | ■ Embrapa Rondônia                           |
| ■ Embrapa Caprinos                   | ■ Embrapa Roraima                            |
| ■ Embrapa Cerrados                   | ■ Embrapa Semi-Árido                         |
| ■ Embrapa Clima Temperado            | ■ Embrapa Soja                               |
| ■ Embrapa Florestas                  | ■ Embrapa Solos                              |
| ■ Embrapa Gado de Corte              | ■ Embrapa Suínos e Aves                      |
| ■ Embrapa Gado de Leite              | ■ Embrapa Tabuleiros Costeiros               |



- Embrapa Hortaliças
- Embrapa Informação Tecnológica
- Embrapa Transferência de Tecnologia
- Embrapa Trigo
- Embrapa Informática Agropecuária
- Embrapa Uva e Vinho

## EMBRAPA RECURSOS GENÉTICOS E BIOTECNOLOGIA

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - CENARGEN é um Centro Temático e tem como missão institucional **viabilizar soluções para o desenvolvimento sustentável do agronegócio, gerando, adaptando e transferindo conhecimentos e tecnologias em recursos genéticos, biotecnologia, controle biológico e segurança biológica, em benefício da sociedade brasileira.** Concentra as atividades ligadas a recursos genéticos (coleta, introdução, intercâmbio, quarentena, caracterização, avaliação, multiplicação, documentação, informação e utilização), biotecnologia (biologia molecular, biologia celular, engenharia genética, etc.) e controle biológico (microbiologia, patologia de insetos, biopesticidas, ecologia, semioquímicos, etc.).

### Resumo histórico

O Centro Nacional de Recursos Genéticos - CENARGEN, atualmente Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, foi criado em 22 de novembro de 1974, através da Deliberação nº 096/74, com o objetivo de coordenar e conduzir atividades referentes a recursos genéticos vegetais. Posteriormente, o Centro teve sua atuação ampliada na condução de pesquisas nas áreas animal, vegetal e de microrganismos referentes à adaptação ou desenvolvimento de metodologias em biologia molecular, biologia celular e controle biológico aplicáveis à agropecuária.

As características da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia de desenvolver conhecimentos na condição de Centro Temático, têm propiciado o seu reconhecimento ao nível nacional e internacional como Centro de Referência para a capacitação de pessoal em recursos genéticos, biotecnologia, controle biológico de pragas e plantas daninhas e em bioinformática.

Para o desenvolvimento de suas atividades o Centro conta com o seguinte:

#### - Recursos humanos:

Pesquisadores

(PhD): ..... 92

(MSc): ..... 36

(BSc): ..... 02

Apoio à Pesquisa: .80

Administração: ..... 74

**Total de empregados: 284**

Estagiários, bolsistas, pós-graduando e visitantes: 234

## - Estrutura organizacional

### I – Chefia Geral (CGE)

- a) Comitê Assessor Externo (CAE)

### II – Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento (CPD)

- a) Comitê Técnico Interno (CTI)
- b) Comitê de Biossegurança (CIBio)
- c) Curadoria de Germoplasma (CGP)
- d) Núcleos Temáticos e Gestores
  - Biotecnologia (NTBio)
  - Controle Biológico (NTCB)
  - Recursos Genéticos (NTRG)
  - Segurança Biológica (NTSB)

### III - Chefia Adjunta de Comunicação e Negócios (CNA)

- a) Área de Comunicação Empresarial (ACE)
- b) Área de Negócios Tecnológicos (ANT)
- c) Comitê Local de Propriedade Intelectual (CLPI)
- d) Comitê de Publicações (CPL)
- e) Setor de Informação (SIN)
- f) Campo Experimental Sucupira (CES)

### IV – Chefia Adjunta de Administração (CAA)

- a) Comitê de Periculosidade e Insalubridade (CPINS)
- b) Setor de Orçamento, Contabilidade e Finanças (SOF)
- c) Setor de Patrimônio e Material (SPM)
- d) Setor de Recursos Humanos (SRH)
- e) Setor de Serviços Auxiliares (SSA)
- f) Setor de Manutenção (SMN)

OBS: A Chefia Geral e a Chefia Adjunta de Administração situam-se no Prédio da Administração. A Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento funciona no Prédio da Biblioteca e a Chefia de Comunicação, Negócios e Apoio no Prédio da Informática. As atribuições de cada um dos órgãos componentes da estrutura organizacional do Centro estão relacionadas no Regimento Interno da Unidade.

## - Infra-estrutura

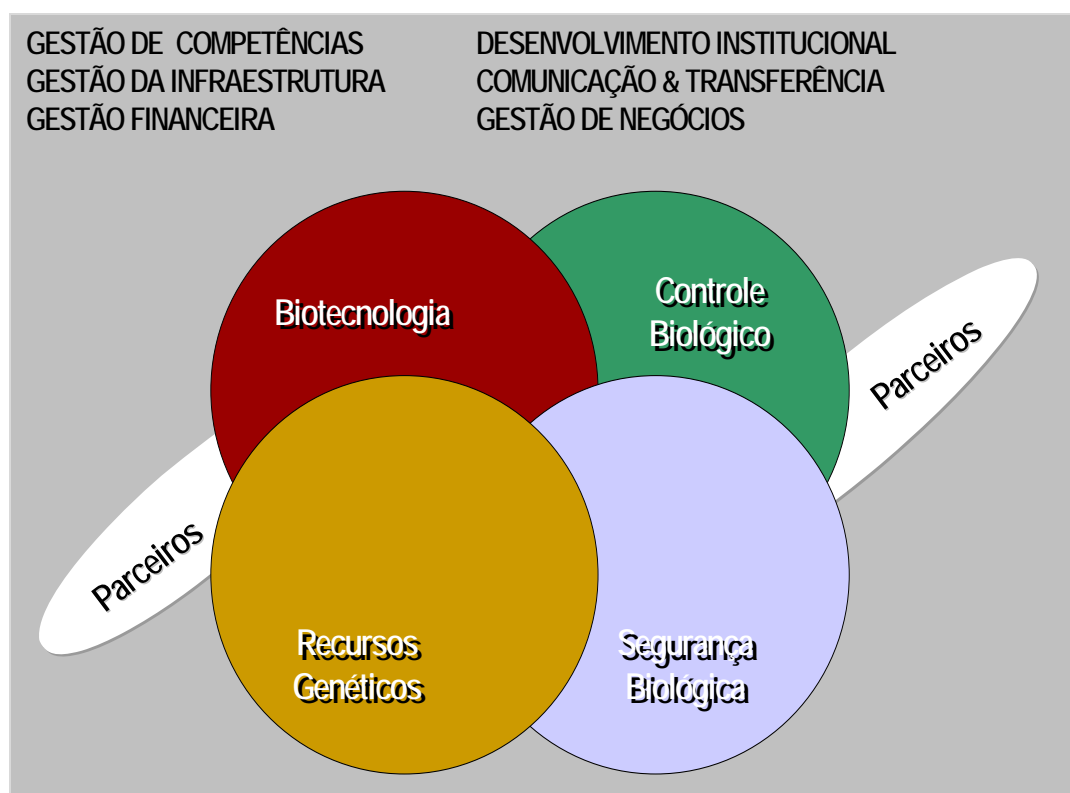
- Administração
- Biblioteca
- Herbário
- Laboratórios
- Casas de vegetação
- Telados e estufas
- Câmaras frias
- Auditórios (recursos para projeção, vídeo e som, etc.)
- Equipamentos de informática
- Frota com veículos grandes, médios e pequenos e máquinas agrícolas
- Fazenda Experimental (Fazenda Sucupira) com 1200 ha.
- Depósitos, Garagens, Guaritas

- Abrigos de Grupos Geradores
- Prédios de Áreas Técnicas

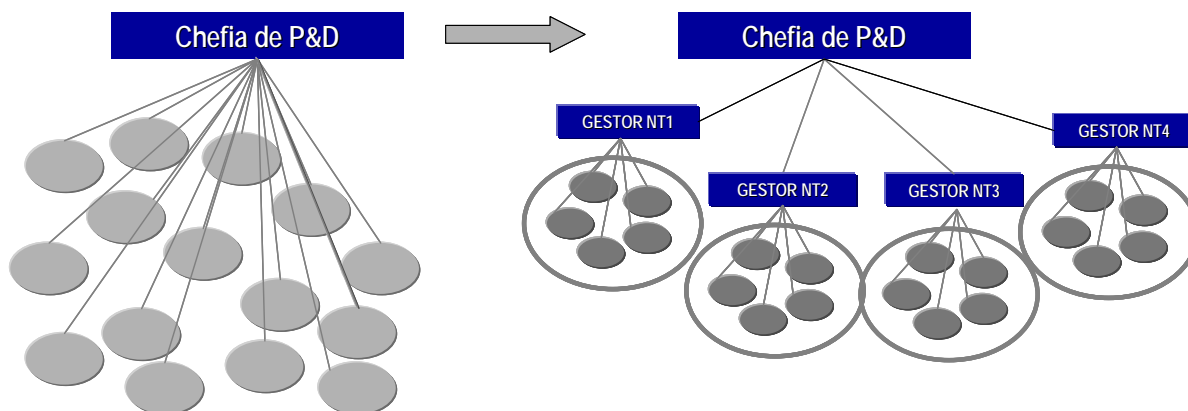
## Os núcleos temáticos no contexto da atual gestão

O Plano de Trabalho da atual Chefia da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia destaca a grande importância das discussões internas que levaram à estruturação dos Núcleos Temáticos, indicando a decisão de mantê-los como principal instrumento para a gestão de todas as atividades inerentes a Pesquisa e Desenvolvimento na Unidade.

A figura seguinte representa os quatro Núcleos Temáticos como ambientes interdependentes, onde as interfaces representam o exercício do compartilhamento – de objetivos, recursos financeiros, recursos humanos e infraestrutura.



Os Núcleos estão sob a supervisão direta da Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento e os respectivos gestores (em conjunto com o secretário executivo do CTI) terão papel fundamental na gestão de P&D da Unidade.



## **Regimento Geral para os Núcleos Temáticos**

### **I. Natureza e Finalidade dos Núcleos Temáticos**

Os Núcleos Temáticos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia são arranjos organizacionais vinculados à Chefia Adjunta de Pesquisa e

Desenvolvimento,

### **I. Natureza e finalidade dos Núcleos Temáticos**

Os Núcleos Temáticos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia são arranjos organizacionais vinculados à Chefia Adjunta de Pesquisa e Desenvolvimento, instituídos com a finalidade de formular, viabilizar, orientar e realizar atividades de pesquisa e desenvolvimento no âmbito da missão da Unidade.

### **II. Estrutura, competências e organização dos Núcleos Temáticos**

Os Núcleos Temáticos da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia são organizados e gerenciados a partir da seguinte estrutura e competências:

**II.1. Gestor do Núcleo Temático** – O gestor do NT é um pesquisador escolhido pelos seus pares, por meio de voto, e nomeado pela Chefia Geral da Unidade.

**II.2. Comitê Gestor do Núcleo Temático** – membros do Núcleo Temático que, juntamente com o Gestor, gerenciam a programação e a execução das atividades do Núcleo Temático.

**II.3. Equipe Base de Pesquisa & Desenvolvimento** – equipe de pesquisadores e Técnicos de Nível Superior (TNS) com atividades majoritariamente concentradas no Núcleo Temático.

**II.4. Equipe de Suporte e Apoio** – equipes de técnicos e profissionais que conduzem atividades de laboratório, campo e secretarias em apoio aos projetos e ações do Núcleo Temático.

## **ESTAGIÁRIOS DO CENARGEN**

### **O QUE É ESTÁGIO?**

É um termo prático de caráter técnico, social, cultural e atitudinal, que proporciona a aplicabilidade de conhecimentos teóricos, através da vivência em situações reais da futura profissão. O estágio possibilita o primeiro contato com sua futura profissão. É apenas uma complementação do ensino, com duração limitada, que só poderá ser realizado por estudante regularmente matriculado e que esteja, comprovadamente, freqüentando as aulas. Logo o estágio é o período de exercício pré-profissional, previsto em currículo ou não, em que o estudante permanece em contato direto com ambiente de trabalho, desenvolvendo atividades profissionalizantes, programadas ou projetadas, avaliáveis, com duração limitada e sob supervisão.

### **TIPOS DE ESTÁGIO EXISTENTES NA UNIDADE:**

**Estágio Remunerado:** Estágio com direito a bolsa, para estudantes de qualquer nível.

**Estágio Não Remunerado:** Estágio sem direito a bolsa, para estudantes de qualquer nível.

**Estágio Curricular:** É aquele que faz parte do currículo do curso. É um estágio de curta duração.

### **DIREITOS E RESPONSABILIDADES DOS ESTAGIÁRIOS**

#### **Direitos:**

- Receber auxílio bolsa (quando estagiário remunerado);
- Ter seguro contra acidentes pessoais;
- Receber vale refeição (estagiários que cumprem jornada de 40h semanais);
- Receber cópias da documentação relacionada à contratação;
- Desenvolver atividades de acordo com as condições estabelecidas no termo de compromisso e plano de trabalho;
- Receber orientação, acompanhamento e avaliação do estágio;
- Receber certificação referente período de estágio, após entrega do relatório final.

#### Responsabilidades:

- Registrar regularmente a frequência do estágio;
- Entregar todo mês, até o 1º dia útil de cada mês, a folha de frequência ao SRH;
- Manter atualizada, semestralmente, documentação referente a situação escolar;
- Usar crachá nas dependências da Empresa;
- Utilizar, guardar e conservar, com todo cuidado, impressos e bens patrimoniais da empresa;
- Manter sigilo sobre conteúdo de documentos e de informações confidenciais referentes à Empresa e aos projetos nela desenvolvidos;
- Comunicar ao SRH, qualquer alteração da situação escolar, mudança de endereço, telefone e desistência do estágio;
- Acatar orientações do orientador ou supervisor interno da Instituição quanto às normas da mesma;
- Cumprir integralmente o horário estabelecido no contrato de estágio;
- Tratar cordialmente colegas de trabalho, independente de cargo ou função;
- Ter boa apresentação;
- Apresentar, ao Supervisor, relatório de fim de estágio;
- Dar baixa no estágio junto ao SRH.

#### OUTRAS CATEGORIAS EXISTENTES NA UNIDADE:

**Pós-graduando:** Estudantes de Mestrado e/ou Doutorado, que cumprem o treinamento e não recebem bolsa da Embrapa.

**Bolsista:** Estudantes que recebem bolsas de instituições como: CNPq, Dalmo Giacometti, Capes, Universidades, etc..

**Visitante:** Pessoas que estejam vinculadas a alguma instituição e que, para efetuar algum tipo de treinamento na Unidade, poderá efetuar-lo somente em período de 1 a 12 meses no máximo.

**Consultor:** Pessoas que desenvolvem atividades na Unidade como prestadora de serviços, através de alguma Instituição de cooperação técnica.

#### Direitos:

- Receber cópias da documentação relacionada à contratação;
- Desenvolver atividades de acordo com as condições estabelecidas no termo de compromisso e plano de trabalho;
- Receber orientação, acompanhamento sobre o treinamento;
- Receber certificação referente período de treinamento.

#### Responsabilidades:

- Manter atualizada documentação referente solicitada pelo SRH;
- Usar crachá nas dependências da empresa;
- Utilizar, guardar e conservar, com todo cuidado, impressos e bens patrimoniais da empresa;

Manter sigilo sobre conteúdo de documentos e de informações confidenciais referentes à empresa e os projetos nela desenvolvidos;  
Comunicar ao SRH, qualquer alteração da situação escolar, mudança de endereço, telefone e desistência do estágio;  
Acatar orientações do orientador ou supervisor interno da Instituição quanto às normas da mesma;  
Cumprir integralmente o horário estabelecido no contrato ;  
Tratar cordialmente colegas de trabalho, independente de cargo ou função;  
Ter boa apresentação;  
Apresentar, ao supervisor, relatório de fim de treinamento;  
Dar baixa no treinamento junto ao SRH.

### **COMO SOLICITAR**

Para solicitar um estágio ou outra categoria, faça o download do formulário específico disponível na intranet do Centro, preencha, imprima, anexe os documentos solicitados (relacionados em cada formulário) e encaminhe ao Setor de Recursos Humanos.

### **COMO ENCERRAR**

Ao final do treinamento o estagiário(a), bolsista, pós-graduando(a) ou visitante, deverá fazer o download dos formulários de Síntese das Atividades Desenvolvidas e Formulário de Desligamento, disponíveis na intranet, preenchê-los, colher as assinaturas necessárias e encaminhá-los ao Setor de Recursos Humanos.

## **ESTAGIÁRIOS DO NÚCLEO TEMÁTICO DE CONTROLE BIOLÓGICO**

O Programa de Estágio de Complementação Educacional, de acordo com a definição do SRH, destina-se, portanto, a estudantes regularmente matriculados e cursando 2º grau (2ª série), no mínimo ou, no caso de curso superior, estar cursando o 4º semestre letivo e que atendam aos pré-requisitos exigidos pela instituição de ensino para estágio. A escola ou instituição de ensino superior deverá ter um convênio com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia - CENARGEN, específico para tal fim.

Os direitos e deveres dos estudantes são os incluídos no programa de estágio do CENARGEN listados pelo SRH, e particularmente no NTCB, acrescentamos apenas alguns itens como:

- 1) O estagiário ao iniciar suas atividades deverá ser apresentado aos demais trabalhadores do NTCB;
- 2) Usar Obrigatório de crachá no local de trabalho. O crachá é documento de identificação, fornecido pelo Setor de Recursos Humanos – SRH, de uso obrigatório, nas dependências do CENARGEN;

- 3) Cumprir o contrato estabelecido com o orientador, devendo no caso de necessidade de rescisão, avisar com antecedência, para estabelecer um término sem prejuízo para ambas as partes;
- 4) Solicitar ao responsável a permissão e orientação antes de utilizar o bem e deixá-lo após uso, na condição correta conforme recomendado pelo responsável;
- 5) Usar equipamentos e instalações do NTCB de modo adequado e com responsabilidade;
- 6) Usar jaleco. Na impossibilidade do uso deste usar roupas adequadas para maior proteção nas atividades de laboratório e campo;
- 7) Ser zeloso, mantendo limpos e organizados o ambiente e instrumentos de trabalho;
- 8) Ser honesto, assumindo erros que por ventura venha cometer, para possibilitar soluções e evitar prejuízos a outros usuários do espaço ou do bem afetado;
- 9) Usar roupas e calçados adequados para o trabalho no laboratório ou campo;
- 10) Usar computadores estritamente para atividades relativas ao trabalho no CENARGEN;
- 11) Usar adequadamente a cozinha, quanto à limpeza e organização, bem como no respeito às pessoas e seus pertences. Não deixar restos na geladeira por vários dias;
- 12) Fazer as refeições na cozinha ou na sala de reuniões, deixando o local limpo para o próximo usuário. Colocar restos de comida somente na lixeira da cozinha.

## **Pontos de interesse do estagiário ou trainando**

### **ACESSO AO CENTRO**

O acesso ao CENARGEN pela portaria principal exige o uso do “crachá”. O acesso com veículo particular dá-se através da guarita. O veículo deverá estar previamente cadastrado no Setor de Serviços Auxiliares - SSA.

### **INDICAÇÃO DO ESTAGIÁRIO:**

A indicação de estagiários pelas instituições de ensino conveniadas deverá ser feita sob forma de consulta à Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, acompanhada de:

- ⇒ carta de apresentação da instituição de ensino, contendo informações a respeito da área de interesse do candidato indicado e horário disponível para estágio;
- ⇒ histórico escolar do candidato.

### **CADASTRAMENTO:**

O cadastramento do estagiário é efetuado no SRH, mediante preenchimento de formulário próprio onde o candidato deverá anexar: **Curriculum**



**vitae**, histórico escolar, carta escrita de próprio punho, expressando seu interesse no estágio, carta de indicação de estágio do professor e/ou pesquisador, uma foto recente (3 X 4), cópias de documento de identidade, CPF e posterior encaminhamento do plano de trabalho.

### **SELEÇÃO DE CANDIDATOS:**

A seleção dos candidatos ou profissionais é feita pelos pesquisadores, de acordo com suas cotas de bolsas, seus projetos de pesquisa ou parcerias com Centros de Pós-graduação.

Os candidatos serão selecionados de acordo com os seguintes critérios:

- melhor desempenho escolar global (analisando-se o histórico do candidato);
- melhor desempenho escolar na área de opção para estágio;
- maior vivência com a área de opção para estágio;
- maior proximidade do término do curso;
- adequação do candidato aos projetos em execução na Unidade;
- disponibilidade de horário do estagiário e duração do estágio; e
- outros fatores de interesse da Unidade.

### **TERMO DE COMPROMISSO:**

O estudante selecionado para realizar estágio na EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia firmará Termo de Compromisso, tendo a instituição de ensino como interveniente, obrigatoriamente, estabelecendo as condições, o período e as obrigações do estagiário e do CENARGEN. Tratando-se de estudante menor de idade, o Termo de Compromisso será celebrado com a assistência do pai ou responsável. O estudante assinará, ainda, um Acordo de Confidencialidade através do qual o estagiário toma conhecimento de que a empresa possui informações confidenciais, que devem ser mantidas em sigilo pela natureza de sua missão institucional.

### **TIPOS DE BOLSAS:**

**ICI** - Iniciação Científica

**ITI** - Iniciação Tecnológica e Industrial

**DTI** - Desenvolvimento Tecnológico e Industrial

**EV** - Especialista Visitante (3 a 12 meses)

**BEV** - Especialista Visitante (até 3 meses)

**EP (no país)** – Estágio/Especialização (3 a 12 meses)

**BEP (no país)** – Estágio/Especialização (até 3 meses)

**GM** – Mestrado (até 24 meses)

**GD** - Doutorado (até 48 meses)

**BSP (no exterior)** – Estágio/Especialização (até 3 meses)

**SPE (no exterior)** – Estágio/Especialização (3 a 12 meses)

**GDE** - Doutorado (até 48 meses)

## APERFEIÇOAMENTO

### CARGA HORÁRIA

A jornada de atividades do estagiário será de 20 (vinte) ou 40 (quarenta) horas semanais, e deverá compatibilizar-se com seu horário escolar e com o horário de funcionamento do CENARGEN.

### FREQÜÊNCIA DO ESTAGIÁRIO:

A Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia encaminhará, através do SRH, a freqüência do estagiário. Esta será de inteira responsabilidade do orientador, que ao final de cada mês encaminhará ao SRH, mediante utilização do modelo padronizado pela Embrapa, a referida freqüência para apuração de faltas e posterior elaboração da folha de pagamento.

### CONDIÇÕES DO ESTÁGIO

A duração inicial do estágio poderá ser de um a seis meses, prorrogáveis, não podendo ultrapassar o limite de vinte e quatro meses, contínuos ou não, observada a conclusão do curso. Em se tratando de estágio remunerado, o período mínimo será de noventa dias.

- Não farão jus à bolsa de complementação educacional os estagiários que já percebam salário ou bolsa de estudo de qualquer natureza, seja da EMBRAPA ou de outra instituição;
- Os resultados dos trabalhos realizados pelos estagiários poderão ser utilizados e divulgados pela EMBRAPA, em consonância com suas normas internas de política editorial;
- A concessão de estágio em qualquer das modalidades previstas não implicará, em hipótese alguma, em vinculação empregatícia do estagiário com a EMBRAPA, conforme estabelece a legislação vigente;
- O Chefe da Unidade que conceder estágios que contrariem o disposto na Deliberação será inteiramente responsável por possíveis prejuízos que possam ser causados à EMBRAPA;
- **O pesquisador que receber estagiário ou bolsista sem o devido cadastramento no SRH do Centro, será responsável por possíveis danos ou prejuízos que possam causar ao CENARGEN.**

Observações:

- **Condução de veículos:** Não é permitida a condução de veículos de propriedade do CENARGEN por estagiários ou bolsistas.
- **Trabalho fora do expediente:** O estagiário ou bolsista deve ter autorização do pesquisador responsável para trabalhar no CENARGEN fora do expediente, portar crachá e registrar a sua presença no livro próprio existente na guarita e na portaria.
- **Viagem:** As viagens realizadas pelo estagiário, como acompanhante de seu supervisor e imprescindíveis ao desenvolvimento do seu programa de estágio,

poderão ser custeadas pela EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, a critério do Chefe Geral.

## **BENEFÍCIOS**

Os estagiários e bolsistas, a critério do CENARGEN, poderão usufruir dos seguintes benefícios:

- **seguro de vida e de acidentes pessoais** - somente os estagiários remunerados e não remunerados, integrados aos programas de complementação educacional.
- **utilização do restaurante** - as refeições são subvencionadas pela Empresa, apenas para estagiários de acordo com o estabelecido em norma específica desde que exerçam suas atividades com carga horária de 40 horas semanais.
- **utilização da biblioteca** - o Setor de Informações - SIN possui um acervo bibliográfico especializado em Recursos Genéticos e Biotecnologia, que pode ser consultado nos horários de 8 às 12 horas e 13 às 17 horas nos dias úteis. Para utilizar a biblioteca o estagiário ou bolsista deverá preencher um formulário de autorização, que levará a assinatura do treinando e do seu orientador, responsabilizando-se ambos pela reposição ou pagamento, se houver extravio dos documentos. Essa concessão só será obtida se o período de permanência no CENARGEN for de, no mínimo, três meses. Dez dias antes do término do treinamento o bolsista/estagiário deverá devolver todas as publicações em seu poder, recebendo do setor a “Declaração de Nada Consta” que deverá ser apresentada no Setor de Recursos Humanos.

## **DESLIGAMENTO DO ESTAGIÁRIO**

O desligamento ocorrerá nos seguintes casos:

- o estagiário poderá ser desligado do estágio, a critério do CENARGEN, antes do prazo estabelecido;
- automaticamente, ao término do período previsto no Termo de Compromisso, se não houver prorrogação do mesmo;
- quando passar a receber bolsa de qualquer instituição ou salário pago pela EMBRAPA;
- pelo não comparecimento, sem motivo justo, por 08 (oito) dias consecutivos ou 15 (quinze) dias intercalados, no período de 30 dias;
- pela prática de atos que caracterizem falta grave;
- a pedido do estagiário, mediante aviso prévio para evitar prejuízos ao projeto;
- pela interrupção em caráter definitivo do curso que deu origem ao estágio;
- pela reprovação em qualquer matéria durante o período de estágio;
- pelo descumprimento de qualquer cláusula do Termo de Compromisso;
- pela conclusão do curso.

## **RELATÓRIO FINAL**

Ao final do estágio será emitido o **Certificado de Estágio**, para os estagiários que obtiverem um mínimo de 80% (oitenta por cento) de efetiva participação no período de estágio, após a apresentação e avaliação, pelo

orientador, do **Relatório de Estágio**, em formulário específico e apresentação de metodologia científica.

### **Responsabilidade do orientador**

- 1) Assegurar que o estagiário tenha cumprido as formalidades administrativas de regulamentação do estágio junto ao SRH (assinatura do contrato, seguro, conhecimento deste Manual, etc...);
- 2) Informar ao orientando sobre as normas de segurança que ele terá que seguir durante o período do estágio e mostrar, na prática, como utilizar equipamentos de segurança;
- 3) Não permitir que o estagiário desenvolva trabalhos que necessitem equipamentos de segurança se os mesmos não estiverem disponíveis no laboratório;
- 4) Ensinar ao estagiário como usar os equipamentos de laboratório, que terá que manusear em suas atividades;
- 5) Observar o trabalho do estagiário, pelo menos no período inicial, para confirmar se ele está seguindo corretamente as instruções dadas;
- 6) Assinar, juntamente com o orientando, o Termo de Responsabilidade, entregue pelo SRH, no início do período do estágio;
- 7) Comunicar com antecedência mínima de cinco dias o cancelamento e/ou prorrogação das atividades do estagiário, justificando o motivo de sua dispensa;
- 8) Informar ao SRH, por escrito, se após um período de três meses o estagiário não entregar o relatório final;
- 9) Encaminhar, em caso de substituição de estagiário, a solicitação de preenchimento da vaga, não podendo a mesma ser feita com data retroativa.

## **PROCEDIMENTOS BÁSICOS EM LABORATÓRIOS**

### **Recomendações gerais**

- Não ingerir alimentos nas salas do laboratório (perigo de auto-contaminação e contaminação de experimentos!);
- Verifique a voltagem dos equipamentos antes de conectá-los à tomada;
- Somente utilize o equipamento sozinho após estar certo de como manipulá-lo, caso contrário procure por auxílio;
- Tente organizar aquilo que utiliza, sempre que possível, durante os intervalos dos experimentos. Isto evita a desordem e delimita melhor o espaço de trabalho.
- Ao terminar seu trabalho, limpe (use detergente ou sapólio) e organize as bancadas utilizadas deixando-as prontas para outro colega;
- Comunique qualquer sugestão ou problema ao responsável pelo laboratório;
- Sempre que for o último a sair da sala, feche as janelas, desligue os aparelhos que não estão em uso e apague as luzes.

## **Observação das normas de segurança nos laboratórios**

A prevenção de acidentes é importante e exige o envolvimento de todos. A variedade de riscos nos laboratórios é muito ampla e deve-se à necessidade da manipulação de substâncias tóxicas, corrosivas, voláteis, inflamáveis ou instáveis; ao uso de aparelhagem que oferece riscos como altas temperaturas e radiações; deve-se também à manipulação de materiais biológicos.

Faz parte dos deveres do estagiário participar ativamente das atitudes e procedimentos destinados a garantir a segurança de todos no local de trabalho e manter sempre atos seguros, observando as normas seguintes:

- Não é permitida alimentação, ingestão de líquidos, fumar, guardar alimentos e aplicar cosméticos na área de trabalho;
- Manter o laboratório limpo, retirando qualquer material que não tenha relação com o trabalho;
- As superfícies de trabalho devem ser descontaminadas pelo menos uma vez ao dia e sempre que houver derramamentos de substâncias potencialmente tóxicas;
- Lavar as mãos após manipulação de produtos químicos, material biológico e antes de sair do laboratório;
- Observar as normas de descarte de material após sua utilização e correto acondicionamento de lixo;
- Usar vestimentas apropriadas (avental, máscaras, luvas e outros específicos a cada caso). Essas vestimentas não devem ser utilizadas em outros ambientes fora do laboratório, como a copa e a cantina;
- Sempre que necessário, proteger os olhos e face de respingos ou impactos utilizando os Equipamentos de Segurança Individual indicados (óculos e protetor facial);
- Só podem ingressar na área de trabalho as pessoas adequadamente informadas sobre os riscos existentes e os métodos utilizados para sua proteção;
- Providenciar vacinação contra hepatite B, Febre Amarela e a Anti-Tetânica, para os que atuem em área de risco.

### **OUTROS CUIDADOS:**

- a) Não manipular líquidos inflamáveis perto de fontes de ignição;
- b) Usar a capela para aquecer líquidos inflamáveis;
- c) Usar protetor facial e luvas adequadas ao manipular e agitar frascos fechados contendo líquidos inflamáveis e/ou voláteis, pois contato com a pele e olhos pode causar queimadura ou irritação e os vapores podem causar tontura ou sufocação;
- d) Não jogar na pia líquidos inflamáveis e/ou voláteis, mas estocar em recipientes de despejo adequados. O escoamento para a rede de esgoto poderá criar risco de fogo ou explosão;

- e) Não estocar líquidos voláteis e/ou inflamáveis em geladeiras domésticas, pois os mesmos podem gerar faísca, seja no acendimento da luz interna, seja no motor e causar grave acidente;
- f) não guardar substâncias oxidantes próximos a líquidos voláteis e/ou inflamáveis;
- g) manipular produtos tóxicos somente em capelas que estejam em perfeito funcionamento;
- h) evitar o contato de produtos tóxicos com a pele, utilizar EPI's;
- i) não descartar produtos tóxicos nas pias, recolha-os em recipientes adequados;
- j) manipular produtos corrosivos somente usando óculos de segurança e luvas de PVC adequadas;
- k) Não jogar produtos corrosivos concentrados na pia. Eles somente podem ser descartadas após diluídos

### Observações:

Orientações detalhadas para manipulação de produtos químicos, biológicos, trabalhos de campo, manipulação de equipamentos e substâncias tóxicas serão obtidas com o orientador e em documentação elaborada pela Comissão Interna de Prevenção de Acidentes (CIPA).

O estagiário deverá ler atentamente as normas de segurança gerais e as que são específicas do laboratório onde vai atuar, após o que será realizada uma entrevista pelo orientador sobre essas normas. O orientador será responsável pelo fornecimento dos manuais de segurança e instruções complementares.

## **Infraestrutura Física**

### **VIDRARIA E EQUIPAMENTOS MAIS COMUNS**

Becker – Similares a um copo de vidro graduado, serve para preparar soluções. Disponível em diversos tamanhos: 5, 10, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 mililitros (mL).

Erlenmeyers – Frascos de vidros cônicos, também graduados, de vários tamanhos, que servem para preparo de soluções e de meios de cultura para microrganismos, bem como recipientes de crescimento dos mesmos.

Pipetas – “Canudos” de vidro graduados, utilizados para medir volumes com maior precisão. Também disponíveis para medição de diversos volumes (1, 2, 5, 10, 20 e 25 mL).

Provetas – Cilindros de vidro graduados. É o recipiente mais confiável para medição de volumes. Pode ou não ter tampa. Disponível em diversos tamanhos (10, 20, 50, 100, 250, 500, 1000 e 2000 mL).

Meio de cultura – Solução composta por nutrientes e fatores essenciais para crescimento de microrganismos. É específico para cada organismo (bactérias e fungos). Geralmente utiliza-se apenas o termo “meio” para referir-se a ele.

Cultura de células – Para o estudo de vírus ou para estudos de interação patógeno-hospedeiro, utilizam-se células de mamíferos ou insetos, isolados do organismo como um todo e mantidas em garrafas estéreis com meio de cultura. Isto possibilita o controle de fatores externos sobre as células, resultando em dados exclusivamente de interação entre os sistemas em estudo (vírus-hospedeiro, por exemplo).

Tubos de ensaio – Tubos para realização de reações e para crescimento de microrganismos em meio sólido ou líquido.

Autoclave – Aparelho de grande porte que funciona como uma panela de pressão, destinado à esterilização de vidrarias e meios de cultura para crescimento de microrganismos. A temperatura deve atingir 180 °C (1 atm) e assim permanecer por 20 min.

Bancada – Local de trabalho de um pesquisador. Normalmente está apoiado sobre armários e gaveteiros, que servem de armazenamento de vidraria e equipamentos de laboratório em geral. Além disto, tem colocado sobre si uma espécie de prateleira para colocação de vidros contendo as soluções de uso mais comum.

Banho-maria – Equipamento que mantém água aquecida a uma temperatura constante para permitir que reações específicas ocorram por tempo determinado.

Centrífuga – Aparelho que permite a alta rotação de tubos para precipitação de amostras para análise. O rotor (recipiente para acondicionamento dos tubos) pode atingir velocidades de até 18.000 rpm (rotações por minuto).

Cubas de eletroforese – Pequenos recipientes para preparo de géis (“gelatina” a base de agar (pó derivado de algas de composição inerte) para análise de DNA (neste caso usam-se cubas horizontais) ou proteínas (em cubas verticais). Deve estar ligadas a uma fonte de energia para separação de moléculas através de cargas positivas e negativas.

Freezers – Para conservação de material à – 20°C ou à – 80°C.

Geladeiras – Para conservar entre 4-10°C, soluções que sejam perecíveis a temperatura ambiente e para preservar culturas de microrganismos para posterior análise.

B.O.D. – Estufas de grande porte que permitem o controle de temperatura, fotoperíodo e umidade para incubação de material biológico.

## **LAVAGEM DE MATERIAL**

TODA E QUALQUER ETIQUETA OU IDENTIFICAÇÃO À CANETA DEVE SER RETIRADA DO MATERIAL A SER LAVADO ANTES DESTE SER LEVADO ÀS CUBAS DE LAVAGEM!!!

### **Vidraria:**

- Toda a vidraria utilizada deve ser rinsada com água na pia, para retirada de excessos químicos, após o que deve SEMPRE ser colocada na cuba com solução de detergente para posterior lavagem. A VIDRARIA NÃO DEVE SER DEIXADA DENTRO DA PIA!
- Qualquer vidraria utilizada com reagentes tóxicos (fenol, solventes, etc.), após o correto descarte do produto, deve ser rinsada exaustivamente na pia antes de ser colocada para processamento pelo responsável da lavagem do mesmo!
- As pipetas de vidro utilizadas no laboratório devem ser colocadas no recipiente apropriado, contendo solução de detergente, após retirada e descarte do algodão do orifício superior da mesma, sendo colocada com seu bico voltado para baixo.

### **Pequenos instrumentos:**

- A limpeza de material frágil reutilizável tais como hemacitômetro, cuvetas de espectrofotômetro, microseringas, etc. são de responsabilidade do usuário, devendo ser descontaminado, lavado, seco e guardado em seu local de origem após o uso.
- Após utilização de espátulas, pinças, balairinas (barras magnéticas), e outros objetos os mesmos devem ser descontaminados, lavados e guardados em seus respectivos locais pelo usuário.

## **ESTERILIZAÇÃO**

O material de uso comum de cada laboratório (ponteiras, tubos de microcentrífuga, etc.) é periodicamente preparado por cada grupo, encaminhado para esterilização e recolhido pela pessoa responsável.

Vidraria estéril deverá ser solicitada com antecedência, para preparo da mesma pela pessoa responsável.

Meios de cultura e soluções a serem esterilizados deverão ser preparados pelo interessado, devidamente embalado e rotulado (nome do usuário e laboratório) para autoclavagem e entregue à pessoa responsável para encaminhamento do material.

Existe uma programação de horários de funcionamento da autoclave, tanto para esterilização como descarte de material. Consulte o responsável com antecedência para saber quando preparar seu material.



## **DESCARTES**

### **Material biológico:**

- Culturas de microrganismos em meio líquido a serem descartadas devem ser primeiramente descontaminadas com solução de hipoclorito de sódio 5% por pelo menos cinco minutos, descartadas em água corrente (quando não houver massa sólida), então rinsadas em água e colocadas na cuba de lavagem.
- Culturas de microrganismos em meio sólido devem ser colocadas em espaços destinados para descarte para posterior autoclavagem e processamento.

### **Material plástico:**

- Placas de Petri ou quaisquer recipientes descartáveis utilizados para crescimento de microrganismos poderão ser colocados diretamente em sacos plásticos apropriados para autoclavagem para posterior processamento. O descarte destes sacos será feito sempre que o nível do mesmo atingir sua capacidade ou quando o material depositado apresentar sinais de putrefação.
- As ponteiras ou tubos de microcentrífuga utilizados com fenol, clorofórmio, brometo de etídio ou com qualquer outro reagente tóxico devem ser descartados em recipientes específicos no laboratório (em cada sala), devidamente etiquetados (contendo o nome do laboratório de origem, nome do produto tóxico e data de descarte), evitando qualquer contato com pessoas não capacitadas! O responsável interno ao laboratório pela coleta do descarte deve fazer o pedido do serviço via intranet e o material colocado junto ao balde de descarte de géis de poliacrilamida, localizado na sala de fotografia, para coleta pelo pessoal responsável.
- As ponteiras (amarelas e azuis) utilizadas deverão ser colecionadas em cada bancada em recipientes disponíveis e apropriadamente etiquetados. Estes descartes deverão ser recolhidos semanalmente (ou sempre que necessário) para descarte ou reaproveitamento por uma pessoa responsável, disponibilizando o recipiente sempre limpo.
- Os tubos de microcentrífuga deverão da mesma forma, ser colecionados também em cada bancada em recipientes etiquetados e periodicamente coletados e repassados para outros laboratórios que possam reutilizá-los.

### **Resíduos químicos de experimentos:**

- Géis de agarose: devem ser descartados em balde destinado para este tipo de resíduo sólido.
- Géis de poliacrilamida: uma vez polimerizado, o conjunto acrilamida/bisacrilamida não oferece riscos de toxidez química, podendo portanto ser descartado em lixeira comum.
- Fenol/clorofórmio: estes solventes devem ser colecionados em galões plásticos de pequenas dimensões (até 5 L, para facilitar transporte e manipulação), de uso comum, disponibilizados nas salas do laboratório e devidamente etiquetados. Ao completar o preenchimento destes frascos, avisar ao responsável do laboratório para coleta e substituição dos mesmos.

Os materiais sólidos utilizados com estes solventes (tubos, ponteiros, etc.) devem ser descartados em galões plásticos semelhantes, também disponíveis nas salas do laboratório e estes, da mesma forma, quando cheios, encaminhados ao responsável, para retirada e substituição.

- Brometo de etídio: soluções concentradas deste reagente (resíduos de purificação de DNA por gradiente de cloreto de cério, por exemplo), devem ser coletadas em recipientes apropriados para descarte definitivo quando cheios.

Soluções pouco concentradas (para coloração de géis, ou tampões de corrida por exemplo), devem ser descartadas em água corrente, permitindo lavagem exaustiva do recipiente que as contém.

#### **Vidraria danificada:**

- A vidraria quebrada deve ser reaproveitada sempre que possível ou, em casos de perda total, descartada em lixeira, caixa de papelão resistente ou balde plástico destinado para este fim.

#### **Outros:**

Procurar o responsável pelo laboratório.

### **Uso de equipamentos**

Muitos dos equipamentos que usamos rotineiramente no laboratório são muito caros, e alguns deles podem ser perigosos se mal utilizados. Você deve ser cuidadoso com o equipamento! Sempre pergunte se não estiver certo de como usá-lo. Consulte os seus manuais ou orientações disponíveis no laboratório

Os equipamentos de uso mais freqüente apresentam junto de si escalas de reserva que devem ser preenchidas com antecedência a cada experimento para garantir a sua disponibilidade por ocasião da execução do mesmo! Além disso, a reserva e assinatura possibilita melhor controle de uso e conservação dos equipamentos.

#### **Balanças:**

Antes de manipular qualquer equipamento, buscar conhecer como utilizá-lo. No caso das balanças, especialmente para as balanças de precisão, as orientações quanto ao seu uso são imprescindíveis. Não esquecer de observar e obedecer os limites de capacidade da balança, para não quebrá-la.

Utilizar luvas e/ou máscara para manipulação de reagentes tóxicos, pulverulentos, ácidos ou bases fortes. Na dúvida, procure um colega capacitado para auxílio.

Após cada pesagem a balança deve ser SEMPRE devidamente limpa e fechada, disponibilizando um ambiente agradável de trabalho. Os reagentes SEMPRE devem ser devolvidos ao lugar de onde foram retirados, obedecendo sua identificação.

**Banho-maria:**

Quando usar o banho-maria com agitação é especialmente importante ter certeza, que nenhuma cultura de bactérias, fungos ou vírus tenha sido quebrada na água. Feche bem os tubos. Aumente a velocidade de agitação gradativamente.

**Capelas:**

As capelas devem ser mantidas SEMPRE limpas, mas antes de utilizá-las deve-se verificar e adequar a limpeza, para em seguida ligá-la e esterilizá-la com luz ultravioleta.

Após o uso, desligar o fogo e o gás (inclusive o registro do botijão de gás) e descontaminar as superfícies com álcool 70%, exceto o visor quando for de acrílico.

**Centrífugas:**

- Equilibrar precisamente o peso dos tubos SEMPRE, com pelo menos duas casa decimais;
- Manipular as centrífugas sempre sob a supervisão do orientador ou pessoa capacitada;
- Atarraxar o rotor devidamente no eixo da centrífuga, nem esquecer de colocar a tampa do mesmo;
- NUNCA ultrapassar a velocidade máxima permitida para cada rotor (verificar os manuais ou buscar auxílio de pessoa capacitada);
- Permanecer junto à centrífuga até a mesma atingir a velocidade desejada para acompanhar qualquer problema durante a aceleração do rotor;
- Após término da centrifugação, retirar o rotor e limpá-lo devidamente (com água e sabão se necessário) e deixá-lo disponível, de cabeça para baixo para não acumular umidade;
- Manter SEMPRE limpo o interior na centrífuga (usar água e sabão para limpar derramamentos) para evitar corrosão e ferrugem;
- Deixar a tampa da centrífuga entreaberta para evitar acúmulo de umidade.

**Cubas de eletroforese e fontes de energia:**

Têm potencial de eletrocuição se usadas inapropriadamente. Nunca ligue a energia até que o equipamento esteja completamente conectado. Limpe qualquer resíduo líquido da tampa, dos eletrodos, de suas mãos antes de conectar a cuba à fonte.

**Forno de microondas: Cuidado !!!**

- Não colocar material metálico (incluindo papel alumínio) nos fornos;
- Nunca colocar frascos com tampa ou rolha de borracha para não provocar explosões por pressão;
- Limpar o forno SEMPRE que houver derramamento de material sobre o prato;
- Usar luvas de proteção para retirada de material quente do forno;
- Solicitar auxílio em caso de dúvidas.

**Microcentrífugas:** Devem ser usadas sempre com os tubos apropriadamente balanceados. A pessoa que fecha a tampa e começa a centrifugação é a responsável por garantir que a mesma esteja sendo devidamente utilizada.

**Micropipetadores:** São críticos em nosso trabalho. Trate-as com cuidado! Use o pipetador correto para o serviço. Não tente ajustá-los acima ou abaixo de seus limites. Não tem certeza como ajustá-los? Pergunte!

**Outros equipamentos:**

- Sempre que usar algum equipamento, certifique-se de que seu material esteja devidamente identificado e datado.
- Quando houver qualquer dúvida, consulte colegas capacitados e/ou manuais.

## **CONTROLE E DISPONIBILIZAÇÃO DE MATERIAL**

Cada um dos laboratórios que compõe o NTCB deve ter sua autonomia, isto é, sua vidraria, equipamentos e soluções de uso diário. Sendo assim, fica expressamente proibida a retirada de qualquer material das salas sem a devida autorização dos responsáveis pelos subprojetos e do laboratório. Desta forma, teremos capacidade de programar com maior exatidão os experimentos e agilizar sua execução.

Os reagentes dos laboratórios existem para execução de projetos específicos de cada laboratório, devendo ser por eles devidamente conservado e constantes em listagens explicitando a localização dos mesmos. No caso de necessidade de utilização de reagentes específico, favor consultar a sua disponibilidade com o responsável do subprojeto e/ou do laboratório. Ao perceber que algum reagente está chegando ao fim e não há outro frasco, registre imediatamente em local visível e apropriado (quadros ou cadernos de aviso) e comunique ao responsável do laboratório, para que o mesmo seja encomendado antes que venha faltar.

O empréstimo de qualquer material deverá ser autorizado pelos responsáveis pelos projetos e/ou pelo responsável do laboratório e registrado no Caderno de Empréstimo, disponível em cada laboratório, constando a data, material, nome da pessoa, local de trabalho, ramal e data de devolução.

## **Sala de fotografia**

**“Eagle eye”** - o primeiro a utilizá-lo no dia, deve ligá-lo, usá-lo e deixá-lo ligado (isto desgasta menos a máquina!). Este é um equipamento extremamente caro! Em caso de dúvidas, procure ajuda.

**Máquina Polaroid** - Nunca visualize seus géis sem a devida proteção (luvas, óculos protetores para UV e escudo protetor de acrílico sobre o gel).

Tanto o aparelho “Eagle eye” como Polaroid exigem luvas para sua manipulação. Enquanto estiver de luvas, evite pegar em regiões que sejam tocadas por todos (torneira, puxadores de gavetas, etc.), para evitar contaminação com Brometo de etídio!!!

A aquisição e manutenção de papel fotográfico, para ambos equipamentos, é de responsabilidade de cada grupo, que deve prever em seu orçamento a compra do mesmo.

Após a utilização de qualquer dos dois equipamentos acima, descarte o gel no "container" apropriado e mantenha SEMPRE a superfície do transiluminador ultravioleta limpa (use um papel toalha úmido). Caso necessário, pode-se usar detergente, que deve ser limpo até retirada de qualquer resíduo.

### **Revelação de filmes:**

Os reagentes para revelação de filmes em exposição (autorradiogramas) são também de responsabilidade de cada grupo. Em caso de sua precipitação demasiada, o usuário que o perceber deve preparar uma nova solução (ou se não souber fazê-lo, deve comunicar ao grupo). As cubas disponíveis para revelação devem ser SEMPRE lavadas com esponja e sabão após o uso para evitar o mau cheiro no local!

### **Sala de radioatividade**

Esta sala é de uso restrito aos empregados e estudantes de pós graduação habilitados e devidamente autorizados para manipulação de radioisótopos pela Comissão Permanente de Periculosidade do Cenargen. Os empregados que o desejarem, poderão requisitar a autorização junto à CPPer deste Centro. Os estudantes que necessitarem desenvolver atividades com o uso de radioisótopos deverão apresentar uma carta do orientador declarando estar de acordo, estando a execução de qualquer experimento sob a total responsabilidade do mesmo. Além disto, o estudante deve também providenciar a devida autorização pela Comissão. Fica portanto expressamente proibida a execução de atividades neste local sem prévia autorização do orientador e do responsável pela sala.

A utilização dos radioisótopos está diretamente vinculada à demanda de sua compra programada anualmente. Fica portanto, estabelecido que no caso de aumento na previsão de trabalho com radioisótopos, o responsável pela compra dos mesmos deve ser avisado com um mês de antecedência a fim de garantir quantidades suficientes para todos. A prioridade do usuário seguirá à existência de sua programação.

Para utilização de radioisótopos deve-se seguir as normas estabelecidas pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN). Para maiores informações, procurar a Comissão Permanente de Insalubridade e Periculosidade.

A área da bancada a ser utilizada (já sempre coberta por um filme plástico e por papel para fins de proteção contra derramamentos) deverá ser ainda recoberta por uma folha de papel alumínio para reter qualquer contaminação durante a manipulação.

A proteção individual adequada deverá ser sempre utilizada (jaleco, luvas, escudos de acrílico, contador Geiger e dosímetro).

QUALQUER ACIDENTE ou imprevisto deve ser imediatamente COMUNICADO ao responsável pela sala ou a um dos membros da Comissão

Permanente de Periculosidade e Insalubridade para tomada das devidas providências.

Na necessidade de descontaminação de pequenas áreas da bancada ou instrumentos, utilizar uma solução de SDS 2% para descontaminação diversas vezes para diluição da radiação, seguido, quando possível de rinsagem exaustiva em água corrente.

Todo material descartável utilizado deverá ser devidamente embalado em sacos plásticos, etiquetado com o nome do radionuclídeo, data de descarte e depositado nos "containers" de acrílico para posterior descarte na casa de rejeitos.

Todo material reutilizável (vidraria, cubas de eletroforese, etc.) deverá ser rinsado exaustivamente na pia, com aviso descritivo do material presente, início de rinsagem e usuário, que deverá ser o responsável pela disponibilização do material para devida limpeza pela pessoa autorizada.

**TODO MATERIAL DEVE SER DESCONTAMINADO ANTES DE SER COLOCADO PARA SER LAVADO!!!**

- É OBRIGATÓRIO o registro de utilização da sala no caderno de ata, capa preta, com preenchimento de TODOS os campos pelo usuário.

**PRESERVE O LABORATÓRIO SEMPRE LIMPO E ORGANIZADO!!!**

## **Atividades nos laboratórios**

### **PREPARO DE SOLUÇÕES**

Algumas soluções são utilizadas por todos os membros do grupo, podendo portanto ser preparadas em grandes quantidades para economizar tempo e espaço. Portanto, estas soluções denominadas comuns, serão preparadas por cada um dos que a utilizam, numa escala pré-determinada. Cada laboratório deverá ter seu próprio esquema de manutenção destas soluções.

Soluções de uso específico nos protocolos deverão ser preparadas individualmente e guardadas em pequenos frascos, nos limites da bancada de trabalho onde serão utilizadas ou em geladeira.

Os frascos contendo todas as soluções deverão ser rotulados com a identificação detalhada das mesmas.

### **MANIPULANDO MICRORGANISMOS**

Existem dois objetivos principais a serem lembrados quando manipulando bactérias:

- a) - Proteger as pessoas que trabalham no laboratório – você, seus colegas, instrutores e outros, de possíveis contaminações;
- b) - Prevenir contaminação de organismos indesejáveis (fungos, bactérias) em culturas puras.

Em nossos laboratórios trabalha-se com culturas de *Escherichia coli*. Apesar de a *E. coli* ser um patógeno humano, estas linhagens foram modificadas e não são tão virulentas como o tipo de *E. coli* selvagem. Entretanto, todas as bactérias devem ser tratadas como sendo nocivas. Muitas das culturas que trabalhamos contém plasmídeos com resistência a antibióticos, e é nossa responsabilidade estar certo que estas bactérias não sejam liberadas no ambiente. Use as seguintes diretrizes quando estiver manipulando bactérias:

1. Não coma, beba ou mastigue chicletes no laboratório. Não coloque lápis, canetas, marcadores, dedos (ou qualquer outro objeto) na sua boca. Mantenha suas mãos afastadas de seu rosto;
2. Sinta-se à vontade para sair do laboratório e ir beber seu refresco ou água nos locais apropriados a isto. Lave suas mãos antes de sair do laboratório a qualquer hora;
3. Nunca pipete nenhum líquido com a boca em qualquer laboratório;
4. Passe um pano ou papel toalha com desinfetante/detergente sobre a bancada após o trabalho. A superfície deve ser descontaminada sempre que você achar que possa ter havido contaminação;
5. Se você acidentalmente derramar qualquer bactéria, fungo ou vírus, seja uma gota ou toda cultura, sobre a bancada do laboratório, sobre você, ou no chão, você deve:
  - a) notificar seu supervisor/instrutor;
  - b) nunca tocar vidraria quebrada com as mãos nuas;
  - c) limpar com papel toalha o derramamento, sem deixar que sua mão toque o líquido absorvido e colocar o papel toalha molhado no lixo reservado para descarte de material biológico (a ser autoclavado);
  - d) desinfete toda a área afetada;
  - e) lave suas mãos com desinfetante e sabão. Tenha cuidado para não tocar nada, incluindo bebedouros, com suas mãos contaminadas;
  - f) Não espalhe contaminação. Por exemplo, um tubo que tenha uma cultura derramada fora do mesmo não deve ser colocado de volta na estante antes de ser limpo, para que as mãos de uma próxima pessoa não o toque.
6. Rotule todas as placas, tubos de cultura, etc., antes de inocular, a fim de diminuir as chances de derramamento;
7. NUNCA segure um tubo de cultura pela tampa. Tampas podem ficar frouxas e os tubos caírem no chão;
8. Mantenha cortes ou feridas cobertas. Use luvas. Comunique qualquer ferimento, aos instrutores/supervisores;
9. Venha para o laboratório vestido apropriadamente. Use sempre jaleco. Pés descalços ou chinelos NÃO SÃO PERMITIDOS. Você pode trazer um par de tênis ou sapato velho e mantê-los no laboratório. Desencorajamos fortemente o uso de sandálias de dedo, saltos altos que possam desequilibrar e shorts. Recomendamos que não use suas melhores roupas no laboratório;
10. Desencorajamos o uso de lentes de contato. Esteja alertado que mínimos traços de contaminação nos dedos podem ser transferidos às lentes de gelatina, as quais absorvem químicos, inclusive vapores. Seja especialmente cuidadoso em seguir os procedimentos de esterilização apropriados;

11. Alunos com alergia a qualquer produto, alto risco de infecção (por exemplo com diabetes descontrolada, sistema imuno depressor, sob quimioterapia, sob tratamento de esteróides) ou para aqueles que uma infecção seja especialmente devastadora (por exemplo, com deficiência renal) devem (a) ter autorização médica e (b) preferencialmente notificar seu instrutor/supervisor;

12. Descarte apropriadamente todas as culturas, vidraria, material plástico, pipetas e outros instrumentos que tenham tido contato com os microrganismos. Potes para descarte de ponteiras e tubos de microcentrífuga encontram-se sobre as bancadas e uma lixeira reservada para material biológico disponível no laboratório. Material cortante (giletes de bisturi e agulhas devem ser descartados em um pote separado destinado a este fim. Se uma pipeta for contaminada, deve primeiro ser descontaminada com hipoclorito de sódio (água sanitária) antes da lavagem;

13. Todas as culturas líquidas devem ser mortas antes de serem descartadas. Coloque os tubos ou vidraria em estantes dentro da pia e adicione hipoclorito de sódio 5% e deixe agir por pelo menos cinco minutos. Remova os rótulos dos frascos antes de colocá-los para rinsar.

## **CORRIDAS DE ELETROFORESE EM AGAROSE**

Existem espaços em bancadas dos laboratórios destinados para este fim. Os géis podem ser corridos com ou sem o corante Brometo de Etídio, conforme regras de cada grupo, podendo-se utilizar apenas cubas reservadas para corridas com este reagente, com tampa e aviso para devida cautela.

Após a corrida, o usuário deve SEMPRE guardar o tampão utilizado uma vez (sem Brometo de Etídio) em recipiente a isto destinado ou, se for tampão usado pela segunda vez, descartá-lo na pia.

As cubas de corrida, quando não estiverem em uso, devem estar SEMPRE vazias e limpas (rinsadas em água corrente), preferencialmente invertidas, para evitar acúmulo de umidade e desgaste das mesmas.

**GÉIS NÃO COMPLETAMENTE UTILIZADOS DEVEM SER RETIRADOS DAS CUBAS E GUARDADOS EM FRASCOS NAS BANCADAS OU EM GELADEIRAS, MAS AS CUBAS DEVEM PERMANECER LIBERADAS PARA USO COMUM!!!**

## **CORANDO E FOTOGRAFANDO GÉIS**

Os processos de coloração e fotografar géis contêm duas áreas de perigo potencial; coloração com Brometo de Etídio e uso de transiluminador ultravioleta. Você deve proteger-se do contato com Brometo de Etídio (Et BR) e à exposição de radiação ultravioleta e não contaminar superfícies de trabalho com Brometo de Etídio.

1. Proteger-se da luz ultravioleta é simplesmente uma questão de impedir a exposição direta:

- a) SEMPRE use protetores contra luz UV quando a mesma estiver ligada (óculos, coberturas acrílicas). NUNCA olhe diretamente para luz ultravioleta sem proteger os olhos porque pode causar danos na córnea de seu olho;



b) Com exposição suficiente, os raios UV podem também causar queimaduras de pele. Se você tiver que permanecer trabalhando sobre o transiluminador, use vestimenta apropriada, como um jaleco de mangas compridas. Seja especialmente cuidadoso para que seus punhos e pescoço não fiquem expostos;

2. O Brometo de Etídio é usado rotineiramente em biologia molecular para visualização de ácidos nucleicos; é entretanto um mutagênico e possivelmente carcinogênico. Assim, é importante que o utilizemos apropriadamente. O maior problema com Brometo de Etídio é a contaminação de superfícies de trabalho com líquidos de géis, papéis toalhas e luvas. Você deve estar sempre alerta, observando onde pode tocar com suas luvas contaminadas; 3. Todas as superfícies reservadas para este fim são consideradas contaminadas. As seguintes superfícies da sala de fotografia (uso comum) bem como locais específicos dos laboratórios são frequentemente contaminadas e precisam ser limpas constantemente:

- os interruptores de luz da sala de fotografia!
- maçanetas da porta, dos armários, do aparelho “Eagle Eye”;
- a torneira da pia da sala de fotografia;
- a superfície externa do balde de descarte de géis.

4. Use luvas quando manipular os géis, no entanto, se for gravar o arquivo em disquete, REMOVA sua luva ao manipular o mesmo para não contaminá-lo;

5. Após tirar sua fotografia definitiva, limpe o transiluminador com papel toalha úmido. O gel deve ser descartado no balde apropriado, que se encontra no local e os resíduos (papel toalha e luvas), na lixeira da própria sala;

6. Use papel toalha com água e sabão para limpar qualquer superfície que você ache estar contaminada;

7. Sempre que necessário, limpe a torneira da pia e os interruptores de luz. Faça uma inspeção final na sala antes de sair. Caso seja o último a usar o equipamento antes do fim do expediente, tranque a sala após ter certeza que o transiluminador e equipamento estão desligados;

8. Lave bem as mãos após toda manipulação.

## **Regras gerais**

1. Mantenha sua área de trabalho organizada para reduzir a confusão, possibilidade de erro, possibilidade de derramamentos. Coloque os cadernos de protocolos e material desnecessário em outro lugar;

2. Derramamentos de reagentes devem ser limpos com papel toalha seguido de rinsagem com água. Para grandes derramamentos ou derramamentos de líquidos perigosos (ex. NaOH), comunique ao instrutor/supervisor;

3. Manipule seu trabalho apenas sobre a bancada, não sobre seu computador, no chão ou no colo.

## **Primeiros socorros**

1. Comunique todos os acidentes imediatamente ao instrutor/supervisor;

2. Para derramamento nos olhos, vá **IMEDIATAMENTE** lavá-los nos lava-olhos localizados no corredor, ao lado dos chuveiros de emergência. Deixe a água lavar os olhos copiosamente;
3. Para derramamentos maiores sobre si, use a pia ou um dos chuveiros de emergência localizados no corredor do prédio;
4. Para queimaduras, a região atingida deve ser resfriada com gelo, assim que possível e mantida resfriada.

## **Incêndios**

A sua resposta a um incêndio será diferente dependendo de quão grande o fogo é, a substância que está queimando, e perigo imediato às pessoas. Não podemos listar todas as situações aqui.

Muitas vezes o álcool é usado para desinfetar equipamentos ou alças de espalhamento de bactérias e queimamos o excesso em bicos de Bunsen. Estas situações devem ser cuidadosamente monitoradas. Sempre abafe um fogo causado com álcool ao invés de usar água.

Se você tiver um incêndio pequeno, a melhor maneira de apagá-lo é abafando-o (por exemplo, com um livro, um jaleco, mas nunca com sua mão!). Aja rapidamente. Em alguns casos, tais como madeira ou papel, usar água pode ser o mais apropriado. Se alguém tiver uma parte da vestimenta em chamas, jogue água sobre a região ou abafe o fogo.

Se uma pessoa estiver em chamas, ela deve rolar pelo chão para abafar o fogo. Auxilie com jalecos para abafar o fogo e com água para extingui-lo. Entretanto, se acontecer um incêndio no laboratório em si, então a sala e o prédio devem ser evacuados. Se houver tempo, retire os equipamentos das tomadas. Deixe o recinto e saia do prédio.

## **METODOLOGIA DE CRIAÇÃO DE INSETOS PARA AVALIAÇÃO DE AGENTES ENTOMOPATOGÊNICOS**

O desenvolvimento de estudos de patogenicidade com organismos entomopatogênicos é facilitado através de insetos criados em laboratório uma vez que independem da planta hospedeira, e há um suprimento contínuo de insetos padronizados, criados em condições físicas, químicas e biológicas conhecidas.

Para obtenção de insetos que são utilizados em estudos de controle biológico pode-se usar os criados em dietas naturais e artificiais. No caso do Cenargen, são utilizados os dois métodos de criação, tendo-se o cuidado de evitar contaminações através de tratamentos com anticontaminantes, esterilizações etc.

No Laboratório de Bioecologia e Semioquímicos são realizados estudos sobre a biologia, ecologia e comunicação de insetos, utilizando-se várias espécies de percevejos, cujos adultos são criados em gaiolas de plástico transparente, alimentados com vagem, sementes de soja, amendoim, girassol e água. As massas de ovos são retiradas das gaiolas e transferidas para placas de Petri,

forradas com papel de filtro, com as mesmas condições de incubação das gaiolas dos adultos, onde as ninfas são mantidas até o terceiro ínstar.

Além dos percevejos são também criados vários outros insetos, entre os quais os parasitóides dos ovos de percevejos, lepidópteros, mosquitos e bicudo, sendo para estes últimos são apresentadas a seguir noções básicas da criação, uma vez que são muito utilizados no Cenargen, principalmente, em bioensaios com os agentes entomopatogênicos: bactérias, fungos e vírus.

### **Obtenção de insetos para estabelecimento ou revigoramento da colônia**

O processo de estabelecimento das colônias de insetos pode ser feito obtendo-se posturas, larvas, pupas ou até mesmo adultos do campo, em suas referidas plantas hospedeiras ou de laboratórios, desde que sejam insetos de boa qualidade.

Os insetos provenientes do campo devem obrigatoriamente passar por um período de quarentena, a fim de se evitar a introdução de contaminantes de dietas, parasitóides e patógenos na colônia.

### **Técnicas para criação de *Anticarsia gemmatalis* e *Spodoptera frugiperda***

A lagarta da soja (*Anticarsia gemmatalis*) apresenta em geral cor verde, com estrias brancas sobre o dorso, caracterizando-se pela presença de quatro pares de patas abdominais. Em condições de alta população, a lagarta da soja pode assumir coloração escura. As mariposas apresentam policromia acentuada, podendo sua coloração geral variar entre cinza, marrom, bege ou azul, tendo sempre uma linha transversal unindo as pontas do primeiro par de asas.

A lagarta do cartucho do milho (*Spodoptera frugiperda*) recém-eclodida alimenta-se da própria casca do ovo. Após esta primeira alimentação, permanece em repouso por um período variável de 2 a 10 horas. Depois começa a alimentar-se dos tecidos verdes, deixando apenas a epiderme membranosa, provocando o sintoma conhecido como "folhas raspadas". A lagarta tem coloração variável de pardo-escuro, verde até quase preta e um "Y" invertido na parte frontal da cabeça. A mariposa apresenta coloração pardo-escuro nas asas anteriores, e branco-acinzentada nas posteriores.

A simulação das condições ideais do meio ambiente é importante para que o comportamento dos insetos e a manutenção das características biológicas não sejam modificadas em laboratório.

### **Coleta e esterilização externa dos ovos**

Os ovos de *A. gemmatalis* são colocados no papel das gaiolas de adultos e retirados pela imersão do papel em água destilada. Estes são coados em peneira de malha fina e esterilizados, imergindo-os em solução de sulfato de cobre 1%. Os ovos são distribuídos em fitas de papel estéril e colocados na face interna do copo

plástico transparente de 250 mL com tampa perfurada e vedada com algodão para ventilação, com 1 cubo (2x2x2cm) de dieta.

As posturas de *Spodoptera frugiperda* são feitas em massas de ovos, no papel que recobre a parede e a tampa da gaiola. Faz-se a coleta de ovos a cada dois dias, recortando estes papéis em volta das posturas e transferindo-os para uma placa de Petri, onde são tratados com formaldeído 5%, água destilada e solução de sulfato de cobre 1%. Posteriormente, 10 posturas são colocadas na face interna de copos plásticos transparentes de 250 mL com 2 cubos de dieta.

### **Manejo de lagartas**

Após cerca de três dias ocorre a eclosão das lagartas, que se alimentarão da dieta e permanecerão neste recipiente até o sétimo dia, quando deverão atingir o estágio L3-L4. Nesta fase, as lagartas são repicadas 3 para cada copo de 50 mL, contendo um cubo (2x2x2cm) de dieta, onde permanecerão até a fase de pupa.

É conveniente a separação de salas para criação de lagartas e adultos, para evitar contaminar a dieta artificial por microrganismos que se alojam nas escamas das asas dos lepidópteros.

### **Dieta artificial para lagartas**

A dieta de *A. gemmatalis* é composta de feijão carioca, levedo de cerveja, germe de trigo, proteína de soja, caseína, agar e água destilada, e a de *S. frugiperda* de feijão carioca, levedo de cerveja, germe de trigo, agar e água destilada. Os componentes da dieta são autoclavados em sacos de polipropileno, homogeneizados, adicionados de anticontaminantes e conservantes (formol, ácido ascórbico, ácido sórbico e Nipagin), e de solução vitamínica (no caso de *A. gemmatalis*), sendo a seguir acondicionada em recipientes plásticos e mantida em geladeira.

### **Manejo das pupas**

As pupas obtidas são sexadas sob lupa, observando-se a região ventral. Nas proximidades da região posterior percebe-se o dimorfismo sexual. Depois disso, são transferidas para gaiolas de adultos para emergência.

### **Manejo e Gaiolas de Adultos**

Utiliza-se gaiolas de acrílico ou plástico, com orifícios para ventilação. Nas paredes coloca-se papel sulfite off-set, onde as mariposas fazem ovoposição. Para coleta de posturas basta retirar os papéis e recolocar outros novos.

Os adultos são alimentados em “bebedouros” com a seguinte dieta:

- mel, sacarose, ácido sórbico, Nipagin, água destilada e cerveja para *A. gemmatalis*.

- mel, sacarose, ácido ascórbico e água destilada para *S. frugiperda*.

### **Sala de Adultos**

Os adultos necessitam de umidade alta para acasalamento e oviposição. Esta sala deve ter umidade em torno de 80% e fotoperíodo deve ser de 14 h. É

necessária a utilização de uma lâmpada de 25w para simular a situação de luminosidade em que o adulto de *A. gemmatalis* acasala.

**Atenção:** Usar máscara, jaleco e luvas para evitar reações alérgicas, que podem ocorrer devido ao contato direto com escamas de insetos e substâncias químicas das dietas e material de limpeza.

## **Técnica para criação de Culicídeos: *Culex quinquefasciatus* e *Aedes aegypti***

As larvas de *C. quinquefasciatus* se criam em lagoas de oxidação, poças d'água de chuva, águas pluviais encontradas em garagens de edifícios, alimentando-se de matéria orgânica contida na água, após eclodirem de massa de ovos. As larvas de *A. aegypti* ao contrário necessitam de água mais limpa, normalmente águas pluviais acumuladas em plantas e recipientes vazios abandonados.

Várias formas de controle têm sido realizadas com o auxílio de inseticidas químicos, entretanto, esses agentes além de poluírem o ambiente, em pouco tempo deixam de ser eficazes, pois os mosquitos adquirem resistência.

Outra forma de controle é utilizando *Bacillus sphaericus* e *B. thuringiensis*, bactérias patogênicas, para larvas de mosquitos e que não causam danos ao meio ambiente.

A manutenção de colônias de mosquitos é de fundamental importância, pois fornece larvas saudáveis para avaliação da patogenicidade de isolados de *Bacillus* entomopatogênicos.

### **Coleta de ovos**

Os ovos de *C. quinquefasciatus* são colocados em grupos de 150, sendo este agrupamento denominado "jangada". Os ovos de *A. aegypti* são colocados individualmente em tiras de papel. Diariamente, são coletados e postos em bandejas, previamente esterilizadas em U.V., com 4 litros de água destilada.

É importante não colocar mais que 6 jangadas por bandeja, evitando assim a superpopulação.

### **Manejo de larvas**

Após aproximadamente 24h, ocorre a eclosão das larvas, que do 1° ao 4° estágio vão se alimentar de biscoitos de ração de gato autoclavados, que são trocados todos os dias para evitar que se dissolvam e fermentem.

A cada dois dias, as larvas são recolhidas em peneiras de voil e colocadas em novas bandejas. Esse tratamento é realizado até que a larva atinja o estado de pupa.

### **Manejo de pupas**

Sete dias após a eclosão, as larvas começam a empupar. Com o auxílio de um conta gotas, essas pupas são coletadas e colocadas em copos plásticos, que por sua vez são introduzidos nas gaiolas.

Nessa fase, a pupa não se alimenta, só respira. É interessante frisar que os machos empupam primeiro, portanto é necessário remanejar as pupas entre as gaiolas.

### **Manejo de adultos**

Vinte e quatro horas após a pupação, começam a emergir os adultos. Coloca-se então, a solução aquosa de mel a 10% num recipiente com papel de filtro, de maneira que todos os insetos tenham acesso à dieta.

Durante a semana é colocada uma codorna, por gaiola, para o repasto sanguíneo da fêmea. Dois dias após o repasto sanguíneo as fêmeas já começam a fazer posturas, reiniciando todo o procedimento. É importante mencionar que sem se alimentar de sangue a fêmea não faz a postura.

A gaiola de adultos é feita em madeira e recoberta por tela mosquiteiro ou sombrite escuro. É em formato de cubo tendo como entrada uma “manga” de tecido para facilitar o manuseio e evitar escape de adultos.

## **Técnica para criação de *Anthonomus grandis*, bicudo do algodoeiro**

O bicudo do algodoeiro se desenvolve nos botões florais e nos frutos, causando a queda destes ou defeitos na fibra produzida e prejuízos na produção e na comercialização do algodão.

### **Manejo e Gaiola de Adultos**

Os adultos são mantidos em gaiolas que consistem de recipientes plásticos, cujo fundo e a tampa são telados. Este recipiente é colocado dentro de um outro não telado, onde os ovos e fezes que caem do recipiente telado ficam depositados. Os recipientes plásticos devem ser esterilizados com luz ultravioleta, e terem vaselina aplicada em suas bordas para dificultar a fuga de insetos durante o manejo.

Estes adultos são alimentados com dieta artificial composta de levedo de cerveja, germe de trigo, proteína de soja, glicose, Pharmamedia, Agar e água destilada. Estes componentes são autoclavados em saco de polipropileno, vertidos em uma panela e homogeneizados com uma batedeira elétrica. Os anticontaminantes e conservantes (ácido ascórbico, ácido sórbico, Nipagin), solução vitamínica e sais de Wesson são, então, adicionados e a dieta distribuída em bandejas e placas de Petri esterilizadas previamente em U.V.

A limpeza desses recipientes é feita retirando os ovos, fezes e insetos mortos, estes últimos com o auxílio de jato de ar quente fornecido por um secador manual de cabelo. Os insetos vivos se movimentam com o calor permitindo assim separá-los dos mortos.

### **Coleta e esterilização externa dos ovos**

Os ovos caídos do recipiente telado para o recipiente plástico inferior, ficam misturados com as fezes, sendo coletados e lavados com água, para retirar fezes e partes de inseto que ficam suspensas. A mistura ovos/fezes que fica no fundo do recipiente é então tratada com solução de sulfato de cobre a 20%. Nesta solução, os ovos flutuam, enquanto as fezes sedimentam, permitindo a retirada do sobrenadante onde se encontram mais ovos do que fezes.

Em seguida, os ovos são recolhidos em uma peneira, desinfetados por 30 minutos, imersos em cloreto de benzalcônio a 0,3% e separados em grupos de aproximadamente 300 ovos, que são distribuídos, em placas de Petri, contendo a mesma dieta de adultos. Essas placas são colocadas na mesma sala para desenvolvimento de larvas, pupas e adultos.

### **Manejo de larvas e pupas.**

A eclosão das larvas ocorre aproximadamente 48 horas após a oviposição. Após a eclosão, elas penetram na dieta onde formam uma câmara, onde se desenvolvem, empupam e quando viram adultos, são coletados e transferidos para o recipiente telado. O período larval dura cerca de 21 dias, até o aparecimento dos adultos.

## **Procedimentos gerais para utilização do laboratório de criação de insetos**

- Não transitar entre os laboratórios de fungos, vírus e bactérias e o de criação de insetos
- Não entrar com material proveniente do campo no laboratório de criação de insetos
- Lavar as mãos antes de iniciar o trabalho.
- Manter fechada a porta da sala de dieta.
- Eliminar os resíduos de dieta fora dos locais de criação de insetos.
- As paredes, pisos, balcões e prateleiras do laboratório de criação devem ser revestidos por materiais que permitam a limpeza diariamente com desinfetantes.
- O hipoclorito de sódio é bastante utilizado como desinfetante, pois age sobre um largo espectro de microorganismos. Deve-se evitar os desinfetantes muito perfumados, para não perturbar a comunicação entre os insetos.
- Fazer uso contínuo dos equipamentos de proteção adequados ao manuseio de insetos, evitando assim contato com substâncias alergênicas.
- Os equipamentos de proteção(jalecos, máscaras, e luvas) e de manuseio devem ser de uso exclusivo na colônia.
- O ambiente onde ficam os insetos deve ser tranquilo, silencioso, e sem vibração provocada por máquinas.
- Funcionários e/ou estagiários que participem de alguma etapa da criação ou seleção dos insetos para uso em bioensaio, devem executar estas tarefas antes de trabalharem nos laboratórios onde existam contaminantes e/ou entomopatógenos.

- É importante manter livro atualizado, com o controle de produção de insetos, fornecimento e ocorrências, no laboratório de criação de insetos.
- Só manter o número necessário de insetos na colônia.
- Programar previamente o fornecimento dos insetos.

## **REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA:**

ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**. São Paulo, Editora Manole, 1986. 407p.

BARROS, I. da C., SILVA, A.C., FRAZÃO, H. da S. **Recomendações referentes a segurança nos laboratórios da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**. 27p. (Documento não publicado).

INTERNET (<http://www.cenargen.embrapa.br/unidade>)

INTERNET ([http://www.embrapa.br/a\\_embrapa/index\\_html/mostra\\_documento](http://www.embrapa.br/a_embrapa/index_html/mostra_documento))

O'REILLY, D. R., MILLER, L. K., LUCKOW, V. A. **Baculovirus expression vectors: A laboratory manual**. W. H. Freeman and and Co., Salt Lake City, Utah. 1992.

REGIMENTO DOS NÚCLEOS TEMÁTICOS Embrapa Recursos Genéticos & Biotecnologia - Os Núcleos Temáticos no Contexto da Atual Gestão, 6p.

SILVA, J. B.T. da, DIAS, J. M. C. de S. **Manual de orientações básicas para estagiários da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, 29p. (Documento não publicado)

SCHMIDT, F. G. V., MONNERAT, R. G., BORGES, M., CARVALHO, R. DA S. **Metodologia de criação de insetos para avaliação de agentes entomopatogênicos**. Brasília:EMBRAPA-CENARGEN, 2001. 20p. (EMBRAPA-CENARGEN, Circular Técnica, 11)