



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**DEPARTAMENTO DE ZOOTECNIA**  
**CURSO DE ZOOTECNIA**

**RAFAEL ALVES RAMALHO**

**ECOLOGIA DE ABELHAS NATIVAS DA CAATINGA: FERRAMENTA PARA A  
CONSERVAÇÃO E PROMOÇÃO DAS POPULAÇÕES DE POLINIZADORES**

**FORTALEZA**

**2016**

**RAFAEL ALVES RAMALHO**

**ESTÁGIO**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia.**

**Área de concentração: Abelhas**

**Orientador: Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas.**

**FORTALEZA**

**2016**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas  
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- R136e Ramalho, Rafael Alves.  
Ecologia de abelhas nativas da Caatinga: ferramenta para a conservação e promoção das populações de polinizadores / Rafael Alves Ramalho. – 2016.  
28 f. : il. color.
- Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Zootecnia, Fortaleza, 2016.  
Orientação: Prof. Dr. Breno Magalhães Freitas.
1. Bioecologia. 2. Declínio de polinizadores. 3. Nicho Trófico. 4. Palinocologia. 5. Populações de polinizadores. I. Título.

CDD 636.08

---

**RAFAEL ALVES RAMALHO**

**ESTÁGIO**

**Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Zootecnia do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Bacharel em Zootecnia. Área de concentração: Abelhas.**

**Aprovado em: 12/12/2016**

**BANCA EXAMINADORA**

---

**Prof. PhD. Breno Magalhães Freitas (Orientador)**  
**Universidade Federal do Ceará (UFC)**

---

**Prof. Dr. Francisco Deoclécio Guerra Paulino**  
**Universidade Federal do Ceará (UFC)**

---

**Dr. Isac Gabriel Abrahão Bomfim**  
**Universidade Federal do Ceará (UFC)**

**A Deus.**

**Aos meus pais.**

**Aos meus familiares.**

**Àqueles que me suportaram.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me permitir.

Aos meus pais, por todo o apoio, condução e provimento prestado.

Aos meus familiares, pelo suporte.

Ao Prof. Breno M. Freitas, pelos ensinamentos e acolhimento na IC e no GPA.

À Prof. Cláudia Inês por sua atenção, ensinamentos, suporte e amizade.

À Prof. Astrid M. P. Kleinert, pelo acolhimento no estágio.

Aos doutores Deoclécio e Isac, por comporem minha banca examinadora.

Aos demais professores que contribuíram para meu aprimoramento profissional.

Aos meus colegas, por compartilharem experiências e momentos ímpares.

Ao PIBIC/CNPq, pelas experiências e fomento da Iniciação Científica.

*Last but not least*, ao PB por todo o incentivo, apoio e suporte *außergewöhnliche*.

**“Quanto mais aumenta nosso conhecimento,  
mais evidente fica nossa ignorância. ” (John  
F. Kennedy)**

**“Se você comesse suas próprias palavras, sua  
alma seria nutrida ou envenenada? ”  
(Josemar Bessa – Adaptado)**

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	9
2.	LOCAL DE ESTÁGIO.....	11
2.1.	Universidade de São Paulo (USP) .....	11
2.2.	Laboratório de Abelhas (BEELAB) .....	12
3.	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS .....	13
3.1.	Estudos de Ecologia e Palinologia.....	13
3.2.	Expedição científica.....	13
3.2.1.	<i>Coleta de plantas</i> .....	13
3.2.2.	<i>Coleta de pólen apícola</i> .....	13
3.3.	Preparo e armazenamento de amostras .....	14
3.3.1.	<i>Exsicatas</i> .....	14
3.3.2.	<i>Botões florais</i> .....	15
3.3.3.	<i>Pólen apícola</i> .....	15
3.4.	Processamento de amostras .....	15
3.4.1.	<i>Acetólise</i> .....	15
3.5.	Análise de amostras .....	16
3.5.1.	<i>Análise qualitativa</i> .....	16
3.5.2.	<i>Análise quantitativa</i> .....	17
4.	CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	18
	REFERÊNCIAS .....	19
	ANEXO I – CONSTRUÇÃO DE UMA PALINOTECA.....	22
	ANEXO II – GELATINA GLICERINADA DE KEISER.....	27

## 1. INTRODUÇÃO

Mais de 350 mil espécies de plantas são conhecidas e registradas, entre briófitas, pteridófitas, gimnospermas e angiospermas (THE PLANT LIST, 2013). Apenas estas últimas perfazem quase 305 mil espécies. Entretanto, Paton *et al.* (2008) estima a existência de aproximadamente 352 mil plantas com flores.

A divisão de plantas espermatófitas foi recentemente redefinida como: gimnospermas – cicadófitas, ginkgófitas, pinófitas e gnetófitas; e angiospermas – magnoliófitas (MOTTA; FURLAN, 2008; BRESINSKY *et al.*, 2011). Todas estas plantas necessitam do processo de polinização para reprodução, seja esta direta (autopolinização) ou indireta (polinização cruzada), intermediada por fatores abióticos (água, vento e/ou gravidade) ou bióticos (besouros, borboletas, mariposas, moscas, abelhas, vespas, aves, morcegos e/ou humanos) (RECH *et al.*, 2014; FREITAS, 2015).

Segundo Regal (1982), a proporção de árvores e arbustos polinizados pelo vento é reduzida em ecossistemas tropicais, assertiva endossada por Ollerton, Winfree e Tarrant (2011), que não apenas ratificou a informação, mas quantificou-a. Estes últimos afirmam que a proporção de magnoliófitas varia de 78% em biomas temperados a 83% em zonas subtropicais e 94% em comunidades tropicais. Assumindo a estimativa de Paton *et al.* (2008) e considerando as proporções de plantas com flores e de plantas polinizadas por animais em cada zona latitudinal, concluíram que 87,5% das magnoliófitas existentes são bioticamente polinizadas (OLLERTON; WINFREE; TARRANT, 2011). Além disso, 35% da produção agrícola mundial é dependente desta polinização (KLEIN *et al.*, 2007).

Abelhas são os mais relevantes agentes bióticos de polinização. Atualmente, existem mais de 19,5 mil espécies de abelhas registradas com nomes considerados válidos (INTEGRATED..., 2016). Contudo, Michiner (2007) estima a existência de aproximadamente 20 mil espécies de abelhas em todo o mundo. Segundo Silveira, Melo e Almeida (2002), “[...] são contabilizados 1576 nomes válidos para as espécies de abelhas brasileiras e estima-se [...], pelo menos, 3000 espécies. ” Na última atualização da tribo Meliponini, promovida por Camargo e Pedro (2012), foram reunidas 412 espécies de abelhas. De acordo com Waldschmidt (2002), possivelmente ocorram cerca de 300 espécies de abelhas desta tribo no Brasil.

Ante à interdependência entre animais polinizadores e as magnoliófitas, pesquisadores têm empregado atenção ao declínio de polinizadores (POTTS *et al.*, 2010) e suas causas, tais como homogeneização e perda de habitats (KENNEDY *et al.*, 2013), espécies

invasoras (STOUT; MORALES, 2009), mudanças climáticas (KERR *et al.*, 2015) entre outros (*e.g.* FÜRST *et al.*, 2014; GODFRAY *et al.*, 2015; MCMAHON *et al.*, 2015; WILFERT *et al.*, 2016). Práticas como a implantação de sistemas agroambientais (BATÁRY *et al.*, 2015) e/ou uso moratório de pesticidas (DICKS, 2013) têm sido utilizadas a fim de mitigar os efeitos causais do declínio, muito embora tardiamente (BROWN *et al.*, 2016).

Brown *et al.* (2016) apontam que, ao invés do uso de meios mitigatórios, se deve atentar à antecipação de potenciais ameaças ou oportunidades, permitindo assim a implantação de políticas e práticas preventivas do declínio de polinizadores, garantindo a sustentabilidade destes e de seu serviço ecossistêmico – *e.g.* polinização.

A conscientização e educação ambiental, a restauração de habitats, o manejo e criação de polinizadores e a formulação de políticas públicas (ALVES-DOS-SANTOS; AIZEN; SILVA, 2015) compõem rol de ações favoráveis que visam barrar o avanço do declínio de polinizadores. Exemplos práticos destas são: o uso controlado de pesticidas – *i.e.* quantidade, qualidade, concentração e horário de aplicação adequados (ALVES-DOS-SANTOS; AIZEN; SILVA, 2015); a meliponicultura e o manejo de abelhas solitárias e semissociais (ALVES-DOS-SANTOS; AIZEN; SILVA, 2015); a recuperação e enriquecimento da flora nas áreas de entorno das culturas (SILVA *et al.*, 2014); a instalação de corredores ecológicos (ALTIERI; SILVA; NICHOLLS, 2003; WITTER *et al.*, 2014); e a implantação de jardins de polinizadores em áreas urbanas com plantas selecionadas e disponibilização de locais de nidificação para as abelhas (FRANKIE *et al.*, 2009).

Isto posto, é de clareza solar a importância dos estudos em ecologia da polinização como ferramenta de fomento à restauração, conservação e promoção das populações de polinizadores. Para tanto, é primordial “identificar padrões de organização das interações planta-polinizador, ou seja, **quem são as espécies, quais suas características e com quem interagem.**” (FREITAS *et al.*, 2014 – grifo nosso). Desta forma, a Palinoecologia – ciência que estuda a dispersão de pólen por diferentes agentes – tem suportado “estudos sobre as interações estabelecidas entre abelhas e plantas e tem subsidiado a elaboração de planos de manejo e conservação, tanto para as abelhas, como para as espécies de plantas por elas visitadas e/ou polinizadas.” (RCPOL, 2016).

## 2. LOCAL DE ESTÁGIO

Realizado principalmente no âmbito do Departamento de Ecologia do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo (IB/USP), mas não se restringindo a este, e sob supervisão da Prof. Dra. Astrid de Matos Peixoto Kleinert, o Estágio Supervisionado em Ecologia de Abelhas compreendeu diversificadas atividades tanto internas quanto externas ao Laboratório de Abelhas daquela instituição.

### 2.1. Universidade de São Paulo (USP)



Com um histórico de mais de 80 anos de pesquisa e ensino, esta instituição é conhecida como a melhor e mais produtiva universidade do país. A qualidade da formação oferecida está ratificada, inclusive, nas notas de conceito que recebem e na demanda internacional de vagas em seus cursos de graduação e pós-graduação, bem como na recepção de especialistas de todo o mundo em busca do compartilhamento ou aquisição de conhecimentos.

“O Instituto de Biociências (IB) foi criado em 1969 com a Reforma Universitária. Da sua constituição faziam parte os Departamentos de Biologia, Botânica, Fisiologia e Zoologia, estabelecidos em 1934 na antiga Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, e nela fundados quando da criação da Universidade de São Paulo. (...). Além de suas atividades didáticas, o Instituto tem uma longa tradição de pesquisa, iniciada nos departamentos já em 1934 por seus fundadores.” (INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS, 2016)

“O Departamento de Ecologia foi criado em 1976, e instalado em 1977, nas dependências do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, por docentes provenientes, em sua maioria, dos Departamentos de Botânica e de Zoologia. Dois docentes dos Departamentos de Fisiologia e Genética e Biologia Evolutiva juntaram-se ao corpo docente fundador. Atualmente, possui 22 docentes ativos (3 titulares, 3 associados, 16 doutores) e mais dois docentes aposentados (titulares), cadastrados no Programa Professor Sênior, e um professor visitante, que trabalham com questões relacionadas à ecologia, evolução e conservação biológica, tanto em ambientes terrestres como aquáticos. O corpo técnico-administrativo é composto por 9 técnicos de laboratório (dois com nível superior e sete com nível médio), 1 técnico

de informática (nível médio), 3 técnicos administrativos (nível médio) e 2 técnicos nível básico.

(...)

O Programa de Pós-Graduação em Ecologia, credenciado em 1982 para o Mestrado e, em 1993, para o Doutorado, conta atualmente com 29 orientadores e 40 alunos de mestrado e 33 alunos de doutorado matriculados. Já conferiu 244 títulos de Mestre e 126 títulos de Doutor. No último triênio (2010-2012), foi avaliado com conceito 6 pela CAPES.

(...)

Uma característica do Departamento de Ecologia é a constante troca de experiências com outras Universidades, do Brasil e do exterior, expressa tanto através de convênios, formais e informais, como pela vinda de professores visitantes, tanto para estadias de curta, como de longa duração.” (DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA, 2016)

## 2.2. Laboratório de Abelhas (BEELAB)



O Laboratório de Abelhas da USP é repleto de colmeias de abelhas nativas e ninhos de abelhas solitárias, tanto na parte externa como na parte interna. A estrutura disponível oferece ainda refrigeradores, estufas BOD, lupas e microscópios com câmeras e computadores dedicados, computadores, biblioteca especializada, bancadas para estudo e experimentação, gaiola de voo e a Coleção Entomológica Paulo Nogueira Neto (CEPANN).

O destaque em tecnologia é o microscópio utilizado nos estudos palinológicos. Da marca Leica, modelo DM4, essa máquina é equipada ainda com câmera Leica MC 170 HD e com o programa LAS 4.0 para aquisição e tratamento de imagens com escala e alta resolução.

### 3. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS

O estágio compreendeu de partes teórica e prática, sendo a primeira desenvolvida exclusivamente no âmbito da Universidade de São Paulo e a segunda, interna e externamente a esta instituição.

#### 3.1. Estudos de Ecologia e Palinologia

Durante todo o período de estágio aprendi sobre ecologia e palinologia através da leitura de livros (em especial “Ecologia: De indivíduos a ecossistemas” de Begon, Harper e Townsend e “Ecologia da Polinização” de Rech, Agostini, Oliveira e Machado) e artigos, de instruções dos professores e alunos de pós-graduação que desenvolviam trabalhos no laboratório etc.

#### 3.2. Expedição científica

Como parte das atividades externas ao Laboratório de Abelhas, numa viagem ao município de Aquiraz, estado do Ceará, foi realizada a coleta de material para análise no Meliponário do Sr. Ximenes e em seu entorno, compreendendo a um raio de 400 metros a partir do ponto onde localiza-se o referido meliponário. O controle da área a ser estudada foi feito através da marcação do local de coleta das espécies com o auxílio de um aparelho GPS.

##### 3.2.1. Coleta de plantas

A coleta de plantas foi realizada no município de Aquiraz, em áreas de mata nativa e em áreas de cultivo de frutíferas – *e.g.* coqueiral, pomar de sapotizeiros e cajueiral. Todos os espécimes coletados foram acondicionados em prensas de madeira com divisórias de jornal e papelão entre cada amostra. Ademais, foram coletados botões florais em pré-antese, os quais foram armazenados em tubos tipo Falcon e posteriormente submersos, no mesmo recipiente, em álcool 70%. Todo o material era identificado por marcação numérica, a qual era registrado em ficha catalográfica, onde as demais informações disponíveis sobre o espécime coletado eram anotadas, tais como nome popular, cor da flor, porte e hábito da planta, geolocalização etc.

##### 3.2.2. Coleta de pólen apícola

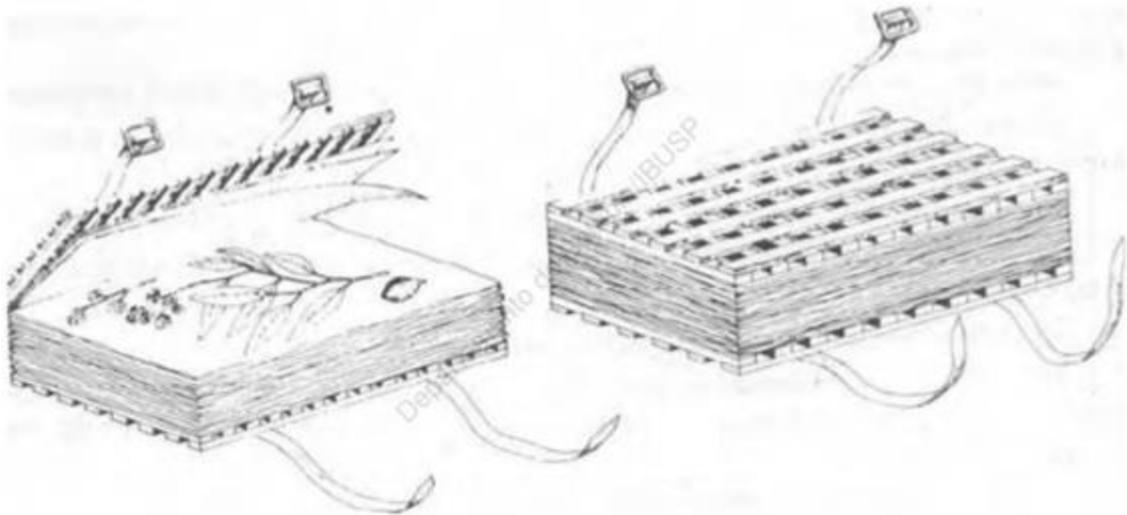
O pólen apícola foi coletado de potes de alimento recém-fechados ou em provisionamento, de quatro colônias de cada uma das quatro espécies nativas de abelhas do gênero *Meliponini*. As amostras foram coletadas com ferramentas limpas, a fim de evitar a

contaminação com pólenes provenientes de outras colônias, e armazenadas em recipientes de plástico vedados, individuais a cada colônia.

### 3.3. Preparo e armazenamento de amostras

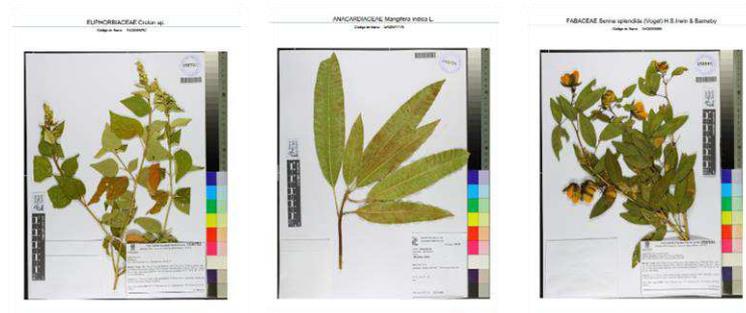
Todo o material coletado em campo fora tratado e preparado para armazenamento e posterior processamento e análise. Ressalta-se a importância do cuidado essencial durante o preparo e armazenamento das amostras, uma vez que estas podem ser facilmente contaminadas com material polínico de outras amostras, comprometendo o resultado obtido nas etapas posteriores.

De cada espécime de planta coletado foram preparadas três amostras contidas de ramos com folhas, botões florais, flores e, quando possível, frutos. Cada amostra de planta fora posta em prensas confeccionadas com jornal, papelão, madeira e corda, e posteriormente levadas a estufa para secagem, num processo conhecido como herborização.



#### 3.3.1. *Exsicatas*

Exsicatas são fragmentos de um vegetal herborizado, dispostos em cartolina, acompanhado de etiqueta com informações diversas sobre o espécime e armazenados em um herbário. Estas, então, foram confeccionadas em laboratório e enviadas ao especialista em



identificação de plantas para ratificação ou retificação das informações tomadas em campo acerca dos espécimes coletados.

### 3.3.2. *Botões florais*

Em laboratório e com auxílio de lupas e outros instrumentos, os botões florais foram dissecados para extração das estruturas onde o pólen está contido. Em seguida, as anteras foram maceradas com álcool e filtradas em pequenas peneiras de aço previamente flambadas, armazenadas em tubos tipo Falcon por, pelo menos, 24 horas.

Em casos onde os botões florais eram muito pequenos e com difícil acesso às estruturas que contém material polínico, estes foram macerados integralmente com auxílio de bastões de vidro e submetidos a filtrações sucessivas, a fim de reduzir a quantidade de material vegetal indesejado na amostra.

### 3.3.3. *Pólen apícola*

As amostras coletadas nos potes de pólen das colônias foram homogeneizadas cuidadosamente com bastões de vidro limpos, garantindo a integridade dos grãos, e individualmente, a fim de evitar contaminação cruzadas nas amostras, e delas fora retirada uma pequena alíquota para a formação de amostras a serem acetolizadas. Estas amostras foram armazenadas em álcool por, pelo menos, 24 horas, a fim de reduzir o teor de água nas alíquotas selecionadas para análise.

## 3.4. Processamento de amostras

Após o preparo, as amostras de pólen provenientes dos botões florais e das colônias, previamente deixadas em submersão alcoólica por 24 horas, foram centrifugadas e todo o álcool foi descartado para que o protocolo de processamento das amostras (acetólise) fosse iniciado.

### 3.4.1. *Acetólise*

O processamento foi realizado no Laboratório de Abelhas do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, o qual conta com completa aparelhagem e equipamentos para a realização segura do processo – *e.g.* capela de exaustão com fluxo laminar, equipamentos de proteção individual (EPIs), banho maria com controle de temperatura etc. – pois este é um processo com alto risco de acidentes químicos, físicos e biológicos – *i.e.* lida com objetos perfurocortantes, químicos altamente corrosivos, substâncias tóxicas e materiais aquecidos a temperaturas danosas.

O processo de acetólise (ANEXO I) começa desde o preparo da amostra. Posteriormente ao preparo, esta deve ser centrifugada e o álcool sobrenadante eliminado rapidamente, afim de evitar a perda de material. Conseqüentemente, há a adição de ácido acético glacial à amostra e, mais tarde, nova centrifugação e eliminação do sobrenadante. Desta feita, procede-se a adição da mistura de acetólise às amostras, as quais devem ser levadas a cocção em banho maria. Depois do cozimento, os tubos devem ser fechados, agitados manualmente, centrifugados e a mistura sobrenadante eliminada. Nesta etapa, deve ser feita a lavagem da amostra com água destilada e posterior centrifugação, a fim de eliminar o excesso de mistura de acetólise. Por fim, é feita a adição de solução de glicerina, na qual a amostra deve permanecer para que os grãos embebam a solução.

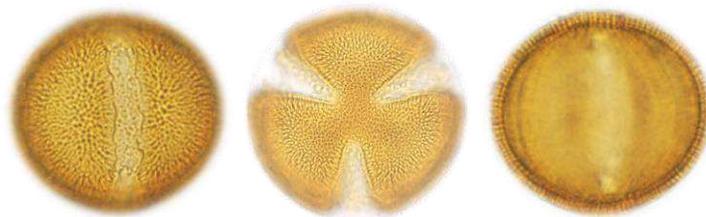
### 3.5. Análise de amostras

Um laminário contendo aproximadamente 300 lâminas palinológicas, entre lâminas do tipo permanente e semipermanente, foi confeccionado para que fossem analisadas sob microscopia óptica.

Contidas de material polínico *in natura* ou acetolizados, montados em gelatina glicerizada de Keiser (daqui por diante, GGK), estas podem ser dos tipos permanente, semipermanente ou de suspensão e são usualmente analisadas sob microscopia ótica (MO) ou eletrônica (ME). Através destas lâminas são obtidas imagens dos pólenes e de seus caracteres, os quais são utilizados para a identificação e caracterização dos mesmos. Comumente são tomadas imagens das visões polar e equatorial dos pólenes, bem como das ornamentações e estruturas da exina. O preparo das lâminas e da GGK serão melhor detalhados nos Anexos I e II, respectivamente.

#### 3.5.1. Análise qualitativa

Consistiu da tomada de imagens dos caracteres morfológicos dos grãos de pólen, reservando maior riqueza de detalhes aos grãos extraídos de botões florais, posto que estes serão parte do material de referência para a identificação das espécies vegetais. De forma padronizada e sempre que possível, foram tomadas as seguintes imagens: vista polar; vista equatorial; ornamentação; exina; e elementos ornamentais – *e.g.* espinhos.



### 3.5.2. *Análise quantitativa*

Lâminas com material polínico proveniente das colônias são as elegíveis a este tipo de análise, uma vez que ela identifica, principalmente, a diversidade de plantas visitadas por aquelas abelhas num dado período de coleta. Para esta análise são contados e registrados os primeiros 400 grãos de pólen, tomando-se nota de quantas unidades de cada tipo polínico foram observadas. Este registro é sumamente importante, posto que a construção dos índices ecológicos é dependente destes.

A determinação de índices ecológicos é obtida através do conhecimento das espécies e de sua frequência dentro da amostra. Permite, portanto, saber o quanto importante é cada uma das espécies estudadas na composição da comunidade. No caso de análise palinológica das amostras obtidas das corbículas ou em potes de pólen das abelhas, espécies com maior frequência têm maior importância como fonte de recurso proteico, mas não energético. Para identificação de importantes fontes de recursos energéticos, portanto, seria necessária a análise de amostras obtidas em potes de mel. Assim, os índices a seguir podem elucidar quantas e quais são as plantas utilizadas como fontes de recursos tróficos, seu nível de importância para uma dada espécie e, ainda, permitir a caracterização das espécies, por exemplo, como especialista ou generalista.

A saber, os índices ecológicos mais utilizados atualmente em estudos de determinação de tamanho e diversidade do nicho trófico das diversas comunidades de abelhas são:

- Riqueza de espécies;
- Frequência específica;
- Dominância de espécies – índice de Berger-Parker;
- Diversidade de espécies – índice de Shannon-Weiner;
- Equabilidade de espécies – índice de Pielou; e
- Sobreposição de nicho trófico entre espécies – índice de Pianka.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção científica multidisciplinar mostra a importância da complementariedade entre as ciências, posto que a abordagem multilateral de problemáticas tende a gerar soluções acertadas, uma vez que estas apresentam correlações de causas e efeitos no objeto de estudo que são melhor tratadas quando a conjuntura é analisada sob diferentes perspectivas científicas. Ou seja, diferentes áreas da ciência desenvolvem conhecimento e tratam de um mesmo assunto de formas particulares, que sempre convergem a um ponto comum – o melhoramento. Entretanto, a junção dos conhecimentos projeta soluções mais apuradas e, por vezes, com menores impactos negativos aos sistemas.

Estagiar junto a um grupo de pesquisa científica embasado principalmente em ecologia de abelhas me fez conhecer novas abordagens prática e científica da produção, manejo, conservação e preservação de abelhas e seu nicho ecológico.

Para além dos trabalhos pertinentes ao estágio, tive a oportunidade de assistir a apresentações de trabalhos de pesquisadores brasileiros, alemães e austríacos sobre palinologia, ecologia e biologia de abelhas, os quais contribuíram de forma singular para meu enriquecimento intelectual e científico.

A vivência em um dos grupos de pesquisa mais proeminentes do país, com profissionais de diversas áreas da ciência e de diferentes países, me possibilitou não apenas a aquisição de novos conhecimentos ou a práticas das línguas inglesa e alemã, mas também o conhecimento e experimentação de novas dinâmicas de grupos de trabalho.

Por fim, a vivência proporcionada pelo estágio no IB/USP foi *conditio sine qua non* haveria tamanho amadurecimento e enriquecimento profissional e pessoal. Ademais, trouxe consigo a ratificação do que visio para carreira profissional: o magistério e a pesquisa científica.

## REFERÊNCIAS

- ALTIERI, M. A.; SILVA, E. N.; NICHOLLS, C. I. O papel da biodiversidade no manejo de pragas. São Paulo: Holos Editora, 2003, p. 215.
- ALVES-DOS-SANTOS, I.; AIZEN, M.; SILVA, C. I. da. Conservação dos polinizadores. In: RECH, A. R. et al. *Biologia da Polinização*. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014, p. 527.
- BATÁRY, P. et al. The role of agri-environment schemes in conservation and environmental management. *Conservation Biology*, v. 29, 2015, p. 1006-1016.
- BRESINSKY, A et al. *Tratado de botânica de Strasburger*. 36 ed. Porto Alegre: Artmed, 2011, p. 1192.
- BROWN, M. J. F. et al. A horizon scan of future threats and opportunities for pollinators and pollination. *PeerJ*, v. 4, 2016, p. 22-49.
- CAMARGO, J. M. F.; PEDRO, S. R. M. Systematics, phylogeny and biogeography of the Meliponinae (Hymenoptera, Apidae): a mini review. *Apidologie*, v. 23, 2012, p. 293-314.
- DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA. Disponível em: <<http://ecologia.ib.usp.br/>>. Acesso em: 15 dez. 2016.
- DICKS, L. Bees, lies and evidence-based policy. *Nature*, v. 494, 2013, p. 283-283.
- FRANKIE, G. W. Native bees are a rich natural resource in urban California gardens. *California Agriculture*, v. 63, 2009, p. 113-120.
- FREITAS, B. M. Polinização agrícola: o serviço das abelhas que põe comida na mesa. 2015. Disponível em: <<http://www.abelha.org.br/>>. Acesso em: 20 set. 2016.
- FREITAS, L. et al. Interações planta-polinizador e a estruturação das comunidades. In: RECH, A. R. et al. *Biologia da Polinização*. Rio de Janeiro: Projeto Cultural, 2014, p. 527.

FÜRST, M. A. et al. Disease associations between honeybees and bumblebees as a threat to wild pollinators. *Nature*, v. 506, 2014, p. 364-366.

GODFRAY, H. C. J. et al. A restatement of recent advances in the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 282, 2015, p. 18-21

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS. Disponível em: <<http://www.ib.usp.br/>>. Acesso em: 15 dez. 2016.

INTEGRATED TAXONOMIC INFORMATION SYSTEM. 2016. Disponível em: <<http://www.itis.gov/>>. Acesso em: 20 set. 2016.

KENNEDY et al. A global quantitative synthesis of local and landscape effects on wild bee pollinators in agroecosystems. *Ecology Letters*, v. 16, 2013, p. 584-599.

KERR, J. T. et al. Climate change impacts on bumblebees converge across continents. *Science*, v. 349, 2015, p. 177-180.

KLEIN, A. M. et al. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society B*, v. 274, 2007, p. 303-313.

MCMAHON, D. P. et al. A sting in the spit: widespread cross-infection of multiple RNA viruses across wild and managed bees. *Journal of Animal Ecology*, v. 84, 2015, p. 615-624.

MICHENER, C. D. 2007. *The Bees of the World*. 2. ed. The Johns Hopkins University Press, 2007, p. 953.

MOTTA, L. B. da; FURLAN, C. M. Diversidade morfológica das espermatófitas. In: SANTOS, D. Y. A. C. dos; CHOW, F.; FURLAN, C. M (Org.). *Ensino de Botânica - Curso para atualização de professores de Educação Básica: A Botânica no cotidiano*. São Paulo: USP, Fundo de Cultura e Extensão: IB-USP, 2008, p. 7-12.

OLLERTON, J.; WINFREE, R.; TARRANT, S. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, v. 120, 2011, p. 321-326.

PATON, A. J. et al. Towards Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation: A Working List of All Known Plant Species-Progress and Prospects. *Taxon*, v. 57, n. 2, 2008, p. 602-611.

POTTS, S. G. et al. 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 25, p. 345-353.

REDE DE CATÁLOGOS POLÍNICOS ONLINE. 2016. Disponível em: <<http://www.rcpol.org.br/>>. Acesso em: 20 set. 2016.

REGAL, P. J. Pollination by Wind and animals: ecology of geographic patterns. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, v. 13, 1982, p. 596-606.

SILVA, C. I (org.). Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no campus da USP de Ribeirão Preto. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2014, p. 153.

SILVA, C. I. et al. Manejo dos polinizadores e polinização das flores do maracujazeiro. Instituto de Estudos Avançados da Universidade de São Paulo e Ministério do Meio Ambiente do Brasil, 2014, p. 54.

SILVEIRA, F. A.; MELO, G. A. R.; ALMEIDA, E. A. B. Abelhas brasileiras: sistemática e identificação. Belo Horizonte: Biblioteca Nacional, 2002, p. 253.

STOUT, J. C.; MORALES, C. L. Ecological impacts of invasive alien species on bees. *Apidologie*, v. 40, 2009, p. 388-409.

THE PLANT LIST. Versão 1.1. 2013. Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>>. Acesso em: 20 set. 2016.

WALDSCHMIDT, A. M. Meliponicultura na Bahia. In: Congresso Baiano de Apicultura, Paulo Afonso, v. 2, 2002, p. 166-168.

WILFERT, L. et al. Deformed wing virus is a recent global epidemic in honeybees driven by *Varroa* mites. *Science*, v. 351, 2016, p. 594-597.

## ANEXO I – CONSTRUÇÃO DE UMA PALINOTECA

Extraído do livro “Catálogo polínico das plantas usadas por abelhas no campus da USP de Ribeirão Preto”, de Cláudia Inês Silva e colaboradores.



### Procedimentos adotados para a construção da Palinoteca do Laboratório de Palinoecologia do Departamento de Biologia da FFCLRP-USP

Durante o período de março de 2010 a abril de 2012 foram amostrados botões florais em pré-antese das espécies que floresceram na área amostrada (298 spp.) e com esses foi construída a Palinoteca do Laboratório de Palinoecologia do Departamento de Biologia da FFCLRP-USP (ver Silva et al. 2014).

Para a construção de uma Palinoteca é importante ressaltar os cuidados com a coleta e o processamento das exsicatas que devem ser incorporadas no herbário. Cada herbário tem normas para o processamento do material botânico. Para isso, antes

de iniciar uma coleção é recomendado que seja inicialmente feito o contato com o curador do herbário, onde serão incorporadas as exsicatas.

Para cada espécie de planta é importante coletar no mínimo quatro réplicas, conteúdo folhas, flores e botões florais em pré-antese. Quando puder, coletar sempre mais botões florais e logo após o procedimento de desidratação mantenha-os em saquinhos de papel juntamente com as exsicatas no herbário, ou se preferir, pode mantê-los em uma caixa organizadora com tampa (deixando-a bem fechada), contendo no seu interior sílica gel e pastilhas de cânfora (quando possível).

A identificação do material botânico deve ser feita por especialistas, para evitar conflitos e problemas taxonômicos. Silva et al. (2010, 2012) sugerem que seja mantido na etiqueta da exsicata, o número da lâmina depositada na Palinoteca correspondente ao espécime de onde foram retirados os grãos de pólen. No presente Catálogo Polínico são apresentadas formas para facilitar a compreensão dos procedimentos para a preparação do material polínico com base em informações disponíveis na literatura relacionada (Hyde e Williams 1945, Erdtman 1952, 1960, Barth 1965, Salgado-Labouriau 1973, Melhem 1978, Moore e Webb 1978, Valdés et al. 1987, Barth e Melhem 1988, Moreti et al. 2000, Barth 2003, Melhem et al. 2003, Punt et al. 2007, Hesse et al. 2009, Silva et al. 2010, Bauermann et al. 2013) e a seguir são apresentados passo a passo algumas recomendações para a preparação de uma Palinoteca.

### Coleta e preparação do material polínico

Após a coleta, os botões florais em pré-antese, devem ser macerados com o auxílio de bastão de vidro de 5 mm, com ponta arredondada, sobre uma peneira de 5 cm de diâmetro, com malha de 0,5 mm (do tipo para chá), adaptada a um Becker de 25 mL (Figuras 1A-D). Durante esse processo de maceração, o pólen será separado do restante do material vegetal. Lavando o material floral com álcool 70%, o pólen e pequenas partes dos botões florais ficarão suspensos no Becker (Figuras 1E-L). Após a preparação do material polínico, esse deve ser submetido ao processo de acetólise proposto por Erdtman (1960).

Esse processo é o mais indicado para a preparação dos grãos de pólen, pois permite a

melhor visualização das características morfológicas para a sua descrição.

A partir desse ponto é fortemente recomendado que todos os procedimentos de trocas de ácidos sejam feitos em capela de exaustão de alta potência, usando sempre avental, luvas de procedimentos, óculos de proteção e máscara de carbono.

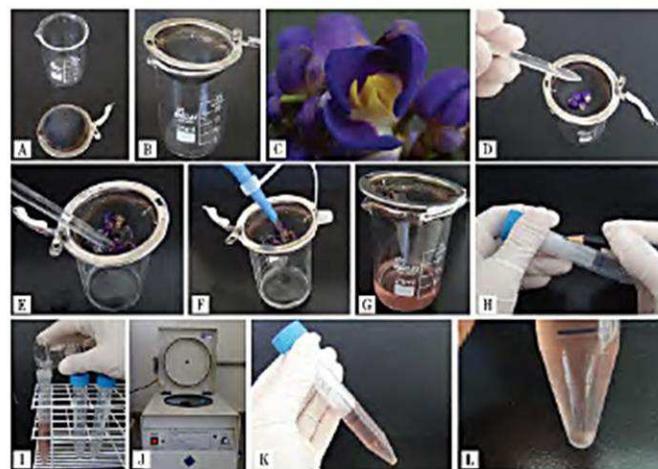


Figura 1 - Método de preparação do material polínico retirado dos botões florais em pré-antese. A-D: material usado para a maceração dos botões florais em pré-antese. E-G: maceração e lavagem com álcool 70% do material vegetal. H: identificação da amostra no tubo do tipo Falcon. I: transferência do material polínico no álcool para o tubo. J: centrifugação. K-L: material polínico após a centrifugação.

### Processamento do material polínico antes da acetólise

Em um tubo do tipo Falcon com capacidade para 15 mL, anote as informações a respeito da origem do material (Figura 1H). Para isso, recomendamos a preparação de uma base de dados no Excel, ou outro programa que seja adequado, onde deve ser mantido um código alfanumérico que representará a identidade do material a ser estudado (por exemplo, Pla001 = espécie de planta número 1). Para cada espécie de planta, deve ser tomada nota do nome do local de coleta, localização geográfica, tipo de vegetação, data, família e espécie da planta correspondente. Contudo, apenas o

código alfanumérico deve ser colocado nos tubos para evitar informações demasiadas. A organização dos dados é fundamental na Palinologia.

Após a identificação dos tubos, os mesmos devem ser organizados em uma grade de metal revestida de PVC, que confere resistência ao banho-maria. Uma vez organizados os tubos, o material polínico anteriormente depositado no Becker, após o processo de maceração, deve ser cuidadosamente transferido para o tubo, previamente identificado (Figuras 1H-L). É recomendado o uso de 4 mL de álcool 70%. O material deve permanecer por pelo menos 24 horas no álcool 70%.

Após as 24 horas, os tubos devem ser levados para a centrífuga, onde serão centrifugados por 10 minutos a uma rotação de 2.000 rpm (rotação por minuto). Depois do material polínico centrifugado, deve ser retirado o álcool, girando rapidamente o tubo para baixo até que saia o máximo possível (se o tubo for girado lentamente, é possível que haja perda de material). Após desprezar o álcool, adicione ao material polínico 4 mL de ácido acético glacial. Esse procedimento deve ser feito em capela de exaustão (Figura 2A), com o auxílio de pipeta de vidro e pipetador. É importante ressaltar aqui o uso de luvas de procedimento e máscara de carbono para evitar contato físico e inalação do ácido, respectivamente.

Antes de colocar a mistura de acetólise, manter o material polínico pelo menos 24 horas no ácido acético glacial. Após esse período, o material polínico mantido nesse ácido deve ser centrifugado por 5 minutos a uma rotação de 2.000 rpm.

### ***Preparação da mistura de acetólise***

Faça o cálculo de 5 mL da mistura de acetólise para cada amostra. São nove partes de anidrido acético para uma de ácido sulfúrico (9:1). Em hipótese alguma essa proporção deve ser invertida.

A mistura de acetólise deve ser feita em um balão de vidro (250 mL) que deve estar dentro de Becker (1.000 mL) com bastante gelo (Figuras 2B-C). No balão de vidro, coloque o anidrido acético com auxílio de uma pipeta e um pipetador. Após colocado o anidrido acético, adicionar vagarosamente, gota a gota, o ácido sulfúrico. Cuidadosamente, misture a solução com bastão de vidro (30 cm), no sentido horário

e anti-horário, até que a mistura esteja homogênea (cerca de 30 segundos).

A mistura de acetólise deve ser feita no momento em que for usá-la e não deve ser de forma alguma, estocada.

### ***Aplicação da mistura e acetólise no material polínico***

Antes da aplicação da mistura de acetólise, o material polínico mantido no ácido acético glacial deve ser centrifugado, conforme apresentado anteriormente e o ácido descartado em recipiente apropriado, de preferência, em frasco de vidro âmbar. O resíduo do ácido acético glacial deve ser mantido em segurança e identificado conforme as normas do Laboratório de Resíduos Químicos (LRQ) (ver o modelo na Figura 2G).

Após retirar o ácido acético glacial, acrescente 5 mL da mistura de acetólise e mantenha os tubos abertos com um bastão de vidro no seu interior (Figura 2D). Leve os tubos com a mistura de acetólise, organizados em uma grade, até o banho-maria contendo água aquecida a 80° (Figuras 2H-I). Mantenha o material polínico em cozimento por 3 minutos. Normalmente, esse é o tempo em que a água atingirá 100°C. Acompanhe a temperatura utilizando o termômetro digital acoplado ao banho-maria e se não houver use um termômetro manual. Com o bastão de vidro, misture delicadamente o material sedimentado para que os grãos de pólen sejam homogeneizados e tratados da mesma forma. O material polínico mudará rapidamente de cor após a introdução da mistura e se tornará mais escuro a cada minuto no banho-maria.

Após o cozimento do material polínico, retire cuidadosamente o bastão de vidro, feche bem o tubo e agite-o manualmente. Posteriormente, centrifugue o material polínico por 3 minutos a 3000 rpm. Depois de centrifugado, a mistura de acetólise deve ser cuidadosamente descartada em frasco de vidro âmbar, devidamente identificado. O resíduo da mistura de acetólise deve ser mantido em segurança e identificado conforme as normas do Laboratório de Resíduos Químicos (LRQ) (ver o modelo da etiqueta na Figura 2G).

Após o descarte da mistura de acetólise, adicione 10 mL de água destilada com o auxílio de uma pisseta. Feche o tubo e agite-o bem para que o material polínico seja

bem lavado e assim, retirado o excesso da mistura de acetólise. Se necessário repita o procedimento de lavagem mais de uma vez. Se formar espuma, adicione algumas gotas de álcool absoluto ou acetona, até que se desfaça a espuma.

Após a lavagem, centrifugue novamente o material polínico por 3 minutos a 3000 rpm e em seguida, descarte a água e adicione 2 mL de glicerina 50% (glicerina PA.+ água destilada) com o auxílio de uma pipeta do tipo Pasteur.

É recomendado que o material polínico seja mantido por pelo menos 30 minutos na água glicerinada, para que os grãos de pólen embebam antes de iniciar as análises polínicas.



Figura 2- Preparação do material antes da acetólise do pólen. A: Capela de exaustão, contendo no seu interior o banho-maria. B: reagentes e vidrarias usadas no processo da acetólise. C: Becker contendo gelo e um banho de vidro no seu interior. D: grade de metal revestida de PVC para colocar os tubos do tipo Falcon com as amostras. E: Reagentes usados no processo de acetólise. F: Frascos identificados, sendo o da direita preparado cuidadosamente para o descarte da mistura de acetólise. G: Modelo da etiqueta para identificação do material químico para tratamento no setor de química responsável na instituição. H-I: amostra no banho-maria.

### Preparação das lâminas

Para cada amostra de material polínico, preparar três lâminas (réplicas). Antes da retirada do material polínico dos tubos, é necessário centrifugar as amostras por 3 minutos a 3000 rpm. Após a centrifugação, deixe os tubos virados com a boca para baixo, sobre um papel absorvente para que o excesso da glicerina esorra.

Enquanto isso, corte a gelatina de Kisser (Figuras 3L-N) em cubinhos de aproximadamente 2x2x2 mm, com auxílio de uma espátula. Antes de colocar o cubinho de gelatina em contato com o material polínico é importantíssimo que o mesmo seja bem homogeneizado, principalmente se o material polínico for aquele coletado pelas abelhas. Depois de homogeneizar o material polínico, pegue o cubinho de gelatina com auxílio de um estilete e cuidadosamente introduza-o até o fundo do tubo, onde está depositado o pólen. Após o contato com o material polínico, o cubinho com a gelatina ficará completamente coberto por grãos de pólen. Coloque-o então no centro da lâmina, onde deve ter um círculo feito com parafina histológica.

Aqui será apresentada uma técnica simples, porém muito eficiente, de como fazer o círculo de parafina nas lâminas. A forma mais tradicional é colocar a parafina granulada, ou raspada em pequenos fragmentos no centro da lâmina (Figuras 3A-C). Fazer o círculo dessa forma é difícil, demorado e requer muita habilidade manual. Durante a preparação de lâminas durante o desenvolvimento do meu doutorado, eu sempre me perguntava se não havia uma forma mais rápida e prática para agilizar o processo de colocação da parafina, até que um dia olhei para uma tampa do tubo de ensaio e pensei se daria certo carimbar um círculo de parafina no centro da lâmina. Eis que dessa ideia surgiu um pequeno "carimbo" feito com tampa de tubo do tipo Falcon e parafina derretida (Figuras 3C-J). Com isso, as lâminas podem ser preparadas e guardadas em caixas apropriadas, bem fechadas, para assim usá-las quando necessário. Além de ser mais prático e rápido, com esse método, é possível acertar mais facilmente a quantidade de parafina que irá compor o círculo, sem deixar excesso para limpar posteriormente.

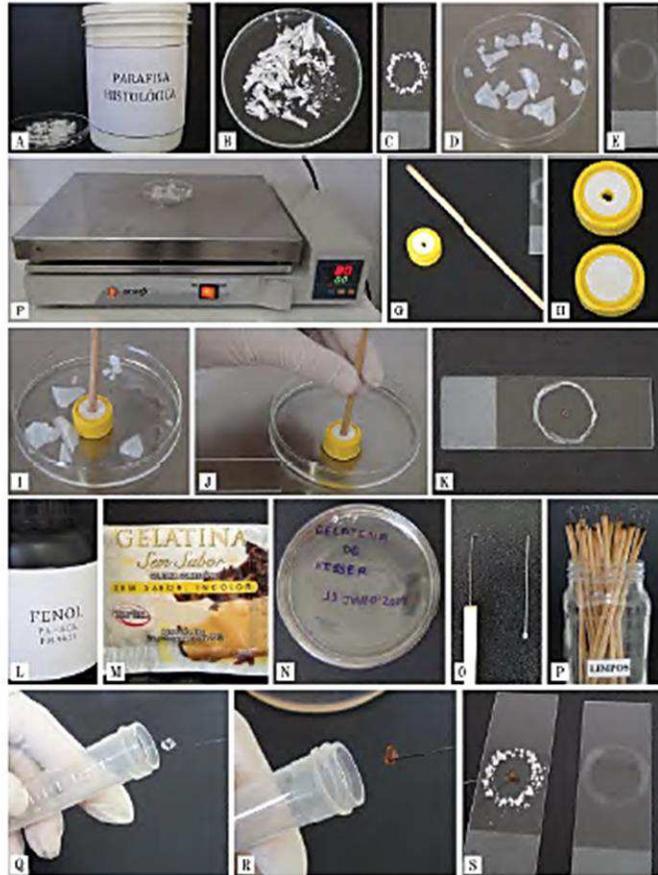


Figura 3- Preparação das lâminas com o material polínico para incorporar na Palinoteca. A: Parafina histológica. B-C: Parafina granulada e lâmina com grânulos de parafina disposta em círculo. D-E: Pedacos de parafina sendo derretidos e lâmina com círculo de parafina derretida. F: Placa aquecedora usada para derreter a parafina e distender o material na lâmina. G-I: Material usado para confeccionar um carimbo para preparação do círculo de parafina na lâmina (palito de bambu e tampa do tubo tipo Falcon). J: Círculo feito com parafina derretida contendo em seu centro um cubo de gelatina com o material polínico. L-M: Material usado para a preparação da gelatina de Kisser (fenol e gelatina incolor). N: Placa de Petri com gelatina de Kisser. O-P: Material usado para preparar os estiletes (palito de bambu e alfinete entomológico). Q-R: Retirada da amostra de pólen do tubo após a acetólise. S: Lâminas preparadas com parafina granulada e parafina derretida.

Depois de feito o círculo com a parafina e colocado no seu interior o cubinho de gelatina contendo o material polínico (Figuras 3O-S), deve ser colocada a laminula sobre o material e posteriormente, a lâmina deve ser colocada em uma placa aquecedora, a uma temperatura de 60°C. É importante que a lâmina não permaneça por muito tempo na placa, para evitar que o material superequeça e os grãos de pólen estoureem ou formem bolhas no material distendido.

Após a preparação das lâminas, essas devem ser limpas, identificadas com etiqueta padrão e acondicionadas em laminários, de preferência na posição horizontal.

O material polínico restante do procedimento de acetólise pode ser armazenado em 2 mL de glicerina 50% em criotubos bem vedados, por tempo indeterminado. Guarde seus criotubos devidamente identificados em caixas plásticas apropriadas e devidamente identificadas.

### Organização de uma Palinoteca

Segundo Silva et al. (2010, 2012), é importante que as Palinotecas estejam vinculadas aos herbários. É fundamental que na etiqueta da exsicata tenha o número da lâmina preparada com os grãos de pólen correspondente ao espécime de planta, como dito anteriormente. Da mesma forma que na etiqueta da lâmina, deve ser apresentado o número de registro da exsicata no Herbário. Assim, caso algum dia seja necessário conhecer as características da planta ou do pólen de uma determinada espécie de planta, as informações estarão mais facilmente acessíveis. A organização, desde a coleta das plantas até a inclusão de uma lâmina na Palinoteca é de responsabilidade do pesquisador que a prepara.

## ANEXO II – GELATINA GLICERINADA DE KEISER

Extraído de “Workshop: Gelatina Glicerínada de Keiser”, de Rafael Alves Ramalho.

Universidade Federal do Ceará  
Grupo de Pesquisas com Abelhas

**WORKSHOP**  
**Gelatina glicerínada de Kaiser**

Facilitador  
**Rafael Alves Ramalho**  
Aluno-pesquisador CNPq/PIBIC-UFC  
rafaelramalho@alu.ufc.br

(Berlim, 1880)

# ORIGEM

A gelatina glicerínada utilizada atualmente fora proposta pelo Dr. Eduard Kaiser, em Berlim, em 1880.

A publicação foi feita na revista *Botanisch Zentralb.*, artigo “*Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine*” (Processo para a preparação de uma gelatina glicerínada impecável), e é amplamente citada até os dias atuais.

Instrumente, Präparirungs- u. Conservirungsmethodes etc.  
Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine.  
Von Dr. Eduard Kaiser.

Die Verfahrn der Glycerin-Gelatine für den Einschluss botanischer Präparate besonders Insectenlarven, kleine Samen auch kleine Insekten. Ferner werden diese angestrichelt und in ihrer Beschaffenheit an gewisse Eigenschaften ganz unverkennbar durch eine Anwendung gelangt, so hat das unentbehrlich seinen Grund in dem Umstande, dass es keine so eine wirklich tadellose und insbesondere an ihrer mikroskopisch reiner Glycerin-Gelatine ist.

Durch ausführliches Verfahren ist es aus dem Verfasser bekannt, dass in jeder Richtung tadellos und ebenfalls wie mikroskopisch reiner Glycerin-Gelatine herzustellen.

Man mischt einen Gewichtstheil reiner deutscher Gelatine in sechs Gewichtstheile destillirten Wassers ca. 2 Stunden lang; setzt die auf 7 Gewichtstheile abgemessenen Glycerin hinzu und rührt auf je 100 Gramm der Mischung 5 Gramm concentrirte Carbollösung. Sodann wird die gesamte Gemisch 10–15 Minuten lang unter beständigem Umrühren erwärmt, bis alle Flocken, welche sich beim Einmischen der Carbollösung gebildet haben, verschwunden sind. Schließlich stellt man die Abkochung nach warm durch feines Gaze, welche man zuvor in destillirten Wasser ausgewaschen und noch warm in den Trichter gelegt hat.

Die auf diese Weise erhaltene Glycerin-Gelatine wird in etlichen

## ORIGEM

Naquela publicação, Dr. Kaiser sugeriu que a fosse diluída uma parte em peso da melhor gelatina francesa em seis partes em peso de água destilada, durante duas horas; adicionar-se-ia, então, sete partes em peso de glicerina quimicamente pura e atribuir-se-ia, a cada 100 gramas da mistura, um grama de ácido carbólico concentrado.

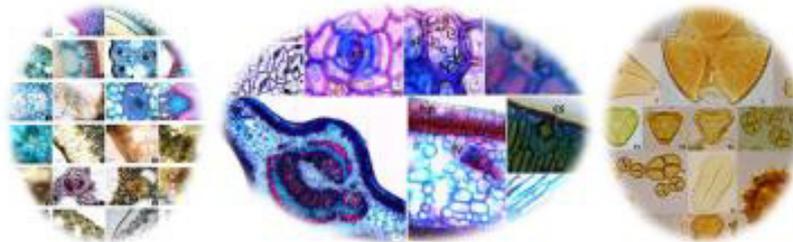
Em seguida, toda a mistura deveria ser aquecida durante 10-15 minutos, com agitação constante, até todos os flocos formados desaparecerem.

Finalmente, a decocção seria filtrada ainda quente em lã de vidro muito fina, a qual teria sido previamente lavada com água destilada e colocada, ainda molhada, no funil.

03

## APLICAÇÃO

A gelatina glicerinada é particularmente notável na inclusão de preparações botânicas. Além disso, é excelente meio de montagem para objetos a serem cortados.



04

## CUIDADOS



**HEALTH HAZARD LABEL** - Indica perigos à saúde.

- »Carcinogênicos
- »Mutagênicos
- »Sensibilizador respiratório
- »Toxicidade por aspiração
- »Toxicidade nos órgãos alvo
- »Toxicidade reprodutiva



**EXCLAMATION MARK LABEL** - Indica riscos à saúde.

- »Efeito narcótico
- »Irritante
- »Irritação do trato respiratório
- »Sensibilizador dérmico
- »Toxicidade aguda (nocivo)

05

# CUIDADOS

Labelling Regulation EC 1272/2008 (CLP)

Hazard pictograms



Signal words

: Warning

Hazard statements

: H341 : Suspected of causing genetic defects.  
 H319 : Causes serious eye irritation.  
 H315 : Causes skin irritation.

Precautionary statements

• General

: P201: Obtain special instructions before use.

• Prevention

: P280: Wear protective gloves, protective clothing, eye protection, face protection.  
 P264: Wash thoroughly after handling.

• Response

: P302+P352: IF ON SKIN, Wash with plenty of soap and water.  
 P308+P313: If exposed or concerned: get medical advice.  
 P332+P313: If skin irritation occurs: Get medical advice.  
 P305+P351+P338: IF IN EYES, Rinse cautiously with water for several minutes.  
 Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.  
 P501: Wash contaminated clothing before reuse.

• Storage

: P405: Store locked up.

• Disposal considerations

: P501: Dispose of this material and its container to hazardous or special waste collection point, in accordance with local, regional, national and/or international regulation.

Contains

: Water - 1,2,3-Propanetriol(glycerin) - GELATIN POWDER - Phenol

06

# CUIDADOS



Proteção obrigatória dos olhos.

Quando?  
**PREPARO** da mistura.



Proteção obrigatória das mãos.

Quando?  
**PREPARO** e **USO** da mistura.



Proteção obrigatória do corpo.

Quando?  
**PREPARO** e **USO** da mistura.



Proteção obrigatória das vias respiratórias.

Quando?  
**PREPARO** da mistura.

07

# PROCEDIMENTOS

## MATERIAIS

### Equipamentos:

Balança de precisão;  
 Bastão de vidro;  
 Becker de vidro (150 mL);  
 Equip. de prot. individual (EPI);  
 Funil de haste curta;  
 Gral ou almofariz com pistolo;  
 Lã de vidro;  
 Pipeta graduada (50 mL); e  
 Placa de aquecimento e agitação.

### Produtos químicos:

Ácido carbólico (Fenol);  
 Água destilada;  
 Gelatina em pó;  
 Glicerina PA;

08

# PROCEDIMENTOS

## MÉTODO

- ✓ Diluir a gelatina em água destilada;
- ✓ Aquecer a mistura a 50 °C, até que não haja precipitados;
- ✓ Adicionar a glicerina e o fenol à mistura;
- ✓ Manter agitação constante, até que todos os cristais formados sejam dissolvidos;

09

# PROCEDIMENTOS

## MÉTODO

- ✓ Lavar a lâ de vidro com água destilada e depositá-la, ainda úmida, no funil;
- ✓ Proceder a filtração com a mistura ainda aquecida;
- ✓ Imediatamente após a filtração, dispor a mistura em recipiente horizontal, de forma que altura da lâmina de gelatina glicerizada não seja superior a 2 mm;

10

# PROCEDIMENTOS

## MÉTODO

- ✓ Deixar a mistura esfriar em temperatura ambiente e protegida de contaminação; e
- ✓ Armazenar o produto vedado e sob resfriamento.



Dica: o fenol poderá ser triturado, antes de ser adicionado à mistura, para obter mais rápida diluição. Entretanto, nesta situação, a pesagem deverá ser feita após a trituração, a fim de reduzir o erro por perda da substância durante o procedimento.

11