

Preparação de coleção didática de zoologia no câmpus São Roque utilizando-se as técnicas de incrustação em resina e de diafanização e coloração de ossos

Preparation of a didactical zoological collection at campus Sao Roque with the use of resin incrustation and diaphanous bone staining techniques

Gilberto Simões⁽¹⁾ ▪ Marcio Pereira⁽²⁾ ▪ Mateus de Fraga Rodarte⁽¹⁾ ▪ Ramon Fernandes Bianchi Campos⁽¹⁾ ▪ Thiago Martins de Carvalho⁽¹⁾ ▪ Guilherme Bastos Gomes⁽¹⁾ ▪ Hellen Cristina Pinheiro dos Santos⁽¹⁾ ▪ Cátia Jacira Martins de Moura⁽³⁾

⁽¹⁾ Estudante de Licenciatura em Ciências Biológicas do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, câmpus São Roque - SP. Correspondência: Rod. Prof. Quintino de Lima, 2.100, Paisagem Colonial, São Roque - SP; e-mail: giba.roque@hotmail.com

⁽²⁾ Professor adjunto do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo, câmpus São Roque - SP.

⁽³⁾ Secretaria de Saúde da Prefeitura Municipal de Batatais - SP.

Recebido em: 10 ago. 2014 ▪ Aceito em: 15 set. 2014 ▪ Publicado em: 05 ago. 2015

Resumo. As coleções zoológicas são depositários de material biológico além de formar excelentes fontes de estudos da diversidade biológica. O objetivo do presente trabalho foi testar materiais e desenvolver técnicas mais eficientes e baratas para realizar a montagem de uma coleção didática zoológica de aracnídeos (aranhas e escorpiões) e insetos usando as técnicas de incrustação dos animais em resina poliéster e preparação de vertebrados por meio do processo de diafanização e coloração de ossos com alizarina. Para o processo de incrustação foi avaliado as quantidades mais adequadas de resina, monômero de estireno e de catalisador a serem usados para aracnídeos e insetos, além do material mais eficiente para a confecção das fôrmas onde o material biológico e a resina serão misturados. Também foram testadas as técnicas de diafanização por KOH a 2% e NaOH a 2% e coloração dos ossos por alizarina a 0,1% e alizarol a 1%. Foi concluído que para cada 20 mL de resina, é necessário adicionar 4 mL de monômero de estireno e mais quatro gotas do catalisador. O plástico foi o material mais eficiente para a confecção das fôrmas, uma vez que não provocou reação química com a resina poliéster e é maleável bastante para facilitar a remoção do bloco de resina sólida após o final do processo de incrustação. A técnica de diafanização com NaOH 2% permitiu uma maior preservação dos tecidos moles se comparado com a feita em solução de KOH 2%. Também foi observado que a coloração com alizarol causou grande deterioração dos tecidos do indivíduo, destruindo o animal. A coloração com alizarina 0,1% apresentou resultados satisfatórios, causando a intensa coloração do esqueleto do espécime e evidenciando a ossificação diferencial através da musculatura transparente. Os resultados obtidos vão orientar a preparação uma coleção didática que irá auxiliar de forma direta nas aulas práticas das disciplinas Invertebrados II e Cordados do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, nas visitas monitoradas ao laboratório de zoologia por alunos da rede pública e como recurso didático para que os licenciandos em biologia possam desenvolver

aulas práticas nas escolas públicas durante seu estágio supervisionado. **Palavras-chave:** Diafanização de tecidos; incrustação em resina; coleção didática; coloração de ossos; IFSP câmpus São Roque.

Abstract. The zoological collections are repositories of biological material besides forming excellent sources for studies of biological diversity. The objective of this study was to test materials and develop more efficient and inexpensive techniques to perform the assembly of a zoological teaching collection of arachnids (spiders and scorpions) and insects using the techniques of animal fouling polyester resin and preparation of vertebrates through process of leaf clearing and staining of bone with alizarin. For the process of scaling the most appropriate amounts of resin, styrene monomer, and catalyst to be used for arachnids and insects has been evaluated in addition to the most efficient material for the manufacture of molds where the biological material and the resin are mixed. Tissue-clearing techniques with 2% KOH and NaOH, and 2% alizarin staining of bone for alizarol 0.1% to 1% were also tested. It was found that for each 20 mL of resin, it is necessary to add 4 mL of styrene monomer and four drops of catalyst. The plastic was the most efficient material for the manufacture of molds, since it did not cause chemical reaction with the polyester resin, which is soft enough to facilitate removal of solid resin block after the end of the fouling process. The tissue-clearing technique with 2% NaOH allowed for greater preservation of the soft tissues compared with the one made in 2% KOH solution. It was also observed that the staining caused widespread deterioration alizarol the subject tissues, destroy animal. Staining with Alizarin 0.1% had satisfactory results, causing the intense staining of the skeleton of the specimen and showing the differential ossification through transparent muscles. The results will guide the preparation of a teaching collection that will assist directly in the practical classes of disciplines Invertebrates and Chordates II's Degree in Biological Sciences, in guided

visits to the zoological laboratory for public school students and as a teaching resource for that undergraduates in biology can develop practical classes in public schools during his supervised training. **Keywords:** Clearing tis-

sue; resin inlay; didactic collection; bone staining; IFSP campus Sao Roque.

1 INTRODUÇÃO

As coleções entomológicas são de grande importância para o aprendizado de alunos tanto do ensino superior quanto do ensino médio e constituem acervos importantes para o entendimento e estudo da biodiversidade. O ensino por meio das coleções pode permitir que os alunos aprimorem a aprendizagem, pois a ilustração dos animais (por meio de imagens) no ensino não consegue demonstrar a realidade que cada espécie possui (MARICATO *et al.*, 2007). Entretanto, em coleções zoológicas convencionais, estruturas corpóreas mais frágeis como antenas, pernas e asas podem ser facilmente danificadas durante manipulação, principalmente durante a realização de aulas práticas ou quando o manipulador do material não toma os cuidados básicos para preservá-lo. Dessa forma, segundo Aurichio e Salomão (2002), esse tipo de acervo deve suportar o manuseio e o transporte, e servem para mostrar semelhanças e diferenças entre grupos de indivíduos e também para prática de atividades como a identificação. Assim uma coleção zoológica científica e didática usando a técnica de incrustação dos animais em resina acrílica possui a vantagem de possibilitar aos alunos o manuseio do material, seu transporte e a observação dos animais em três dimensões sem correr o risco de danificar os espécimes.

Em nível de coleções, seja didática ou científica, a situação é muito adversa, pois o docente acumula a função didática (exercida geralmente com carga horária máxima) e de curadoria e pesquisa, ficando estas prejudicadas em função da primeira, pois a curadoria de coleções zoológicas requer cuidados especiais (MARTINS, 1988). Segundo Napoli (2007), as coleções zoológicas servem de testemunhos da biodiversidade. Entretanto sem a manutenção constante o esforço inicial despendido se torna perdido irremediavelmente, pois a maioria das coleções não apresenta adequadas instalações ou passam por manutenção constante. Tendo em mente os problemas citados acima, a inclusão de animais em resina acrílica reduz a necessidade de cuidados para a conservação dos mesmos.

Também os estudos dos esqueletos de vertebrados requerem preparações específicas no sentido de não danificar os ossos ou desarticulá-los. Dessa forma, as técnicas de diafanização dos tecidos moles e coloração dos ossos possibilitam o estudo das complexidades esqueléticas nos diferentes grupos de vertebrados, mantendo o esqueleto íntegro e preservando a posição original dos ossos.

O objetivo do presente trabalho foi testar materiais e desenvolver técnicas mais eficientes e baratas para realizar a montagem de uma coleção didática zoológica de aracnídeos (aranhas e escorpiões) e insetos usando as técnicas de incrustação dos animais em resina poliéster e preparação de vertebrados por meio do processo de diafanização e coloração de ossos com alizarina. Os resultados obtidos neste primeiro momento vão orientar a preparação uma coleção didática que irá auxiliar de forma direta nas aulas práticas das disciplinas Invertebrados II e Cordados do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, nas visitas monitoradas ao laboratório de zoologia por alunos da rede pública e como recurso didático para que os licenciandos em biologia possam desenvolver aulas práticas nas escolas públicas durante seu estágio supervisionado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Incrustação em resina

O processo de incrustação foi iniciado pelas etapas de coleta e identificação dos indivíduos. Em seguida, ocorreu a preparação do material com extensão das pernas, antenas e asas e a fixação de todas as partes que podem voltar a se fechar. Após a preparação, o espécime foi devidamente seco em estufa para secagem, onde permaneceu durante 24 horas a uma temperatura de 45°C. Na sequência foi iniciado o processo de incrustação em resina. Para cada 20 mL de resina, adiciona-se 4 mL de monômero de estireno e mais quatro gotas do catalisador. Inicialmente foi colocada uma primeira camada

de resina em uma fôrma. Foram testadas fôrmas de silicone e plástico para essa atividade. Essa primeira porção de resina preparada é utilizada para formar a camada basal no molde. Após a secagem da base, o espécime deve receber um banho de resina líquida e posteriormente ser colocado sobre ela, tomando-se o cuidado para que fique na posição desejada. Dessa forma, o animal fixa-se à base após a polimerização, impedindo que o mesmo flutue quando o molde for totalmente preenchido com a resina. Depois, mais uma camada de resina foi posta a fim de cobrir todo o indivíduo. Quando o bloco de resina estava totalmente seco, ele foi retirado da fôrma e depois ocorreu o lixamento e polimento para uma melhor visualização. As lixas que foram usadas foram as seguintes de acordo com a gramatura: 80, 100, 120, 180, 220, 240, 320, 400, 600, 1000 ou 1200. O polimento foi dado com a utilização de massa de polir nº 2 e cera automotiva para dar o acabamento final (Fig. 1).

Finalmente, o material produzido foi acomodado em caixas de madeira produzidas para esta finalidade.



Figura 1. Exemplos de materiais produzidos pelo processo de incrustação em resina.

2.2 Diafanização e coloração de ossos

As técnicas testadas foram as de diafanização por KOH a 2% e NaOH a 2% e coloração dos ossos por alizarina 0,1% e alizarol a 1%. Dois lambaris (*Astyanax* sp) foram fixados em formol por 48 horas. Em seguida, foram eviscerados por meio de incisão abdominal (Fig. 2).



Figura 2. Evisceração do peixe como uma das preparações que antecede o processo de desidratação em série alcoólica.

Depois os indivíduos passaram pelo processo de desidratação em série alcoólica crescente (50% a 100%). Após esta fase, um dos peixes foi colocado em KOH a 2% e o outro em NaOH 2% para diafanização. As soluções de KOH e NaOH 2% foram trocadas a cada 48h no período entre 20 a 30 dias. O indivíduo diafanizado em KOH foi colocado em solução de alizarol 1% (Fig. 3).

O peixe diafanizado em NaOH foi colocado em solução de alizarina 0,1%. Após a coloração, os espécimes foram acondicionados em glicerina para evitar o aparecimento de fungos e outros microrganismos (Fig. 4).



Figura 3. Período final da diafanização e início do processo de coloração com alizarina.



Figura 4. Animal diafanizado e com ossos corados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A escolha dos insetos e dos aracnídeos (aranhas e escorpiões) para iniciar as coleções didáticas foi baseada em algumas características especiais destes dois grupos. Os insetos foram escolhidos devido à sua importância ecológica e por ser o maior grupo animal da Terra nos tempos atuais. As aranhas e escorpiões foram também escolhidos devido à sua importância ecológica e pelo fato de algumas espécies poderem provocar acidentes com seres humanos.

Existem diversas técnicas de preservação de insetos e aracnídeos, dependendo do tamanho, estágio de desenvolvimento e estrutura corporal do organismo. Entretanto com o método de incrustação em resina, pretende-se diminuir o esforço nas coletas para reposição de material, reduzir a necessidade de manutenção constante das coleções e permitir que o estudante não sinta receio em analisar o material por medo de danificá-lo, tornando possível a observação do máximo de caracteres no espécime.

Qualquer artrópode pode ser preservado em resina usando o processo de incrustação, mas algumas espécies necessitam de técnicas complementares para garantir uma boa conservação. Exemplo disso é que a água retida no corpo do inseto evapora e o abdômen começa a murchar, separando-o do molde. Isso é comum em indivíduos maiores, como gafanhotos, mariposas e aranhas grandes. Para que isso não aconteça, a maioria dos grandes insetos deve ser submersa por diversos dias em etanol, que seca a água do inseto antes dele ser incrustado. Esse processo também pode ser usado em coleópteros com élitros com muitas saliências e reentrâncias. Nesses espaços pode ocorrer a retenção de umidade, o que pode gerar a formação de bolhas durante o processo de incrustação.

Em insetos com exoesqueleto mais rígido e liso ocorre a diminuição ou ausência de bolhas na superfície corpórea. Superfícies mais rígidas também são menos sujeitas à contração. Existe uma dificuldade maior em incrustar indivíduos de corpo mais mole como dípteros, lepidópteros e aranhas. Or-

ganismos de ordens como Hemiptera, Hymenoptera, Mantodea, Neuroptera e Odonata também puderam ser incrustados sem grandes problemas. Mesmo indivíduos que há muito tempo já pertenciam a coleções secas, onde só restaram os exoesqueletos, puderam ser preservados. Levando-se em conta essa facilidade, também é possível realizar a incrustação de exúvias. Essas estruturas são de grande importância, pois possibilitam distinguir ordens e algumas famílias de insetos de maneira fácil. Sendo assim a conservação delas se faz necessária e esse método de preservação mostrou-se bastante eficiente na conservação desse tipo de material.

A preservação da cor é um ponto que pode apresentar aspectos positivos e negativos nesta técnica. A cor se manteve mais aparente em insetos de cores vistosas. Em lepidópteros com asas brancas o resultado não foi satisfatório. Nesse caso as asas ficaram completamente transparentes, mudando as características originais da espécie. Entretanto, as nervuras das asas passaram a ficar bem mais visíveis, o que pode facilitar o estudo dessas estruturas.

O plástico foi o material mais eficiente para a confecção das fôrmas, uma vez que não provocou reação química com a resina poliéster e é maleável bastante para facilitar a remoção do bloco.

A diafanização é uma das técnicas mais utilizadas na preparação de esqueletos delicados, na qual a pele é tratada com produtos químicos de tal forma que permita a transparência, tornando visível toda a formação óssea (AURICCHIO; SALOMÃO, 2002). Essa técnica apresenta uma série de vantagens, como, manter o esqueleto íntegro. A alizarina foi o primeiro corante a ser utilizado, tornando-se universal para a coloração óssea, por suas propriedades seletivas (ARAÚJO, 2005).

Foi constatado que a técnica de diafanização com NaOH 2% permite uma maior preservação dos tecidos moles se comparado com a feita em solução de KOH 2%. Também foi observado que a coloração com alizarol causou grande deterioração dos tecidos do indivíduo, destruindo o animal. A coloração com alizarina 0,1% apresentou resultados satisfatórios, causando a intensa coloração do esqueleto do espécime e evidenciando a ossificação diferencial através da musculatura transparente. Os resultados obtidos neste primeiro momento vão orientar a preparação de uma futura coleção didática de vertebrados de pequeno porte que auxiliarão as aulas práticas sobre vertebrados.

A Coleção Didática de Zoologia em resina irá auxiliar de forma direta nas aulas práticas da disciplina Invertebrados II do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, nas visitas monitoradas ao laboratório de zoologia por alunos da rede pública e como recurso didático para que os licenciandos em biologia possam desenvolver aulas práticas nas escolas públicas durante seu estágio supervisionado.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Uma grande vantagem da técnica de incrustação em resina é que as estruturas a serem analisadas continuaram visíveis após o final do processo. Mesmo as estruturas menores, que necessitam do auxílio de estereomicroscópio para serem observadas, continuaram visíveis mesmo após a incrustação.

Além de aumentar o tempo útil do material biológico por torná-lo mais resistente à manipulação por parte dos estudantes, este método permite também que a coleção possa ser transportada para a sala ou laboratório de aulas práticas de forma mais prática, além de reduzir o espaço necessário para armazenamento do material. Dessa forma, o método de preservação de insetos em resina mostrou-se adequado para a utilização em coleções didáticas.

Entretanto, o uso deste método apresenta algumas desvantagens como: custo relativamente elevado do material (resina e catalisador), o tempo gasto para realizar todas as etapas e o cheiro liberado pela resina durante o processo de incrustação. Essas desvantagens não representam grandes problemas, já que a maior durabilidade dos exemplares incrustados permite que não seja necessária a constante reposição de material e dessa forma o custo e tempo despendido não se apresentam como problemas de grande significância devido ao seu custo/benefício.

As técnicas de diafanização e coloração dos ossos com alizarina apresentam bons resultados com pequenos vertebrados, podendo ser observada claramente a ossificação diferencial através da

musculatura transparente e a intensa coloração dos ossos em todos os espécimes. Com os resultados alcançados foi possível destacar a importância deste estudo quando comparados com técnicas que utilizam o descarte ou dissecação, que possui um alto grau de dificuldade para observação do esqueleto dos vertebrados.

5 REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, M. E. Corantes naturais para têxteis da antiguidade aos tempos modernos. Texto de apoio ao Curso de Mestrado em Química Aplicada ao Patrimônio Cultural. **DQB, FCUL**, 2005.
- AURICCHIO P.; SALOMÃO M. G. **Técnicas de coleta e preparação de vertebrados**. São Paulo: PARM, 2002.
- MARICATO, H. S.; OLIVEIRA, W. D. de; BORGES, M. F. e DINIZ, J. L. M. A utilização da prática em zoologia através de coleções didáticas: Um recurso para construção dos conhecimentos dos alunos no ensino médio do município de Jataí – Goiás. **Anais. XXIII Congresso de Educação do Sudoeste Goiânia**, 2007.
- MARTINS, U. R. Museus universitários, **Rev. Bras. Zool.**, Vol. 5, nº 4, Curitiba, 1988.
- NAPOLI, M. F. **Coleções Zoológicas: Panorama e desafios para a UFBA**, Bahia, 2007. Disponível em: <http://www.amphibia.ufba.br/Arquivos_diversos/Minicurso_Caetit%C3%A9_Aula_01_MFNapoli_2009.pdf>. Acesso em: 29 ago. 2014.

Como citar este relato de experiência

SIMÕES, G.; PEREIRA, M.; RODARTE, M. de F.; CAMPOS, R. F. B.; CARVALHO, T. M. de; GOMES, G. B.; SANTOS, H. C. P. dos; MOURA, C. J. M. de. Preparação de coleção didática de zoologia no câmpus São Roque utilizando-se as técnicas de incrustação em resina e de diafanização e coloração de ossos. **Scientia Vitae**, v. 3, n. 9, ano 3, jul-ago. 2015, p. 10-15. Disponível em: <http://www.revistafpsr.com/v3n9_jul2015.htm>; acesso em: __/__/__.