

Manual de procedimentos de conservação, armazenamento e montagem de insetos*

Alessandra Carneiro - alecarneiro-bio@uol.com.br

Carlos Eduardo Beserra Nobre – cebnobre@gmail.com

Rafael Vieira Nunes – rafavnunes@gmail.com

Vera Uhde – v_uhde@hotmail.com

*Este manual tem objetivo didático no âmbito das instalações do Centro de Manejo de Fauna da Caatinga – CEMAFUNA, pertencente a Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF, campus de Ciências Agrárias, Petrolina, Pernambuco. Este manual não tem o objetivo de ser uma publicação científica de ampla divulgação. Reprodução do material apenas mediante permissão dos autores.

Sumário

Crédito das Figuras.....	1
Introdução e objetivos	2
Parte um – conservação de insetos após coleta	3
b) Ordem Lepidoptera e Odonata	4
c) Insetos aquáticos, ninfas, larvas e outros	6
d) Criação de ninfas em laboratório.....	7
Parte dois – montagem e armazenamento definitivo	8
Parte três – confecção de etiquetas e identificação	14
Referências Bibliográficas	16

Crédito das Figuras

Figura 1 A. Prof. Neilton Marques, Universidade Federal do Amazonas

Figura 1 B. Prof. Luciano Pacelli Medeiros de Macedo,

Figura 2. <http://www.defayette.com/how.html>

Figura 3. Almeida *et al.* 1998 (consultar referências)

Figura 4. Carvalho, 2007 (consultar referências)

Figura 5. Mike O'Brien (<http://michodo.blogspot.com.br/>)

Figura 6. Vernon Evans

Figura 7. Vernon Evans

Figura 8. Almeida *et al.* 1998

Figura 9. Almeida *et al.* 1998

Figura 10. Almeida *et al.* 1998

Figura 11. Almeida *et al.* 1998

Figura 12. Rafael Vieira Nunes

Figura 13. Rafael Vieira Nunes

Introdução e objetivos

Os insetos estão inseridos no filo Arthropoda, subfilo Hexapoda, classe Insecta e representam o grupo de animais mais diverso, contendo cerca de um milhão de espécies descritas e com estimativas de que existam de 5 a 10 milhões de espécies (Brusca & Brusca, 2003; Grimaldi & Engel, 2005). Tão diverso quanto o número de espécies são os hábitos dos insetos, que podem ser encontrados na maioria dos ambientes terrestres e aquáticos contendo grande variedade de formas e comportamentos.

Devido a essas e outras características, como a facilidade de coleta, alguns grupos de Insetos e suas respectivas comunidades biológicas vêm sendo constantemente utilizados como indicadores de mudanças ambientais em diversos empreendimentos e monitoramentos (McGeoch, 1997). O uso cada vez mais frequente desse tipo de informação gera uma grande demanda de coleta, armazenamento e conservação desses exemplares. Por sua vez, esses exemplares devem ser devidamente armazenados sendo que essa demanda é responsabilidade de uma coleção entomológica e suas respectivas instalações.

Todas as coleções zoológicas e, mais especificamente, entomológicas apresentam grande demanda de processamento de dados. Por exemplo, um levantamento de insetos, utilizando diferentes métodos de coleta, realizado na Caatinga Paraibana durante dois anos, coletou quase 60 mil insetos de mais de 20 ordens (Vasconcellos *et al.*, 2010). Como este material deve ser armazenado? Como ele deve ser montado? Como ele deve ser identificado? Esse manual tem a proposta de responder de forma rápida, parte dessas perguntas.

Portanto, os principais objetivos deste manual são: 1) fornecer noções básicas sobre conservação e armazenamento provisório de insetos após coletas; 2)

demonstrar os passos básicos de criação, montagem e armazenamento definitivo de insetos e 3) fornecer noções básicas de identificação e confecção de etiquetas.

Parte um – conservação de insetos após coleta

Após a coleta de qualquer inseto, o primeiro procedimento é identificar o meio adequado de matar e armazenar provisoriamente o exemplar coletado. Os variados grupos taxonômicos de insetos apresentam morfologia e fisiologia diferentes, portanto os métodos de conservação após a coleta irão variar para: A) insetos terrestres, B) insetos da ordem Lepidoptera (borboletas e mariposas) e ordem Odonata (libélulas) e C) insetos aquáticos, ninfas e larvas. Um resumo dos métodos básicos de armazenamento e conservação de insetos após coleta está na **Tabela 1**.

a) Insetos terrestres

Quando possível, utilizar a câmara mortífera (**Figura 1A**). A câmara mortífera é constituída de um recipiente de vidro cujo fundo é preenchido por algodão embebido em substância tóxica para o inseto (acetato, acetona, éter ou álcool). Acima do algodão existe uma placa de papelão, que impede o inseto de ter contato direto com a substância. Algumas câmaras mortíferas contêm um chumaço de algodão embebido em substância tóxica e o seu interior é preenchido de papel picado (**Figura 1B**). Lembre-se de indicar a localidade e os dados de coleta na câmara.

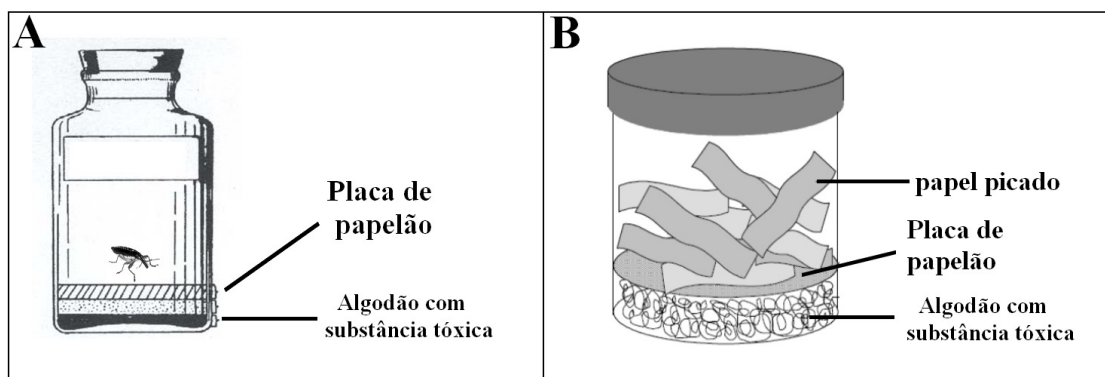


Figura 1. (A) Modelo de câmara mortífera sem papel picado. **(B)** Modelo de câmara mortífera com papel picado.

b) Ordem Lepidoptera e Odonata

Para borboletas e mariposas, é extremamente importante que se conservem as asas, para isso, o inseto não pode ser colocado em qualquer recipiente ainda vivo. Para matar este tipo de inseto, pressione seu tórax até que seus movimentos cessem **(Figura 2A)**. Havendo dificuldade na aplicação da compressão torácica, especialmente em lepidópteros muito pequenos, o sacrifício pode ser feito em câmara mortífera exclusiva (não usar acetato de etila, pois a musculatura enrijece). Após a morte do animal, deve-se transferi-lo para envelope. Para armazenar, posicione a borboleta, com as asas fechadas (para cima do tórax) em um envelope triangular de papel vegetal **(Figura 2B)**. É essencial que esse procedimento seja feito com cautela, pois as asas de Lepidoptera, além de serem frágeis, contêm escamas que conferem caracteres de brilho e coloração. Esses caracteres são essenciais em sua identificação. Lembre-se de indicar a localidade e os dados de coleta no envelope. Qualquer manipulação deve ser feita usando-se pinça sem dentes.

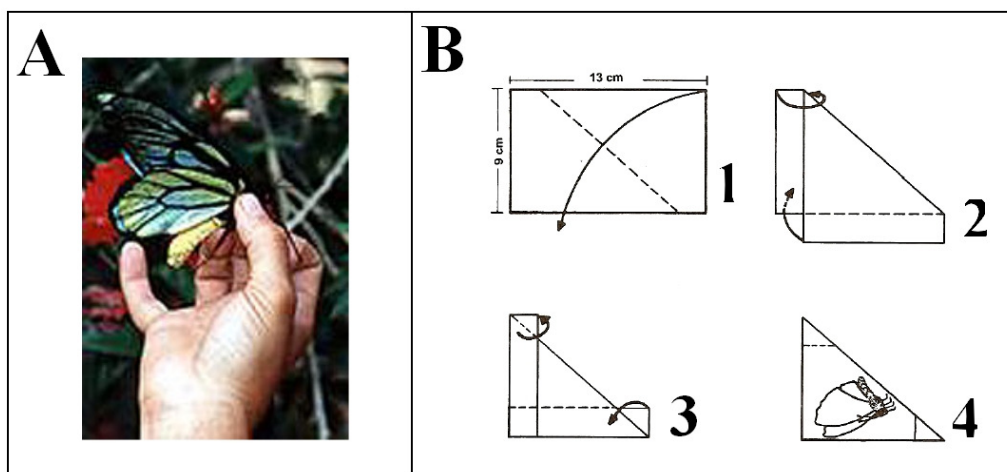


Figura 2. (A) Movimento de pressão do tórax para matar um Lepidoptera. **(B)** Esquema de confecção de um envelope para armazenamento de Lepidoptera e Odonata.

Para armazenar libélulas e helicópteros (ordem Odonata), também se utiliza um envelope triangular de papel vegetal (**Figura 2A e Figura 3**). A diferença é que o inseto é colocado no envelope ainda vivo e aí permanece durante algumas horas, para expelir fezes. Para sacrifício, deve-se mergulhar o inseto em acetona pura no interior de câmara hermética (p.ex. depósito plástico para comida. Deve permanecer aí por 48-72 horas, para fixação da coloração. Após esse período, posicioná-lo em cima de papel absorvente em ambiente seco e ventilado por 2 – 3 horas e então armazená-lo em envelope. e posteriormente é armazenado em uma câmara ou caixa contendo acetona. Lembre-se de indicar a localidade e os dados de coleta no envelope.



Figura 3. Envelopes triangulares de papel contendo insetos da ordem Odonata.

As ordens de insetos que devem ser mortas e armazenadas em álcool são: Ephemeroptera, Dytioptera (exceto adultos da sub-ordem Blattidae), Pscocoptera, Phtiraptera, Thysanoptera, Siphonaptera e alguns Hemiptera (subordem Sternorrhyncha principalmente).

c) Insetos aquáticos, ninfas, larvas e outros

Para algumas ordens de insetos aquáticos, larvas e a maioria das ninfas de insetos terrestres, os exemplares podem ser armazenados em potes contendo Álcool 70gl, 80gl ou 90 gl (70% a 95% ou outros líquidos preservativos). A forma do corpo e as cores dificilmente serão mantidas, dessa forma, é recomendado fotografar as larvas antes de fixa-las. O material do pote é de livre escolha. É recomendável, para armazenamento provisório, utilizar potes plásticos evitando possíveis quebras no transporte. Entretanto, fique atento para verificar a vedação do pote, evitando assim que o álcool vazze.

Existem várias outras formas de se armazenar insetos e outros invertebrados após coletas. Entretanto, esses procedimentos básicos garantem uma boa conservação para a maioria dos insetos. Os procedimentos para aracnídeos, outros invertebrados

(por exemplo, moluscos e crustáceos) são diferentes e requerem consulta à literatura científica antes de serem executados.

Tabela 1. Resumo dos métodos utilizados no armazenamento provisório e conservação de ordens de inseto após coleta em campo.

Tipo de inseto	Como matar	Como armazenar após a coleta
Adultos terrestres (Coleoptera, Hemiptera, Hymenoptera entre outros)	Câmara mortífera contendo acetato, éter ou álcool.	Própria câmara mortífera ou em potes com álcool ou algodão embebido em álcool
Lepidoptera	Pressionando o tórax	Envelope de papel vegetal
Odonata	Mergulho em acetona	Envelope de papel vegetal
Ninfas e larvas	Álcool 80 gl	Potes com álcool 80 gl
Insetos aquáticos	Álcool 80 gl	Potes com álcool 80 gl

d) Criação de ninfas em laboratório

Para algumas ordens o refinamento taxonômico só é possível a partir do inseto adulto (ex. Odonata). Assim recomenda-se a criação em laboratório das amostras aquáticas que são coletadas em forma de ninfas e larvas. Cada indivíduo deve ser armazenado em um pequeno saco plástico (**Figura 4A**) contendo água do local de coleta. Junto coloca-se um pouco do substrato onde o inseto foi encontrado (ex. folhíço, macrófita, areia). Cada recipiente deve ser etiquetado com as informações do local da coleta. No laboratório todo material é transferido para pequenas caixas de vidro ou isopor coberto com tela de nylon (**Figura 4B**). Uma lâmina de água de cerca de três centímetros de altura deverá ser colocada nas caixas ou recipientes cilíndricos de isopor, conforme o tamanho e o estágio do exemplar.

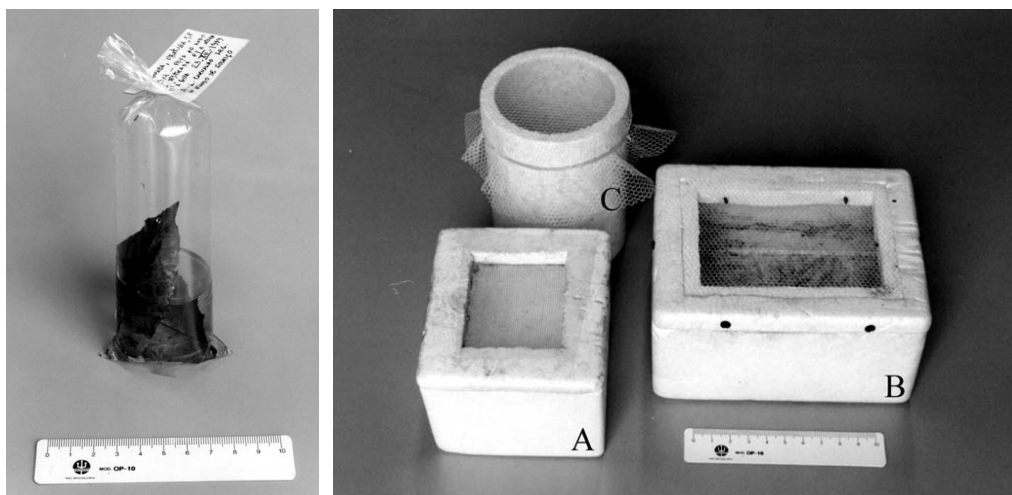


Figura 4. **(A)** Pequeno saco plástico para transporte das larvas até o laboratório. **(B)** Caixas de isopor que podem ser utilizadas para o desenvolvimento dos insetos em laboratório.

Esses recipientes devem ser mantidos preferencialmente sob iluminação natural, à sombra, e temperatura ambiente entre 18° e 30°C, dependendo da área em que foram coletados. A alimentação deve ser fornecida em abundância e os recipientes devem ser conservados limpos. As condições do laboratório devem se assemelhar ao máximo as condições naturais.

Parte dois – montagem e armazenamento definitivo

Após a coleta e devido armazenamento provisório, a fase de montagem e armazenamento definitiva dos insetos pode começar. Observe que insetos comentados na seção 1c (*Insetos aquáticos, ninfas, larvas e outros*) devem ser armazenados definitivamente em potes com álcool 80%. A sua montagem em alfinete não é recomendada. Para libélulas (ordem Odonata), é recomendado deixar o inseto em envelope plástico.

Para a montagem definitiva de borboletas (ordem Lepidoptera) é utilizado o esticador, instrumento de madeira e cortiça (**Figura 5**). Para montar uma borboleta ou mariposa, ponha o inseto em uma câmara úmida para que suas estruturas não fiquem quebradiças. Utilizando o esticador, abra as asas e posicione os apêndices com uma

pinça delicada (**Figura 6**). Com uma tira de papel vegetal e alfinetes, prenda as asas, mas se lembre de nunca as alfinetar diretamente, alfinete apenas o papel vegetal que as prendem (**Figura 6**).

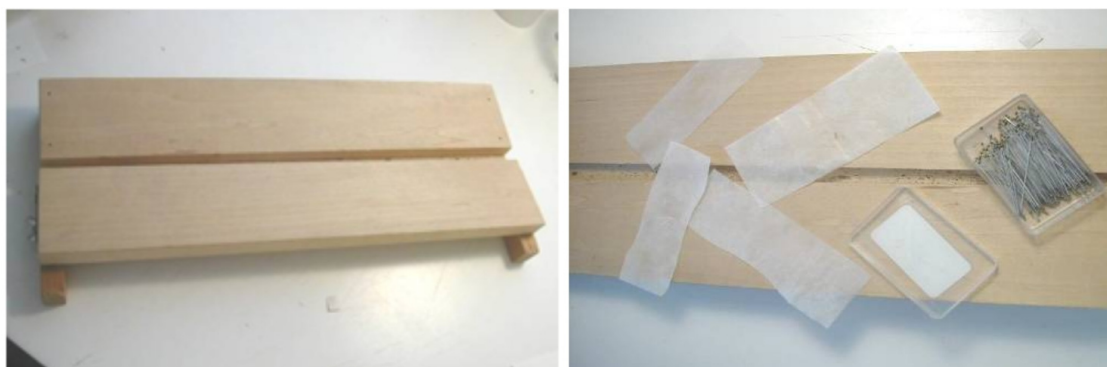


Figura 5. Exemplos de esticadores próprios para a montagem de Lepidoptera.

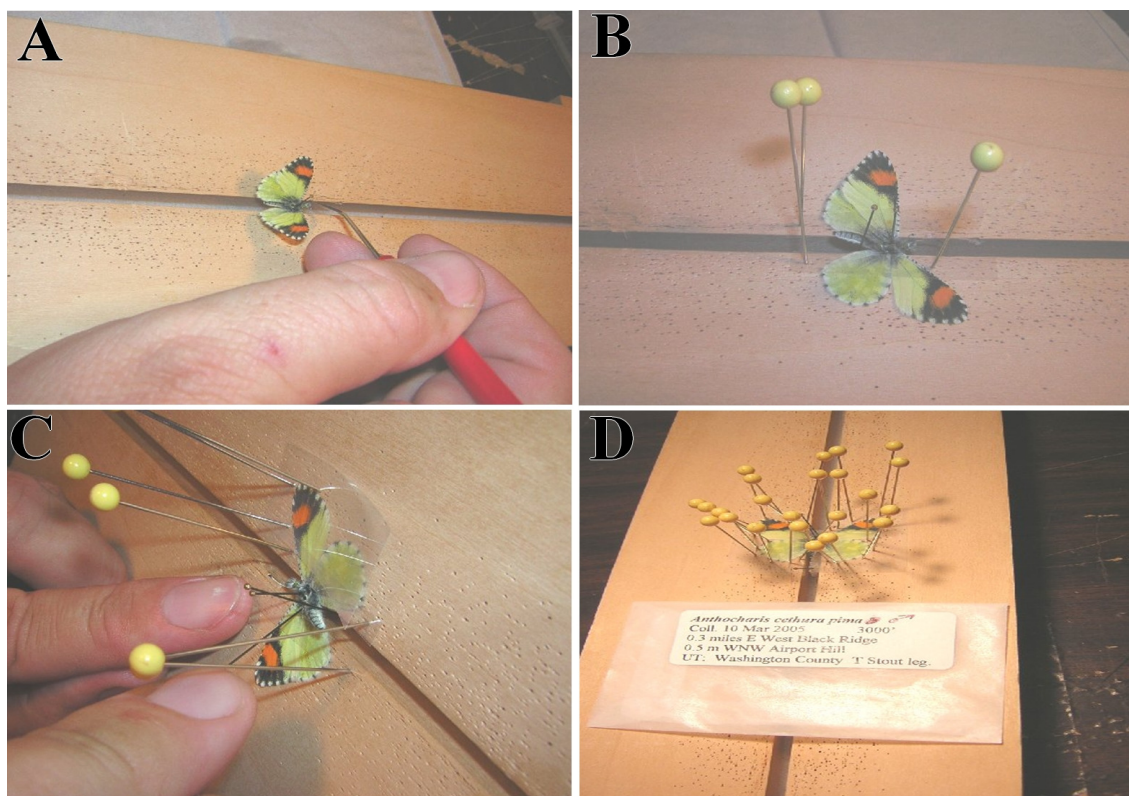


Figura 6. Alguns passos na montagem de uma borboleta. **(A)** Posicionamento dos apêndices com uma pinça delicada. **(B)** Posicionamento das asas utilizando tiras de papel vegetal para apará-las. **(C)** Posicionamento das asas e apêndices utilizando alfinetes niquelados. **(D)** exemplo de uma borboleta bem montada.

Para outros insetos, a montagem deve ser feita em uma placa de isopor de tamanho adequado para a quantidade e tamanho de exemplares a serem montados. Antes que os insetos sejam alfinetados, certifique-se de que todas as pernas foram devidamente articuladas, sendo possível a organização posterior de cada uma durante a montagem, faça isso com cuidado para que não quebre nenhuma parte do exemplar. Utilizando alfinetes entomológicos específicos, os insetos medindo a partir de um centímetro devem ser alfinetados na posição sugerida pela **Figura 7**. A ponta do alfinete atravessará o exemplar e sairá em sua porção ventral. O alfinete deve estar reto (perpendicular ao eixo do exemplar) e o inseto deve ser posicionado a aproximadamente um centímetro da cabeça do alfinete (**Figura 8**). Em poucos casos é possível alfinetar diretamente um inseto menor do que um centímetro, no caso de dúvida, consulte um colega mais experiente. A etiqueta deve vir sempre embaixo do exemplar, de modo a proteger o próprio em caso de choque (**Figura 9**). Sempre deixe a etiqueta de localidade visível. Anexos, como a genitália, pernas quebradas e outros devem ser colados em um triângulo de papel logo abaixo do inseto, antes da etiqueta de localidade. Caso a genitália seja armazenada em um microtubo com glicerina, esse microtubo pode vir abaixo da etiqueta (**Figura 10**). Em caso de quebra de apêndices, duas medidas podem ser tomadas: 1) colar o apêndice utilizando cola escolar comum, (de preferência com data de validade vencida, pois a cola fica mais viscosa) e 2) colar o apêndice, também utilizando cola escolar comum em um triângulo de papel a ser alfinetado abaixo do exemplar, antes das etiquetas.

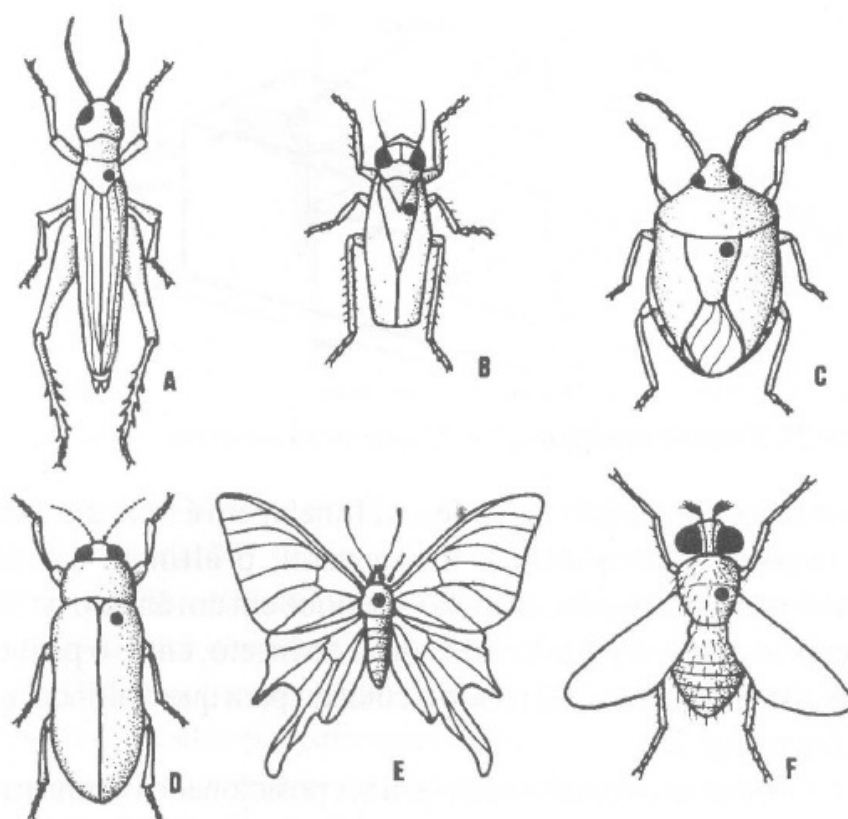


Figura 7. Posição correta de entrada do alfinete (indicada pelo ponto preto) em diferentes ordens: **(A)** Orthoptera, **(B)** Hymenoptera, **(C)** Hemiptera, **(D)** Coleoptera, **(E)** Lepidoptera e **(F)** Diptera.

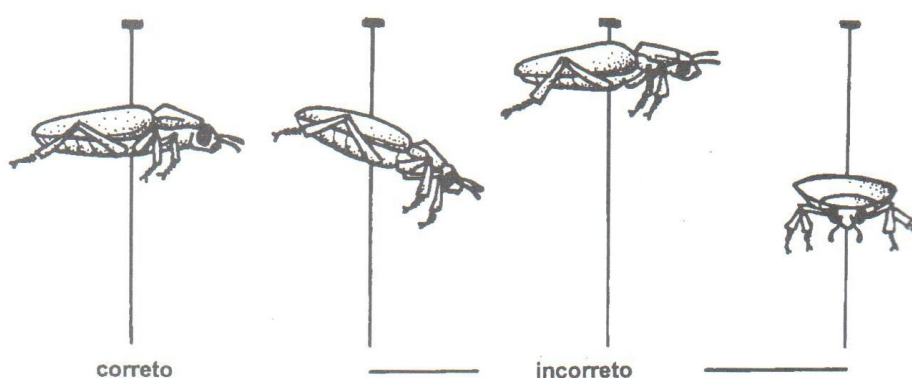


Figura 8. Posição adequada de um inseto em alfinete entomológico.

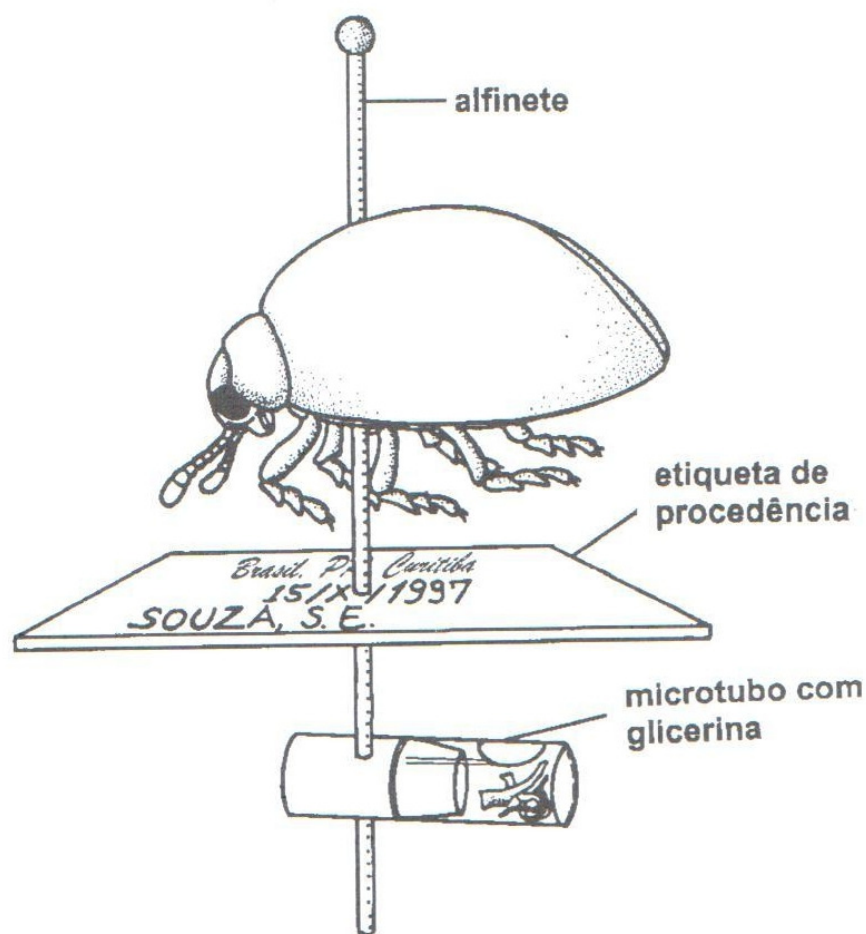


Figura 9. Esquema geral de montagem de um inseto, evidenciando a posição da etiqueta em relação ao exemplar.

Existem tamanhos diferentes de alfinetes para diferentes tamanhos de insetos, antes de alfinetar os primeiros exemplares, consulte um colega mais experiente para orientá-lo quanto aos tamanhos adequados a cada bicho. Após alfinetar o inseto, verifique se existe a necessidade de usar alfinetes niquelados (de costura) para recolher as pernas e, quando necessário, as antenas (**Figura 10**). Um ponto muito importante é que as pernas e antenas devem ser recolhidas de modo a evitar quebra desses anexos na manipulação posterior dos exemplares. Apesar da montagem com pernas não recolhidas ser considerada “mais bonita” por alguns colecionadores, ela aumenta em muito a chance de quebra de um exemplar além de desperdiçar espaço em gavetas.

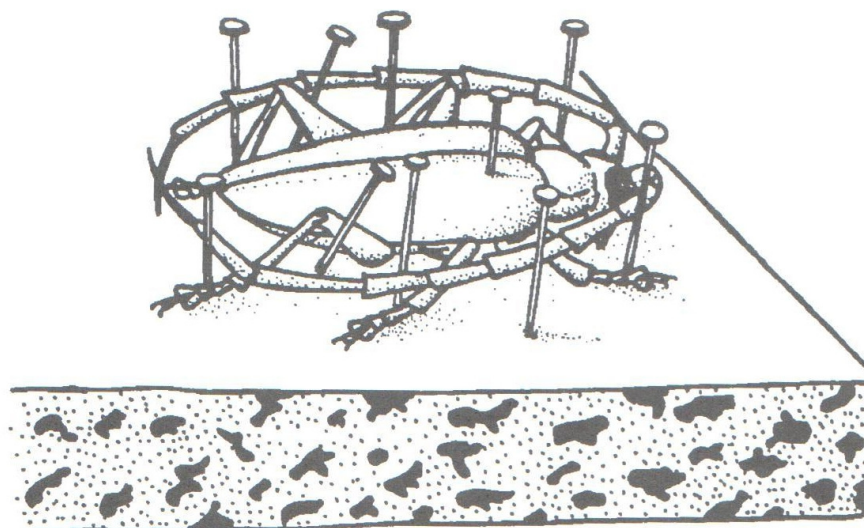


Figura 10. Anexos (pernas e antenas) de um inseto aparados por alfinetes niquelados

Insetos extremamente pequenos (10 milímetros ou menos) devem ser montados em triângulos, feitos com papel cartonado ou papel algodão (**Figura 10**). Após furar o triângulo, sempre com alfinete entomológico número 2, deve se dobrar sua ponta e colocar uma **pequena** quantidade de cola escolar. A ponta do triângulo dobrado **sempre** irá ser colada na **lateral direita** do inseto, entre as pernas médias e posteriores (**Figura 11**). A altura do triângulo no alfinete deve ser a mesma dos exemplares alfinetados diretamente. Uma dica é deixar um pouco a cola secar para conferir mais consistência no processo de montagem. Use uma quantidade pequena de cola de modo que a visualização das estruturas não fique prejudicada (**Figura 10**).

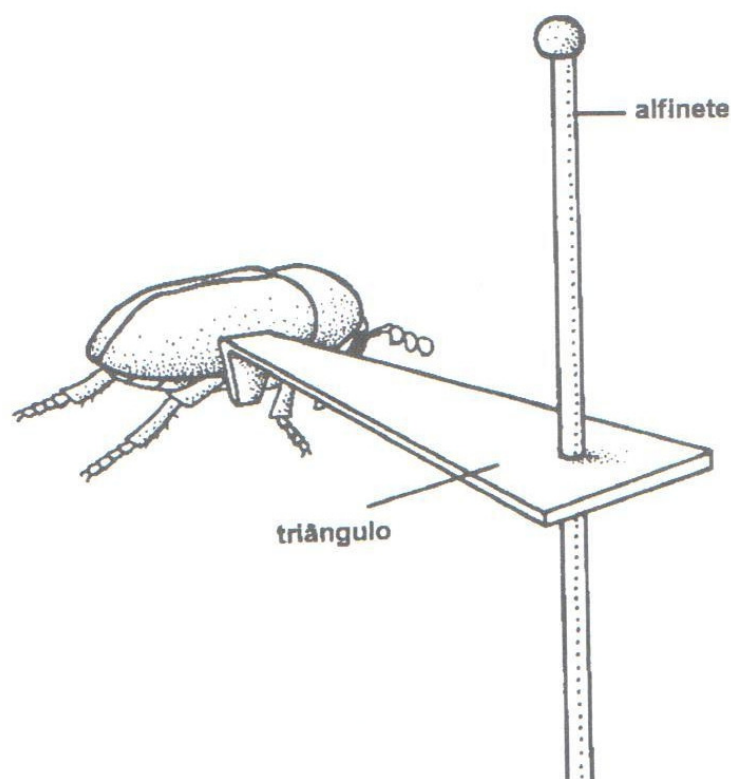


Figura 11. Esquema de montagem em triângulo.

A placa de isopor com os insetos montados deve ir à estufa que deve ter temperatura de até 50°C. Os insetos podem ser tirados da estufa quando estiverem completamente secos, entre 24 e 72 horas a depender do tamanho do exemplar. Quando os insetos forem retirados da estufa, deve-se esperar cerca de 3 minutos de descanso antes que os alfinetes niquelados sejam removidos para evitar quebra de apêndices. Os animais devem ser etiquetados corretamente seguindo as orientações a seguir.

Parte três – confecção de etiquetas e identificação

Tão importante quanto ter exemplares bem montados em uma coleção é saber sua proveniência exata. A proveniência do exemplar é útil em trabalhos de taxonomia, biogeografia e ecologia além de ser essencial na própria identificação da espécie.

Não existe padrão definido para a confecção de uma etiqueta, entretanto é desejável que ela tenha cerca de dois centímetros de largura por um centímetro de altura (**Figura 12**). A etiqueta **deve** conter os seguintes dados: **País, Estado, Município, Localidade. Coordenadas Geográficas. Método de Coleta. Data da Coleta. Nome dos Coletores (Figura 12)**. Informações como códigos de campo, número de banco de dados em uma coleção e informações ecológicas podem ser colocadas na própria etiqueta de localidade ou em etiquetas abaixo da etiqueta principal (de localidade) ou da etiqueta de identificação, se for o caso. Não use abreviações para nomes de Países, estados e municípios e evite-as para outros parâmetros da etiqueta. A etiqueta de identificação deve vir logo abaixo da etiqueta de localidade e contém as seguintes informações (**Figura 13**): *Gênero espécie* Autor, ano. Nome do determinador, ano (det.). O material utilizado para confeccionar a etiqueta pode ser feito de papel cartonado, papel sulfite comum ou papel de algodão. Para os insetos que são armazenados diretamente em meio líquido, devem-se confeccionar etiquetas em papel vegetal, escritas a lápis ou a caneta nanquim, para que ela possa ser armazenada dentro do frasco. É importante que além da etiqueta interna, exista alguma numeração externa no frasco, para identificação da amostra, caso a etiqueta de papel vegetal seja danificada.

iros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	É
nas	Parque Nacional Emas	Parque Nacional Emas	Parque Nacional Emas	F
2"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	1
011	871mosl.Parc1.III.2011	871mosl.Parc1.III.2011	871mosl.Parc1.III.2011	8
	hum faec.MFSouza	hum faec.MFSouza	hum faec.MFSouza	h
iros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	É
nas	Parque Nacional Emas	Parque Nacional Emas	Parque Nacional Emas	F
2"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	1
011	871mosl.Parc1.III.2011	871mosl.Parc1.III.2011	871mosl.Parc1.III.2011	8
	hum faec.MFSouza	hum faec.MFSouza	hum faec.MFSouza	h
iros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	É
nas	Parque Nacional Emas	Parque Nacional Emas	Parque Nacional Emas	F
2"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	17°55'50"S; 53°0'32"W	1
011	871mosl.Parc1.III.2011	871mosl.Parc1.III.2011	871mosl.Parc1.III.2011	8
	light trap.MFSouza	light trap.MFSouza	light trap.MFSouza	li
iros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	BRASIL:Goiás,Mineiros	É

Figura 12. Exemplo de uma etiqueta de localidade.

	Acrocinus longimanus (Linnaeus, 1758). R.V.Nunes, 2012 (det.)	
Goiás, Mineiros	BRASIL: Goiás, Mineiros	BRASIL: Goiás

Figura 13. Exemplo de uma etiqueta de identificação.

A identificação de insetos dar-se-á principalmente por utilização de chaves taxonômicas. Para identificação em nível de ordem e de algumas famílias recomendamos, Borror & DeLong (1988), Brusca & Brusca (2007), Costa-Lima (2012) e Rafael *et al.* (2012). Para identificação de níveis taxonômicos mais refinados (Famílias, subfamílias, tribos, gêneros, subgêneros, espécies e subespécies), a literatura é bastante vasta. Um bom caminho é fazer uma busca inicial na literatura recomendada anteriormente. Evite a identificação por comparação de fotos encontradas na Internet. Caso você se considera apto a realizar uma identificação por comparação de fotografia ou exemplares, sempre utilize fotografias de guias (que incluem a região onde o inseto foi coletado) ou consulte exemplares de museus e coleções devidamente etiquetados.

Referências Bibliográficas

- Almeida, L.M.; Ribeiro-Costa, C.S.; Marinoni, L. 1998. *Manual de Coleta, Conservação, Montagem e Identificação de Insetos*. Ribeirão Preto: Holos. 78 p.
- Borror, D.J.; DeLong, D.M. 1988. *Introdução ao estudo dos insetos*. São Paulo: Editora Edgard. 654 p.
- Brusca, R.C.; Brusca, G.J. 2003. *Invertebrados*. 2ª Ed. Sunderland: Sinauer Associates. 966 p.
- Carvalho, A.L. 2007. Recomendações para a coleta, criação e colecionamento de larvas de Odonata. *Arquivos do Museu Nacional*, 65(1): 3-15.
- Costa-Lima, A. 2012. *Coletânea Insetos do Brasil*. Disponível em: <<http://www.acervodigital.ufrj.br/insetos/insetos.htm>>. Último acesso em 19 de Abril de 2012.

Grimaldi, D.; Engel, M.S. 2005. *Evolution of the insects*. Cambridge: University Press. 755 p.

McGeoch, M. 1997. Insects and Bioindication: Theory and Progress. In: Stewart, A.J.A.; New, T.R.; Lewis, O.T. (orgs.). *Insect Conservation Biology*. Cambridge: University Press. Pp. 144-174.

Rafael, J.A.; Melo, G.A.R.; Carvalho, C.J.B.; Casari, S.A.; Constantino, R. 2012. *Insetos do Brasil*. Diversidade e Taxonomia. 1ª Ed. Ribeirão Preto: Holos. 810 p.

Vasconcellos, A.; Andreazze, R.; Almeida, A.M.; Araújo, H.F.P.; Oliveira, E.S.; Oliveira, U. 2010. Seasonality of insects in the semi-arid Caatinga of the northeastern Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 54(3): 471-476.