

Normas Gerais do Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT)



República Federativa do Brasil

Luiz Inácio Lula da Silva

Presidente

Ministério da Agricultura e do Abastecimento

Roberto Rodrigues

Ministro

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

Conselho de Administração

José Amauri Dimárzio

Presidente

Clayton Campanbola

Vice-Presidente

Alexandre Kalil Pires

Ernesto Paterniani

Hélio Tollini

Luís Fernando Rigato Vasconcellos

Membros

Diretoria Executiva da Embrapa

Clayton Campanbola

Diretor-Presidente

Gustavo Kauark Chianca

Herbert Cavalcante de Lima

Mariza Marilena T. Luz Barbosa

Diretores

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Mario Augusto Pinto da Cunha

Chefe-Geral

Ignaci Cardoso Matos

Chefe-Adjunto de Administração

Jorge Luiz Loyola Dantas

Chefe-Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Walter dos Santos Soares Filho

Chefe-Adjunto de Comunicação, Negócios e Apoio



ISSN 1808-0707

Abril, 2004

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Documentos 133

Normas Gerais do Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT)

Antônio da Silva Souza
Adilson Kenji Kobayashi
Fernanda Vidigal Duarte Souza
Janay Almeida dos Santos-Serejo
Tatiana Góes Junghans

Cruz das Almas, Bahia
2004

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Mandioca e Fruticultura

Rua Embrapa, s/nº

Caixa Postal 007

CEP 44380-000, Cruz das Almas, Bahia

Fone: (75) 621-8000

Fax: (75) 621-8097

Homepage: <http://www.cnpmf.embrapa.br>

E-mail: sac@cnpmf.embrapa.br

Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: *Jorge Luiz Loyola Dantas*

Vice-Presidente: *Antonio Souza do Nascimento*

Secretária: *Cristina Maria Barbosa Cavalcante Bezerra Lima*

Membros: *Adilson Kenji Kobayashi*

Antonia Fonseca de Jesus Magalhães

Antonio Alberto Rocha Oliveira

Carlos Alberto da Silva Ledo

Davi Theodoro Junghans

Maria das Graças Carneiro de Sena

Supervisor editorial: *Jorge Luiz Loyola Dantas*

Revisor de texto: *Jorge Luiz Loyola Dantas*

Normalização bibliográfica: *Sônia Maria Sobral Cordeiro*

Foto da Capa: *Taliane Leila Soares*

Editoração eletrônica: *Saulus Santos da Silva*

1ª edição

1ª impressão (2004): 10 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Normas Gerais do Laboratório de cultura de tecidos [recurso eletrônico] : (LCT) / Antônio da Silva Souza... [et al]. - Dados eletrônicos. - Cruz das Almas : Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004.
1 CD ROM; 4¾ pol. - (Documentos, ISSN 1808-0707; nº 133).

Sistema requerido Adobe Acrobat Reader.

Editado originalmente no formato impresso.

1. Cultura de Tecidos - Laboratórios. I. Souza, Antônio da Silva.

II. Kobayashi, Adilson Kenji. III. Souza, Fernanda Vidigal Duarte.

IV. Santos-Serejo, Janay Almeida dos. V. Junghans, Tatiana Góes.

VI. Série.

CDD 581.0724 (21. ed.)

© Embrapa 2004

Autores

Antônio da Silva Souza

Eng° Agr°, DSc., *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Rua Embrapa, s/n, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, assouza@cnpmf.embrapa.br

Adilson Kenji Kobayashi

Eng° Agr°, PhD., *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Rua Embrapa, s/n, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, adilson@cnpmf.embrapa.br

Fernanda Vidigal Duarte Souza

Engª Agrª, PhD., *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Rua Embrapa, s/n, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, fernanda@cnpmf.embrapa.br

Janay Almeida dos Santos-Serejo

Engª Agrª, PhD., *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Rua Embrapa, s/n, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, janay@cnpmf.embrapa.br

Tatiana Góes Junghans

Engª Agrª, DSc., *Embrapa Mandioca e Fruticultura*, Rua Embrapa, s/n, Cx. Postal 007, 44380-000, Cruz das Almas - BA, tatiana@cnpmf.embrapa.br

Apresentação

Esse trabalho é fruto da necessidade de elaboração de normas visando melhorias no funcionamento do Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT) da ***Embrapa Mandioca e Fruticultura***.

As normas instituídas têm como objetivos básicos auxiliar as pessoas que desenvolvem atividades no LCT a promoverem um bom funcionamento do laboratório, mediante um desempenho harmônico de seu trabalho, além de instruir as pessoas sobre as precauções para evitar acidentes e criar um ambiente externo ao recipiente de cultivo com elevado nível de assepsia e condições ambientais que proporcionem melhor crescimento das culturas.

Cumpre ressaltar que esta publicação está sendo produzida como uma possibilidade concreta de aprimoramento do funcionamento do Laboratório de Cultura de Tecidos.

A ***Embrapa Mandioca e Fruticultura***, com este trabalho, oferece uma contribuição a todos que utilizam o LCT, com a expectativa de que essa iniciativa seja estendida para os demais laboratórios da Unidade.

Jorge Luiz Loyola Dantas

Chefe Adjunto de Pesquisa e Desenvolvimento

Sumário

Introdução	9
O Laboratório	10
Ações Promovidas	11
Equipe de Trabalho	12
Regras Gerais	12
Medidas de Segurança	14
Uso de Equipamentos, Substâncias e Vidrarias	16
Manejo de Resíduos	19
Pesquisa com OGM	20
Outras Recomendações	21
Convivência com Sentido Comum e Educação	23
Uso de Computadores	24
Bibliografia Consultada	26

Normas Gerais do Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT)

Antônio da Silva Souza
Adilson Kenji Kobayashi
Fernanda Vidigal Duarte Souza
Janay Almeida dos Santos-Serejo
Tatiana Góes Junghans

Introdução

Estas normas foram elaboradas com base em diversos manuais e artigos técnico-científicos que tratam sobre o funcionamento de laboratórios de modo geral e especificamente daqueles envolvidos com o tema cultura in vitro de tecidos de plantas, e tem como objetivos: a) auxiliar as pessoas que desenvolvem atividades no Laboratório de Cultura de Tecidos (LCT), da **Embrapa Mandioca e Fruticultura**, a promoverem um bom funcionamento do LCT mediante um desempenho eficiente e harmônico de seu trabalho, contribuindo também para solucionar ou, pelo menos, minimizar problemas que surgem em outras áreas da pesquisa; b) instruir as pessoas sobre as precauções a tomar, a fim de evitar acidentes de trabalho; e c) criar um ambiente externo ao recipiente de cultivo com elevado nível de assepsia e condições ambientais que proporcionem melhor crescimento das culturas.

O Laboratório

O LCT (Figura 1) começou suas atividades no início dos anos 80 e seu principal objetivo é utilizar procedimentos biotecnológicos em apoio aos programas de melhoramento genético e de fitossanidade desenvolvidos na **Embrapa Mandioca e Fruticultura** com as culturas do abacaxi, acerola, banana, citros, mamão, mandioca, manga e maracujá. Esses procedimentos envolvem basicamente as seguintes linhas de trabalho:

- Micropropagação.
- Cultivo de embriões.
- Microenxertia.
- Conservação in vitro de germoplasma.
- Isolamento e fusão de protoplastos.
- Fertilização in vitro.
- Embriogênese somática.
- Variação somaclonal.
- Transformação genética.
- Obtenção de haplóides.
- Análises citológicas.
- Anatomia vegetal.

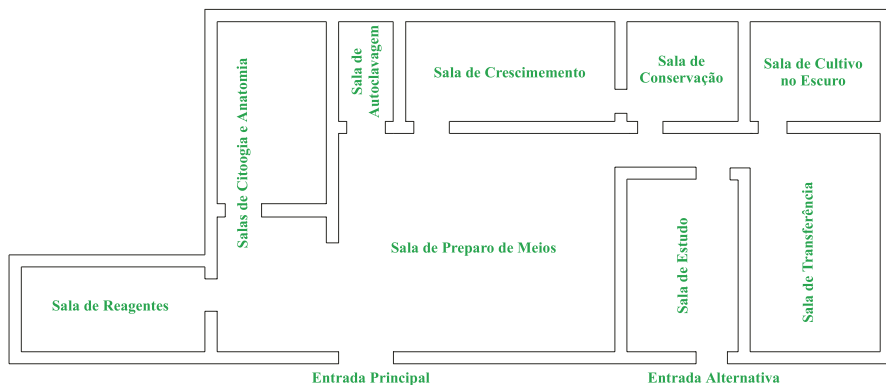


Fig. 1. Dependências que compõem o Laboratório de Cultura de Tecidos da **Embrapa Mandioca e Fruticultura**.

Ações Promovidas

- ♦ Multiplicar novos híbridos, cultivares tradicionais e variedades promissoras dos bancos ativos de germoplasma (Figura 2).
- ♦ Recuperar indivíduos zigóticos resultantes de cruzamentos.
- ♦ Eliminar patógenos sistêmicos em plantas.
- ♦ Manter a diversidade genética de espécies.
- ♦ Caracterizar acessos dos bancos ativos de germoplasma.
- ♦ Ampliar a base genética existente nos bancos ativos de germoplasma.
- ♦ Colaborar com outros segmentos desta Unidade e da **Embrapa** como um todo, instituições públicas e privadas (Universidades, escolas de diferentes níveis de ensino, empresas, ONG's etc.), tanto na cessão de materiais como no uso de equipamentos, intercâmbio de material genético e treinamentos de pessoal.

Antônio da Silva Souza



Fig. 2. Cultivo de genótipos superiores em Sala de Crescimento, sob condições controladas.

Equipe de Trabalho

- Nosso grupo de trabalho tem uma dinâmica que tende cada vez mais a ser horizontal. Isto significa que todos os membros da equipe são iguais em importância.
- O LCT conta com profissionais em diferentes áreas, com distintos níveis de conhecimento, porém todos têm atribuições que se complementam, constituindo um todo harmônico e coeso.
- Conhecer o papel de cada um poderá ajudar os usuários do LCT a identificar qual de seus componentes deve ser consultado diante do surgimento de um problema técnico ou pessoal.
- Todos os membros do LCT devem ser tratados com o mesmo respeito.
- Atualmente, o LCT conta com uma equipe de cinco pesquisadores (Adilson Kenji Kobayashi, Antônio da Silva Souza, Fernanda Vidigal Duarte Souza, Janay Almeida dos Santos-Serejo e Tatiana Góes Junghans) e quatro assistentes de operações (Honorato Pereira da Silva Neto, José Andrade Fiúza, Keuder Magalhães da Silva e Tânia Maria Ferreira Dias Conceição), que atuando em diferentes áreas de estudos, estão sempre buscando associar responsabilidade, eficiência, comunicação, amizade, entendimento e, sobretudo, a ética profissional, mantendo um ambiente de trabalho constantemente alegre, saudável e, portanto, harmonioso..
- Ramais dos pesquisadores e do LCT:

Nome	Número
Adilson Kenji Kobayashi	3621-8059
Antônio da Silva Souza	3621-8031
Fernanda Vidigal Duarte Souza	3621-8094
Janay Almeida dos Santos-Serejo	3621-8031
Tatiana Góes Junghans	3621-8062
LCT	3621-8072

Regras Gerais

Visando otimizar o ambiente de trabalho, foram estabelecidas algumas regras, que, apesar de parecerem simples e universais, nem sempre são seguidas, o que pode trazer sérios prejuízos às pessoas que trabalham e utilizam o LCT. São elas:

- ♦ Qualquer monografia de graduação, dissertação de mestrado e tese de doutorado que abordar como foco principal algum tema das áreas de cultura de tecidos, citogenética e anatomia vegetal, a ser desenvolvido no LCT, será obrigatoriamente orientada ou co-orientada por pesquisador(es) lotado(s) nesse Laboratório.
- ♦ No primeiro mês de estágio, todo estagiário contará com o acompanhamento obrigatório de um funcionário nas atividades desenvolvidas nesse Laboratório.
- ♦ Não comer, fumar, beber ou mascar chicletes dentro das salas de preparo de material, crescimento de plantas, conservação de germoplasma e câmaras de fluxo laminar - existe uma sala própria para café e lanche. Fora deste recinto é proibido consumir qualquer tipo de alimento.
- ♦ Não pipetar com a boca; para essas operações, utilizar sempre pês de sucção ou pipetadores automáticos.
- ♦ Utilizar pipetas em cujo bocal tenham sido colocados tampões de algodão hidrófobo; nunca usar pipetas com tampões úmidos.
- ♦ Evitar entrar nas salas de crescimento de plantas, conservação de germoplasma e câmaras de fluxo laminar após regresso do campo ou de outras áreas relacionadas a possíveis fontes de contaminação, de modo a preservar a assepsia desses ambientes.
- ♦ Não manipular reagentes sem conhecer sua respectiva ficha técnica.
- ♦ Não brincar nas áreas de trabalho com atitudes que ponham em perigo os demais colegas, pois parte da atenção ao serviço é dissipada pelas brincadeiras.
- ♦ Evitar conversas desnecessárias ou reduzi-las ao mínimo absoluto durante o período de trabalho em câmara de fluxo laminar, para prevenir contaminações, que podem determinar a perda de materiais e resultados de pesquisas.
- ♦ É vetada a manipulação de reagentes e equipamentos e/ou desenvolvimento de qualquer atividade no LCT a pessoas (estudantes ou visitantes) que não tenham vínculo oficial com a **Embrapa Mandioca e Fruticultura** ou ainda não regularizaram os documentos necessários a esse vínculo e/ou não contam com a autorização de pesquisadores do Laboratório.
- ♦ É vetado consultar, eliminar ou alterar arquivos de trabalho de um colega. As consultas serão feitas apenas com autorização.
- ♦ Não abrir portas nem pegar o telefone com luvas, ainda que estejam limpas.

- ♦ Não deixar abertas gavetas e portas de mesas, arquivos e armários.
- ♦ É proibida a entrada de crianças no LCT sem autorização prévia.
- ♦ Limpar imediatamente qualquer líquido ou substância que tenha caído numa bancada e/ou no chão, seguindo os procedimentos indicados para o manuseio do produto.

Medidas de Segurança

A segurança física do pessoal do LCT é fundamental. Por esta razão, o mais indicado é prevenir os acidentes com medidas de segurança. Entre os vários tipos de acidentes que podem ocorrer em laboratórios, incluem-se como mais comuns as queimaduras causadas pelo fogo ou por agentes químicos e os cortes com material de vidro e lâminas de bisturi. A ocorrência desses acidentes pode ser evitada ou minimizada adotando-se medidas básicas de prevenção de acidentes em laboratórios, como:

- ♦ Não utilizar vidraria quebrada ou trincada.
- ♦ Ter muito cuidado quando estiver trabalhando com o bisturi, especialmente no momento de trocar sua lâmina.
- ♦ Ao ferver algum líquido (meio de cultura, soluções, água etc.), nunca encher o recipiente até a borda. Deixar espaço suficiente para que, durante a fervura, não ocorram respingos, nem derrame; quando necessário, usar recipiente que possua alças.
- ♦ Caso esteja trabalhando com água, meio de cultura ou soluções quentes, utilizar luvas, para sua própria proteção, e colocar um aviso como “ATENÇÃO: QUENTE”, para proteção do seu colega.
- ♦ Não aquecer alimentos e bebidas no forno de microondas; no seu interior não se pode colocar nada contendo papel de alumínio nem metais, sob pena de ocorrer incêndio.
- ♦ O algodão ou pano de limpeza da câmara de fluxo laminar, embebido em álcool, bem como o erlenmeyer contendo álcool para flambagem dos instrumentos, não devem ser deixados próximos à chama da lamparina.
- ♦ A distribuição dos instrumentos, das vidrarias e da lamparina a álcool, na câmara de fluxo laminar, é de fundamental importância para facilitar o trabalho e evitar incêndios.

- ♦ Apagar a lamparina a álcool quando não estiver sendo usada, mesmo que continue desenvolvendo alguma atividade na câmara de fluxo laminar.
- ♦ Ao sair da câmara de fluxo laminar apagar sempre a lamparina.
- ♦ Tomar cuidado no transporte de materiais quentes, ferventes, corrosivos e inflamáveis. Andar com cautela, observar se as condições do recipiente estão de acordo e usar o material de segurança individual necessário.
- ♦ Quando necessitar entrar no almoxarifado (Figura 3), ligar o exaustor pelo menos 15 minutos antes, para eliminação dos vapores desprendidos pelas substâncias.
- ♦ É importante manter um bom estoque de primeiros socorros, incluindo, principalmente, medicamentos e materiais para tratamento de queimaduras e cortes.
- ♦ Em situações de emergência, a regra básica é manter a calma. Esta atitude facilitará as ações de dar e receber ajuda.
- ♦ Os membros da equipe do LCT devem conhecer onde se encontram e como manejar os extintores de incêndio.
- ♦ Mesmo em laboratórios bem organizados podem ocorrer acidentes com o pessoal da limpeza, já que eles têm, geralmente, horário de trabalho diferente e não são incluídos normalmente como membros da equipe. Esse pessoal deve ser instruído sobre riscos potenciais, identificando-os e tratando-os de um modo adequado; lâminas de bisturi usadas, por exemplo, devem ser envolvidas em papel de jornal ou papelão antes de eliminadas, no caso de não haver um recipiente especial para descarte.

Antônio da Silva Souza



Fig. 3. Almoxarifado, um compartimento necessário para estocar material de consumo, especialmente reagentes.

Uso de Equipamentos, Substâncias e Vidrarias

- Os equipamentos, incluindo computadores, são de uso exclusivo para atividades ligadas a projetos de pesquisa.
- Não usar equipamentos sem o devido conhecimento. Perguntar é sempre o melhor caminho, evitando causar danos a um equipamento importante.
- Revise o estado do equipamento antes de usá-lo e, caso encontre um problema, favor comunicar imediatamente ao Responsável pelo Laboratório.
- Não espere que um equipamento se danifique totalmente, evitando prejuízos ao seu trabalho ou de outras pessoas.
- Quando se estabelecer reservas para o uso de equipamentos, elas devem ser respeitadas; no caso de uma emergência, pode-se negociar o turno. Isto deve ser considerado, principalmente, no que se refere às câmaras de fluxo laminar (Figura 4) e ao computador.

Antônio da Silva Souza



Fig. 4. Manipulação asséptica de culturas in vitro em câmara de fluxo laminar.

- ♦ Nenhum material ou equipamento deve ser retirado do LCT; em caso de necessidade, comunicar ao seu Responsável e registrar em ficha de controle.
- ♦ Deixe sempre os equipamentos, substâncias, vidrarias e outros objetos no lugar correto; trocas de lugar acarretam perdas de tempo para o próximo usuário.
- ♦ Ao terminar as atividades diárias, verifique se o(s) equipamento(s) em que estava trabalhando está(ão) desligado(s).
- ♦ Do uso controlado dos equipamentos, substâncias e vidrarias depende não apenas seus resultados, como os do grupo.
- ♦ Caso presuma a possibilidade de “trovoada”, especialmente durante a noite, desligue os equipamentos, para evitar danos.
- ♦ Existem diferentes maneiras de transportar um equipamento ou manipular o material de trabalho; use sempre a maneira mais segura para você e o equipamento.
- ♦ No transporte de qualquer material utilize sempre bandejas ou carros.
- ♦ Leve apenas aquilo que possa transportar com segurança.
- ♦ Microscópios são equipamentos delicados; não os transporte pegando-os pelo canhão, pois isto danifica seu mecanismo. Transporte os microscópios segurando-os pela coluna com uma das mãos e pela base com a outra mão.
- ♦ As lâmpadas para os microscópios têm uma vida útil; caso não esteja trabalhando com o equipamento, apague-as.
- ♦ A câmara de fluxo laminar deve ser ligada pouco antes de se iniciar os trabalhos; ao se programar para trabalhar somente durante o período da tarde, não a ligue às 7h30.
- ♦ Caso caia qualquer substância (meio de cultura, principalmente) no microondas, limpe-o imediatamente. Para a limpeza use produtos neutros, que não contenham abrasivos.
- ♦ Antes de usar as autoclaves, verifique o nível da água e, se necessário, complete-o com água deionizada, evitando o acúmulo de sais que danificam o equipamento. Operar as autoclaves sem o nível de água adequado pode queimá-los.
- ♦ Uma vez terminado o ciclo de autoclavagem, esperar a pressão voltar à zero e retirar o material para evitar a degradação e outras reações indesejáveis das substâncias, e não congestionar as atividades.

- ♦ A água da autoclave deve ser trocada a cada trinta dias ou sempre que houver alguma alteração na cor ou contaminação com alguma substância.
- ♦ Antes de usar as centrífugas, verifique se os tubos estão equilibrados, pois caso não estejam incorre-se em risco de danificar o equipamento.
- ♦ Verifique regularmente a vedação da tampa da centrífuga e nunca a abra antes da parada total.
- ♦ Examine os tubos de cada centrifugação para detectar possíveis trincas.
- ♦ Ao esterilizar materiais, observe constantemente a temperatura da estufa e só a abra quando a temperatura estiver abaixo de 50°C, pois o contato do ar frio com a vidraria muito aquecida irá provocar quebras, e estilhaços de vidro poderão atingi-lo e a outras pessoas.
- ♦ Cuidado ao colocar vidrarias e outros materiais na estufa. Materiais mal arrumados podem cair no momento da abertura da porta da estufa.
- ♦ Só manuseie o material esterilizado com luvas próprias para suportar altas temperaturas.
- ♦ Em caso de uso de um banho-maria durante toda a noite, revise o nível da água.
- ♦ Existem vários tipos e tamanhos de extintores de incêndio, cada um com finalidade especial. Todo laboratório deve ter acesso a pelo menos dois tipos deles: os de espuma e os de CO₂.
- ♦ Extintores de espuma são mais efetivos sobre princípios de incêndios que envolvem a combustão de materiais comuns e líquidos ou óleos inflamáveis, enquanto que os de CO₂ são utilizados em equipamentos elétricos. Informe-se sobre o uso correto destes extintores.
- ♦ Os extintores devem estar situados em locais de fácil acesso, sendo que a altura máxima de colocação do extintor não deve ultrapassar 1,80 m, medindo-se da parte superior do aparelho até o piso do laboratório.
- ♦ Há uma pessoa do LCT encarregada do controle de estoques de materiais de consumo. Identifique-a, tanto para solicitar-lhe como para avisar-lhe sobre a necessidade de aquisição de algum produto, de forma que não falte nada no momento de realizar seus experimentos. Não espere que um dado produto termine para solicitar sua compra.
- ♦ Todas as substâncias, especialmente os reguladores de crescimento, enzimas e antibióticos, são caras; utilize-as criteriosamente.

- ♦ A água destilada e deionizada é um produto importante e caro. Portanto, utilize-a adequadamente, ou seja, apenas para enxaguar as vidrarias que vão ser empregadas no preparo de meios de cultura, soluções estoques e água esterilizada.
- ♦ Permanentemente, deve haver água destilada e deionizada nos respectivos recipientes. Quando seu nível estiver baixo, ligar o destilador e o deionizador, verificando bem o fluxo de água.
- ♦ Caso planeje usar um grande volume de água esterilizada em uma dada atividade, programe-se antecipadamente e coloque em recipientes adequados a quantidade que vai necessitar.
- ♦ Determinados reagentes e substâncias podem reagir com a água e apresentar algum risco quando manuseados. Como exemplo, nunca adicione água ao ácido, e sim, ácido à água.
- ♦ Além disso, os reagentes e substâncias que apresentem riscos para o meio ambiente devem ser descartados em locais apropriados para resíduos tóxicos.
- ♦ Reagentes perigosos utilizam símbolos padrões nos rótulos indicando o tipo de periculosidade. Saiba como reconhecê-los (Figura 5).

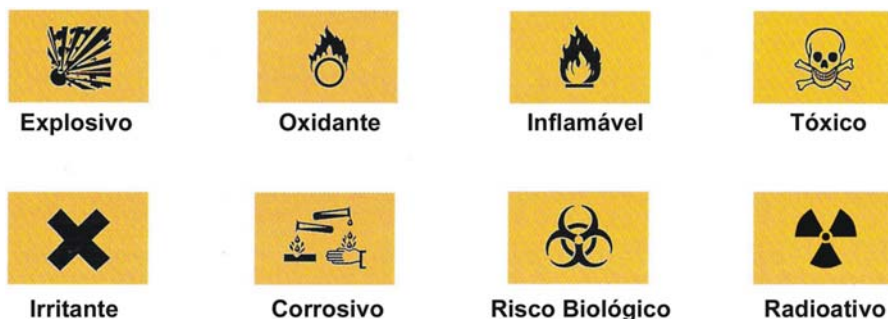


Fig. 5. Pictogramas baseados em padrões largamente aceitos.

Manejo de Resíduos

- ♦ Lembre sempre que parte do trabalho realizado no LCT inclui recolher o material descartado - são produtos de seu trabalho e você é quem deve recolhê-los. Não espere que outro faça o que é seu dever.

- ♦ Depois de uma jornada de trabalho, limpe sempre o espaço que você ocupou.
- ♦ O material sujo deve ser imediatamente lavado.
- ♦ Os bolsistas, estagiários, treinandos e estudantes devem lavar seu próprio material.
- ♦ O material contaminado sólido (meios de cultura, recipientes de cultivo etc.) deve ser autoclavado a 121 °C (1 kg/cm²) durante uma hora.
- ♦ Os recipientes contaminados devem ser transferidos imediatamente para a sala de autoclavagem, podendo-se colocar aproximadamente 5 mL de uma solução comercial com 2,0-2,5% de hipoclorito de sódio nos mesmos.
- ♦ Deve-se dar baixa às vidrarias quebradas, trincadas ou em mal estado de conservação (riscadas), colocando-as na caixa para depósito e reciclagem.
- ♦ Usar luvas ao pegar vidrarias quebradas e recolher partículas finas de vidro com papel toalha umedecido.

Pesquisa com OGM

- ♦ O LCT desenvolve atividades de pesquisa com organismos geneticamente modificados (OGMs). Equipamentos envolvidos na pesquisa são de uso restrito a pessoas autorizadas e são identificados com o pictograma de risco biológico (Figura 6).



RISCO BIOLÓGICO

ORGANISMO: _____
CLASSE DE RISCO: _____
PESQUISADOR RESPONSÁVEL: _____
TELEFONE PARA CONTATO: _____

Fig. 6. Pictograma de risco biológico.

- ♦ O LCT possui o Certificado de Qualidade em Biossegurança (CQB 0075/98) emitido pela Comissão Técnica Nacional de Biossegurança - CTNBio. Os procedimentos de trabalho devem ser conduzidos de acordo com as instruções normativas definidas pela CTNBio.

Outras Recomendações

- ♦ Cada pessoa deve preparar e controlar seu material de trabalho (meios de cultura, ferramentas, água autoclavada, papel esterilizado, álcool de imersão das ferramentas etc.), colocando-o e organizando-o adequadamente nos cestos da autoclave (Figura 7).
- ♦ O horário normal de trabalho na **Embrapa Mandioca e Fruticultura** é de segunda-feira a sexta-feira, de 7h30 às 12h e de 13h30 às 17h.
- ♦ Não será permitida a permanência de bolsistas, estagiários, treinandos e estudantes no LCT fora do horário de expediente normal (antes das 7h30, entre 12h e 13h30, após as 17h e aos sábados, domingos e feriados).
- ♦ Caso alguma etapa de um experimento não coincida com esses horários, será necessária uma autorização prévia do pesquisador-orientador para que se permita o acesso ao LCT, registrando no respectivo formulário de controle o horário em que o orientando permaneceu no Laboratório.
- ♦ Portanto, é melhor coordenar suas atividades no expediente normal de trabalho. Trabalhos fora do horário normal devem ser realizados preferencialmente com um mínimo de duas pessoas, para assistência mútua. Isto facilitará o desenvolvimento de seu trabalho e a possibilidade de ajuda em situações em que esta for necessária.
- ♦ Não retire os catálogos do LCT; são elementos de acesso a fornecedores e preços de insumos de laboratório.
- ♦ Também não retire nenhum catálogo de instruções de uso de qualquer equipamento do LCT, para que sejam consultados em caso de dúvida quanto a utilização adequada do mesmo.
- ♦ Seu espaço de trabalho deve permanecer limpo e organizado. Lembre-se que

seus resultados dependem da organização e da maneira como seus experimentos são conduzidos.

- ♦ Não armazene sementes e segmentos de tecidos em grandes quantidades, e nem prepare soluções que ocupem em demasia os espaços dos refrigeradores e excedam sua capacidade de trabalho.
- ♦ Tenha em mente que o uso ineficiente dos recursos (espaço, equipamentos e insumos) afetará a todos.
- ♦ Não conserve alimentos ou bebidas nos refrigeradores. Muitas substâncias ali armazenadas são voláteis e podem penetrar nos alimentos ou nos recipientes de bebidas, contaminando-os.
- ♦ Seja prudente e racional com o uso do telefone. Uma chamada não deve converter-se em visita, pois o telefone serve para uma série de serviços.
- ♦ Você terá acesso a cópias de artigos científicos, que devem ser manuseadas com cuidado, pois servirão para outras pessoas.
- ♦ O estado das culturas presentes nas salas de crescimento deve ser periodicamente revisado por seus responsáveis, o mesmo se dando em relação à conservação de germoplasma e câmaras climatizadas, procedendo-se a eliminação de qualquer material contaminado o quanto antes.
- ♦ Não inicie qualquer atividade caso não esteja seguro do procedimento a ser adotado. Pergunte sempre, pois esta é a melhor maneira de não cometer erros.

Antônio da Silva Souza



Fig. 7. Pesquisadores, assistentes de operações, bolsistas e estagiários desenvolvendo atividades na Sala de Preparo de Meios.

Convivência com Sentido Comum e Educação

- ♦ A educação será útil para consolidar e manter boas relações entre todos e tornar agradável a jornada de trabalho.
- ♦ A equipe do LCT tem muitas atividades para realizar, porém procurará sempre manter uma atitude de colaboração em situações de necessidade.
- ♦ Seja claro e conciso quando necessitar de qualquer informação ou ajuda.
- ♦ Evite comportamentos que possam confundir ou distrair outras pessoas.
- ♦ Não assuma que alguém deve parar imediatamente seu trabalho para ajudá-lo; por favor, seja paciente.
- ♦ Anote tudo que lhe está sendo dito, em caso de treinamento; isto evitará repetições e perdas de tempo. O uso de uma caderneta de anotações faz parte do seu treinamento.
- ♦ Caso necessite dirigir perguntas a alguém que esteja escrevendo ou manipulando soluções, meios de cultura, tecidos etc., espere que a pessoa termine o que esta fazendo - isto evitará erros.
- ♦ Não use meios de cultura, ferramentas, papel esterilizado, água autoclavada etc. de outra pessoa sem seu consentimento; ela pode ter programado uma atividade para utilizar aqueles materiais.
- ♦ Ao encontrar algo que não lhe pertence (caderno de anotações, artigos pessoais, referências bibliográficas etc.), anote no quadro de avisos para conhecimento dos demais.
- ♦ Caso cometa um erro, por favor informe imediatamente; será mais fácil corrigi-lo a tempo;
- ♦ Ao iniciar seus trabalhos no LCT, ser-lhe-á emprestado um guarda-pó de laboratório.
- ♦ Não saia com o guarda-pó para outras áreas (campo e casa de vegetação, principalmente, cantina, biblioteca etc.). Ele é de uso exclusivo e constante no Laboratório e deve ser lavado pelo menos uma vez por semana - esta responsabilidade é sua.
- ♦ É recomendável que, antes da lavagem, o guarda-pó utilizado seja autoclavado a 121 °C durante 30 minutos.

- ♦ O guarda-pó deve ser guardado em cabide de fácil acesso; nunca guardá-lo juntamente com roupas de uso pessoal, bolsas etc.
- ♦ É proibido usar camiseta e/ou bermuda quando em atividade no LCT.
- ♦ Tome nota de tudo em que participar, para efeito de fazer algum relatório, quando solicitado - estas notas ficarão como produto de sua estadia no LCT.
- ♦ É recomendado que tenha um caderno de atividades. Neste caderno deve ser anotado suas atividades do dia (preparo de meio, introdução de material, repicagens etc.). Este procedimento poderá lhe auxiliar no futuro.
- ♦ O LCT é um laboratório de portas abertas; observe que pessoas entram e saem continuamente do seu recinto.
- ♦ Leve a sério suas atividades; de um trabalho bem feito dependerão seus resultados e os das demais pessoas.
- ♦ Não espere que lhe recordem suas funções; no desenvolvimento de uma dada atividade é importante saber quais são seus procedimentos e o momento correto de realizá-la.

Uso de Computadores

- ♦ Os computadores (Figura 8) são de utilização **exclusiva** para trabalhos referentes ao LCT.
- ♦ Cada estagiário, bolsista ou estudante, estará vinculado a um pesquisador, que detém uma pasta na área de trabalho, onde devem ser colocados os dados referentes ao estágio, trabalho ou treinamento.
- ♦ Não é permitida a formação de novas pastas com nomes de pessoas que não sejam os dos pesquisadores ou dos auxiliares de operação que compõem o LCT. Apenas estas pessoas podem nomear pastas.
- ♦ É proibido guardar arquivos que não sejam referentes aos trabalhos executados no LCT, sob pena de serem eliminados sem nenhum aviso.
- ♦ O usuário deve anotar, em ficha específica de utilização da máquina, o dia e a hora em que a operou, assim como mencionar o trabalho realizado. Cada trabalho tem seu próprio código.

- ♦ Não consumir qualquer tipo de alimento quando estiver trabalhando no computador.
- ♦ O Setor de Informação (SIN) monitora cada máquina da Unidade, detectando a entrada em *sites* que não estejam relacionados aos objetivos do trabalho.
- ♦ Os computadores devem ser desligados ao fim de cada jornada diária.

Antônio da Silva Souza



Fig. 8. Computadores utilizados para registro de dados de pesquisas e controle de equipamentos e materiais.

A boa convivência, o respeito mútuo e a harmonia, aliados à utilização correta das normas estabelecidas, são a base do êxito de qualquer atividade.

SEJA BEM-VINDO!!!

Bibliografia Consultada

BHOJWANI, S. S.; RAZDAN, M. K. Laboratory requirements and general techniques. In: BHOJWANI, S. S.; RAZDAN, M. K. (Ed.). **Plant tissue culture: theory and practice**. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 1983. cap. 2, p. 11-24. (Developments in crop science, 5).

BIONDI, S.; THORPE, T. A. Requirements for a tissue culture facility. In: THORPE, T. A. (Ed.). **Plant tissue culture; methods and applications in agriculture**. New York: Academic Press, 1981. p. 1-20.

BROWN, D. C. W.; THORPE, T. A. Organization of a plant tissue culture laboratory. In: VASIL, I. K. (Ed.). **Cell culture and somatic cell genetics of plants; laboratory procedures and their applications**. Orlando: Academic Press, 1984. v. 2, p. 1-12.

CEDEÑO MACIAS, J. **Implementación de un laboratorio de cultivo de tejidos: facilidades mínimas**. Cali: CIAT, 1982. 7 p. (CIAT. Curso Intensivo de Capacitación en Propagación de Yuca y Papa por Cultivo de Meristemas y Otras Técnicas).

ELETTRONICA VENETA. **Laboratorio di biotecnologie per la propagazione dei tessuti vegetali**. Motta di Livenza: Elettronica Veneta & IN. EL. spa, 1992/93. Não paginado. (Elettronica Veneta. Catalogo, 31).

HANDRO, W.; FLOH, E. I. S. A organização de um laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S. (Ed.). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília, DF: ABCTP: Embrapa-CNPq, 1990. p. 29-36.

MAGEAU, O. C. Laboratory design. In: DEBERGH, P. C.; ZIMMERMAN, R. H. (Ed.). **Micropropagation: technology and application**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1991. p. 15-29.

PROYECTO SB-2. **Uso de la agrobiodiversidad mediante la biotecnología**. Cali: CIAT, [200-?]. não paginado.

ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. Establecimiento de un laboratorio para el cultivo de tejidos vegetales. In: ROCA, W. M.; MROGINSKI, L. A. (Ed.). **Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones**. Cali: CIAT, 1991. parte A, cap. 1, p. 1-17.

SANCHEZ, P. S. **Biossegurança em laboratórios**. São Paulo: Isolab, [19—]. 36 p.

SEABROOK, J. E. A. Laboratory culture. In: STABA, E. J. (Ed.). **Plant tissue culture as a source of biochemicals**. Boca Raton: CRC Press, 1980. p. 1-20.

STREET, H. E. Laboratory organization. In: STREET, H. E. (Ed.). **Plant tissue and cell culture**. Berkeley: University of California Press, 1973. cap. 2, p. 11-30.

TEIXEIRA, S. L.; TORRES, A. C. Organização do laboratório de cultura de tecidos de plantas. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L. S.; BUSO, J. A. (Ed.). **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília, DF: Embrapa-SPI: Embrapa-CNPq, 1998. v. 1, p. 71-86.

Embrapa

Mandioca e Fruticultura

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

