TEXTO DE APOIO PARA OS ALUNOS

10ª ou 11ª Classe – 2º Ciclo

TÉCNICAS LABORATORIAIS DE BIOLOGIA

TLB

Ministério da Educação
Cultura e Formação

CAMÕES INSTITUTO DA COOPERAÇÃO E DA LINGUA
MINISTÉRIO DOS NEGÓCIOS ESTRANGEIROS
PORTUGAL

IMVF
Instituto Marquês de Valle Flôr
ONGD

escola+
Educação para Todos

Índice

O Laboratório de Biologia

Higiene e segurança no trabalho laboratorial 3

Equipamento básico e material de laboratório 5

Utilização do material de laboratório 6

Constituição e funcionamento do Microscópio Óptico Composto 9

Técnicas de preparação e montagem de material biológico para microscopia óptica 11

T.L. 1 Características da imagem em microscopia óptica 15

T.L. 2 Observação microscópica de seres vivos de uma infusão 17

T.L. 3 Observação microscópica de células da epiderme do bolbo da cebola (*Allium cepa*) 19

T.L. 4 Observação da célula eucariótica vegetal: observação de amiloplastos e cromoplastos 20

T.L.5 Identificação de Glícidos 21

T.L.6 Identificação de proteínas 22

T.L.7 Extracção de DNA de células de cebola (*Allium cepa*) 23

T.L. 8 Osmose em células vegetais 25

T.L. 9 Separação de pigmentos fotossintéticos por cromatografia em papel 26

T.L. 10 Fotossíntese e interferência de factores do meio ambiente 27

T.L. 11 Mecanismo de abertura e fecho de estomas 28

T.L. 12 Ascensão de água nas plantas 29

T.L. 13 Observação microscópica de tecidos condutores 30

T.L. 14 Estudo da constituição do sangue: observação de uma preparação definitiva de esfregaço sanguíneo humano 31

T.L. 15 - A origem do iogurte 33

TLB 16 Observação de células procarióticas: observação microscópica das bactérias do iogurte (Lactobacillus bulgaricus e Streptococus termophilus) 34

TLB 17 Observação de células procarióticas: observação microscópica das bactérias do vinagre (*Acetobacter aceti*) 35

TLB 18 – Respiração celular em tecidos vegetais 36

O Laboratório de Biologia

"O laboratório de Biologia é um local privilegiado para o desenvolvimento pessoal e interpessoal. Os trabalhos laboratoriais, para além de te proporcionarem a oportunidade de manipulação de material, de conheceres técnicas e de experimentares, possibilitam-te a capacidade de interpretar determinados fenómenos e até mesmo de modificar os teus pontos de vista sobre um determinado tema, quando fores confrontado com novas informações. O facto de a organização de alguns trabalhos ser feita em grupo, para além de permitir uma reflexão colectiva sobre o problema que te é posto, promove a entreajuda e a responsabilização de todos os elementos pelas atitudes e condutas que neste espaço devem estar presentes."

Marques et al., 1999

Higiene e segurança no trabalho laboratorial

O trabalho em laboratório e a consequente manipulação de produtos e equipamento, tem associado um conjunto de perigos para a saúde. Só o conhecimento rigoroso dos riscos inerentes, especialmente às propriedades de cada produto ou equipamento, permite trabalhar de forma segura num laboratório. Seguidamente apresentam-se algumas regras de segurança essenciais para que se reduzam os riscos no trabalho laboratorial.

Regras gerais de conduta

- ✓ Deves ter sempre presente que o laboratório é um local de trabalho sério.
- ✓ Deves ler previamente todas as orientações dos protocolos antes de começar a trabalhar.
- ✓ Deves seguir as instruções rigorosamente, anotando todas as precauções a tomar.
- ✓ Deves trabalhar com calma, método e ordem. Evita correr e falar alto.
- ☒ Não deves colocar dedos, canetas ou quaisquer utensílios na boca.
- ☒ Não deves comer nem beber dentro do laboratório.

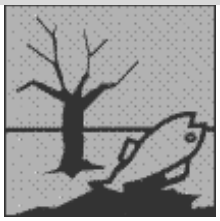
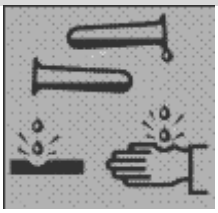
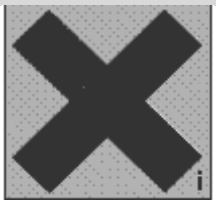
Regras de higiene

- ✓ Deves lavar as mãos com frequência, na zona de lavagem, durante o manuseamento de reagentes.
- ✓ Deves proteger adequadamente as feridas, cortes e arranhões.
- ✓ Deves manter a área de trabalho sempre limpa, limpando a bancada sempre que algum produto seja derramado.
- ☒ Não deves comer nem beber dentro do laboratório.

Regras de protecção e segurança

- ✓ Deves usar bata branca de algodão, de mangas compridas.
- ✓ Deves usar luvas apropriadas durante a manipulação de substâncias que possam ser absorvidas pela pele, corrosivas, nocivas, irritantes, tóxicas ou cancerígenas.
- ✓ Deves usar óculos de protecção sempre que se justifique.
- ✓ Deves prender os cabelos quando são compridos.
- ✓ Deves, para sentir o cheiro de uma substância, abanar com a mão por cima frasco, deslocando na tua direcção uma pequena quantidade de vapor para cheirar.
- ✓ Deves examinar o material antes de o utilizar, rejeitando o que esteja danificado e/ou partido.
- ✓ Deves comunicar imediatamente qualquer facto anormal ou acidental.
- ☒ Não deves cheirar, provar ou tocar com as mãos nos produtos químicos menos que seja expressamente indicado.
- ☒ Não deves deixar os frascos dos reagentes abertos.
- ☒ Não deves obstruir o local onde está o extintor.
- ☒ Não deves colocar fios eléctricos em locais de passagem
- ☒ Não deves mexer em equipamento ligado à corrente eléctrica com as mãos molhadas.
- ☒ Não deves abandonar o local sem desligar os equipamentos que utilizaste.

Antes de contactarmos com qualquer substância, devemos conhecer os riscos a ela associados. Estes riscos figuram nos rótulos de cada frasco, sob a ilustra os símbolos de prevenção mais usados nos rótulos das embalagens.

Perigosos para o ambiente e para a saúde	
	
Radioactivo	Perigoso para o ambiente
Perigosos para a saúde	
Nocivo	Tóxico
Corrosivos ou irritantes	
	
Corrosivo	Irritante

Os que podem provocar incêndios ou explosões

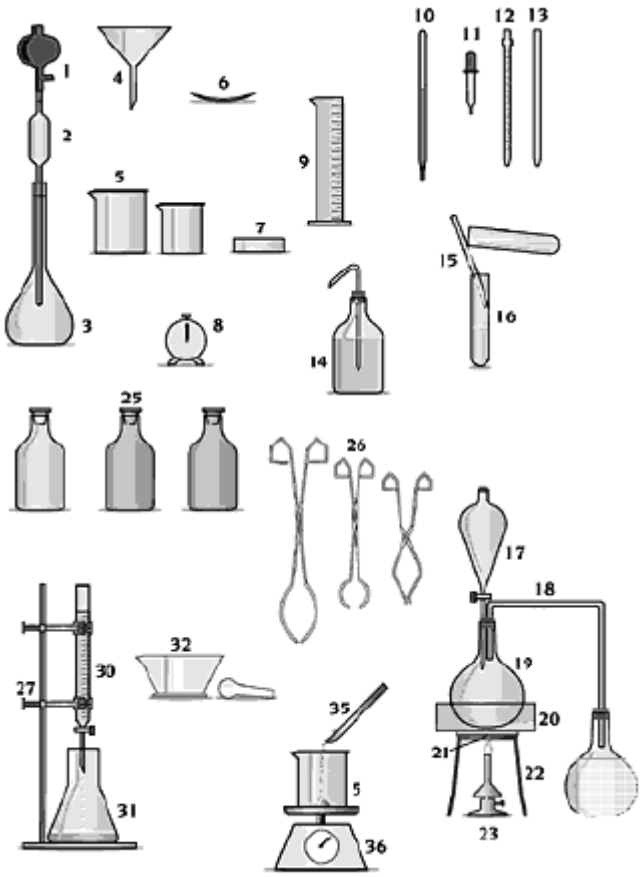
Facilmente inflamável

Explosivo

Comburente

Equipamento básico e material de laboratório

O tipo de actividades experimentais a realizar num laboratório é em parte condicionado pelo apetrechamento em equipamentos e materiais. A figura 1 ilustra algum desse material



1. Pompete
2. Pipeta volumétrica
3. Balão volumétrico
4. Funil
5. Gobelés
6. Vidro de relógio
7. Caixa de Petri
8. Cronometro
9. Proveta
10. Termómetro
11. Conta-gotas
12. Pipeta graduada
13. Pipeta não graduada
14. Garrafa de esguicho
15. Vareta de vidro
16. Tubo de ensaio
17. Ampola de decantação
18. Tubo de vidro dobrado
19. Balão de fundo redondo
20. Tina
21. Placa de cerâmica
22. Tripé
23. Bico de Bunsen
24. Balão de fundo chato
25. Frascos de vidro
26. Pinças e tenazes
27. Suporte universal
30. Bureta
31. Balão de Erlenmeyr
32. Almofariz e pilão
35. Espátula
36. Balança

Para saber mais consulta

aprende.fisicoquimica.googlepages.com/material_lab.pdf

Figura 1 – Material de laboratório mais comum.

As suas funções vão desde a medição de líquidos (2) ou sólidos (7), à trituração de substâncias (32) ou apenas ao armazenamento das mesmas (25).

Para além dos materiais apresentados, num laboratório de biologia é imprescindível a existência de materiais de dissecação (fig. 2) e de materiais ópticos (fig. 3).

Figura 2 – Materiais de dissecação: Pinça (a); tesoura (b); agulha (c); bisturi (d

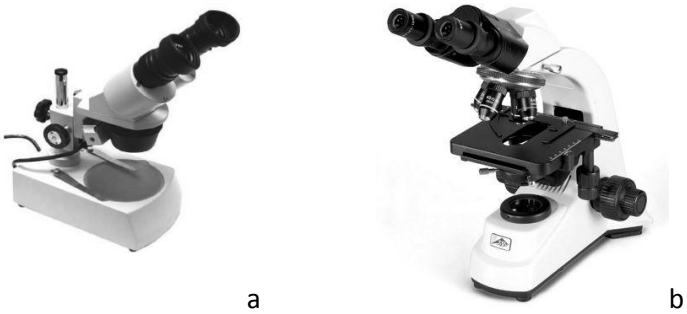


Figura 3 – Materiais ópticos: Lupa binocular (a) e Microscópio Óptico Composto (b).

De entre os materiais de dissecação, salientam-se as pinças (2a), as agulhas (2c), as tesouras (2b) e os bisturis (2d). Estes servem para dissecar um ser vivo e montar uma preparação. De entre os materiais de ópticos salientam-se as lupas binoculares (3a) e os microscópios ópticos composto (3b). As primeiras servem para ampliar entidades macroscópicas (embora pequenas, que sejam visíveis a olho nu) e os segundos para observar entidades microscópicas (não visíveis a olho nu).

Utilização do material de laboratório

Qualquer material de laboratório deve ser manuseado com extremo cuidado. Seguidamente são apresentados alguns casos particulares de utilização.
Sendo o microscópio um caso ainda mais particular, dedicar-se-á um tema apenas para o seu manuseamento e funcionamento.

Medição de volumes

Para medir volumes de líquidos usam-se diversos instrumentos, consoante o rigor a utilizar e o volume da amostra. Para medições rigorosas usam-se pipetas, buretas ou balões volumétricos. Para medições menos rigorosas utilizam-se as provetas.

Qualquer um destes instrumentos tem inscritas algumas informações importantes, tais como:

- volume máximo (capacidade);
- graduação da sua escala, normalmente em mililitros;
- tolerância (limite máximo do erro);
- traço de referência (apenas em pipetas ou balões volumétricos);
- temperatura de calibração (temperatura a que deve ser feita a medição e que é, normalmente, 20˚C).

Para evitar erros de paralaxe, erros associados à incorrecta posição do observador, a leitura deverá ser feita de modo a que a direcção do olhar coincida com a linha tangente à parte interna do menisco se este for côncavo (ex: água), ou à parte externa do menisco se este for convexo (ex: mercúrio).

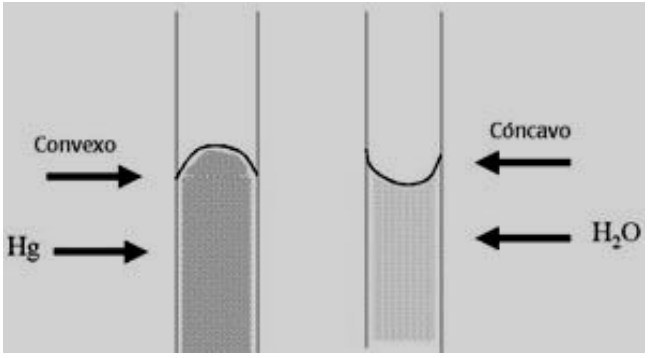


Figura 4 – Erros de paralaxe.

Medição de massas

Medir a massa de uma amostra é uma operação de "pesagem". O instrumento necessário para essa operação é a balança que está, geralmente, graduada em grama (g), unidade submúltipla do quilograma (kg).

Após a selecção da balança, pesa-se a amostra com os seguintes cuidados:

- não colocar a amostra directamente sobre o prato da balança, mas sim dentro de um recipiente limpo e seco que pode ser um vidro de relógio, um copo de precipitação ou até um simples papel de filtro. Estes recipientes devem estar à temperatura ambiente;
- evitar vibrações da mesa ou da bancada em que se encontra a balança;
- evitar derrame de líquidos ou reagentes sólidos sobre o prato da balança;

Aquecimento de substâncias

Na execução de certos trabalhos laboratoriais verifica-se a necessidade de aquecimento de substâncias sólidas ou líquidas com recurso a diferentes técnicas, que se não forem aplicadas de forma correcta podem provocar graves acidentes.

Aquecimento em tubo de ensaio à lamparina (fig.5)

- O tubo de ensaio deve estar seguro com uma pinça de madeira.
- O aquecimento do tubo de ensaio deve ser feito lateralmente, deslocando-o sobre a chama. Nunca deve aquecer-se o fundo do tubo.
- Durante o aquecimento, o tubo de ensaio deve estar voltado para um local onde não se encontre ninguém.

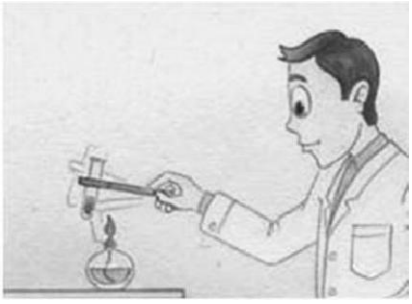


Figura 5 – Aquecimento de um tubo de ensaio.

Aquecimento em gobelés

1. Se o líquido a aquecer não for volátil, após ter sido colocado no gobelé não deve ser exposto directamente sobre a chama. Assim, recorre-se a um tripé sobre o qual se coloca o gobelé com o líquido (fig.6).
2. Se o líquido a aquecer for volátil deve, para além de se seguir os passos anteriormente descritos, colocar-se o gobelé em banho-maria.

Figura 6 – Aquecimento em gobelés de um líquido não volátil.

Aquecimento em cadinho

O aquecimento em cadinho é feito sobre a chama, utilizando uma pinça de cadinhos.

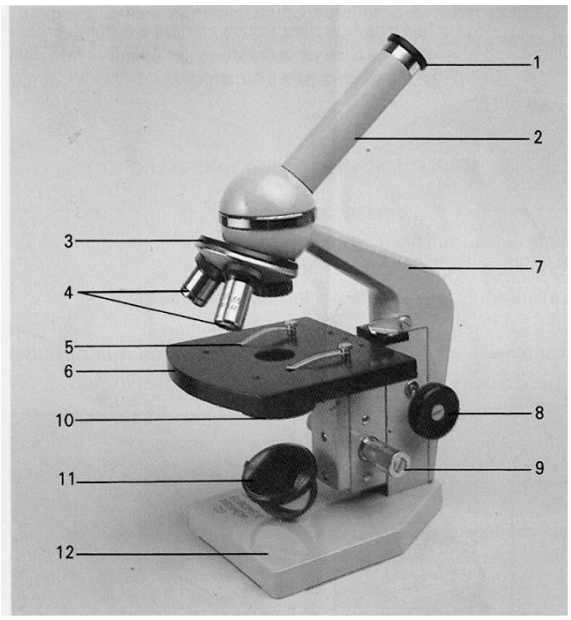
Aquecimento em placa eléctrica (fig. 7)

As placas eléctricas aquecem muito rapidamente. Quando se recorre a este aparelho para aquecimento de água ou soluções devem usar-se luvas de protecção.

Figura 7 – Aquecimento em placa eléctrica.

Constituição e funcionamento do Microscópio Óptico Composto

O microscópio óptico composto (MOC), representado na figura 8, é o mais vulgarmente utilizado nas escolas, sendo constituído por uma parte óptica e uma parte mecânica. A tabela 1 descreve, de forma resumida, os constituintes de cada uma dessas partes e respectivas funções.



1 — Ocular
2 — Tubo óptico
3 — Revólver
4 — Objectivas
5 — Pinça
6 — Platina
7 — Braço
8 — Parafuso macrométrico
9 — Parafuso micrométrico
10 — Diafragma
11 — Espelho
12 — Base

Figura 8 – Microscópio óptico composto.

Tabela 1 – Constituição do microscópio óptico composto

	CONSTITUIÇÃO	FUNÇÕES
Parte Óptica	Sistema de ampliação------	Lentes que permitem a ampliação do objecto.
	- oculares	
	- objectivas	
	Sistema de iluminação	
	Espelho duplo----------	Destina-se a reflectir para a platina a luz que recebe da fonte luminosa.
	Lâmpada----------	Destina-se a fornecer energia luminosa.
	Condensador----------	Distribui regularmente no campo visual do microscópio, a luz reflectida pelo espelho.
	Diafragma----------	Regula a intensidade luminosa no campo visual do microscópio.

Parte Mecânica	Pé---------- -	Suporta o microscópio.
	Coluna----------	Sustenta todas as outras partes do MOC
	Tubo ou canhão----------	Cilindro que suporta o sistema de lentes. Na parte superior a ocular e na inferior o revólver com as objectivas.
	Platina----------	Placa onde se colocam as preparações; tem no centro um orifício por onde passam os raios luminosos que vão depois iluminar a preparação.
	Parafusos	
	Macrométrico----------	Permite a deslocação do tubo ou da platina. É necessário para fazer a focagem.
	Micrométrico----------	Movimenta o tubo ou a platina com movimentos de amplitude muito reduzida, optimizando a focagem.
	Revólver----------	Disco adaptado à zona inferior do tubo, que suporta as objectivas.

Manuseamento do MOC

Para utilizares o microscópio precisas de seguir alguns cuidados e regras:

- ! O microscópio deve ser transportado com as duas mãos, uma segurando-o pela coluna, e outra amparando-o pela base.
- ! O microscópio deve ser colocado sempre afastado dos bordos da mesa de trabalho;
- ! Sobre a mesa de trabalho, do lado oposto àquele em que colocaste o microscópio, deve ficar somente o material que é necessário para registar o que vais observar (folhas de papel e lápis para a notar ou desenhar) e o protocolo a seguir;
- ! Este aparelho deve ser protegido relativamente a líquidos, humidades e vapores de reagentes utilizados em trabalhos laboratoriais.

Os passos a seguir durante uma observação microscópica são apresentados de seguida.

1. Retira, cuidadosamente, o microscópio da caixa.
2. Caso seja necessário, limpa as lentes e o espelho, usando somente um pano que não largue pêlo, levemente embebido em éter.
3. Inicia a observação rodando o revólver até à objectiva de menor ampliação.
4. Regula a luz abrindo ou fechando o diafragma.
5. Encaminha a luz reflectida pelo espelho para o orifício da platina. Caso o microscópio possua uma lâmpada não é necessário este passo.
6. Se o campo visual se apresentar demasiado iluminado, vai fechando o diafragma até a iluminação ficar correcta.
7. Coloca a preparação na platina do microscópio fixando com as pinças.

8. Roda o condensador para que fique ajustado à janela da platina.
9. Leva, com cuidado, a preparação a aproximar-se o mais possível da objectiva, olhando lateralmente e com o auxílio do parafuso macrométrico (fig.9).
10. Observa pela ocular e imprime ao mesmo parafuso um movimento no sentido contrário, para que a objectiva fique afastada da preparação.
11. Logo que apareça a imagem do objecto, abandona o parafuso macrométrico e passa a utilizar o micrométrico, para aperfeiçoar a focagem, obtendo assim uma imagem mais nítida.
12. Para obter imagens mais ampliadas, coloca a objectiva de ampliação imediatamente superior e ajusta a nitidez da imagem apenas com o parafuso micrométrico.
13. Terminado o trabalho, roda o revólver para a objectiva de menor poder de ampliação, desce a platina e retira a preparação.
14. Apaga a fonte de luz, no caso de o microscópio apresentar luz incorporada.
15. Guarda o microscópio na caixa, depois de devidamente limpo.

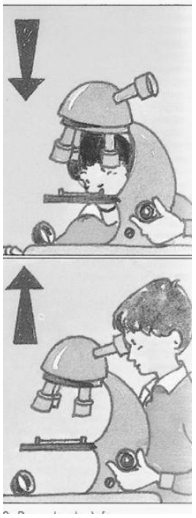


Figura 9 – Procedendo à focagem.

Técnicas de preparação e montagem de material biológico para microscopia óptica

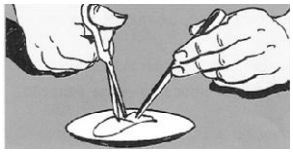
A observação de material biológico exige a aplicação de diversas técnicas que permitem uma melhor visualização dos seus componentes, visto que as células, além das suas pequenas dimensões, não apresentam contraste entre os seus constituintes.

As preparações a efectuar para observação de material biológico podem ser temporárias (permitem a observação de material vivo, mas apenas por um período de tempo limitado) ou definitivas (permitem guardar o material para posteriores observações).

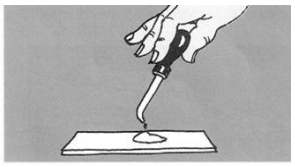
Como montar uma preparação

Seguidamente apresentam-se os vários passos a seguir para montar uma preparação. Ter em atenção que o material a observar tem de ser muito fino e transparente.

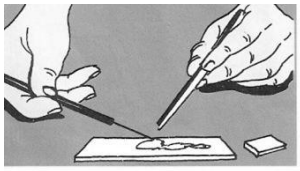
1. Dividir o material em películas pequenas.



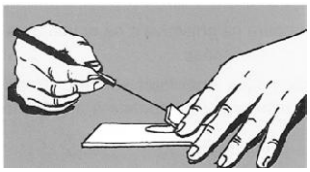
2. Colocar uma gota de água no centro da lâmina.



3. Estender a película de material biológico, cuidadosamente sobre a água

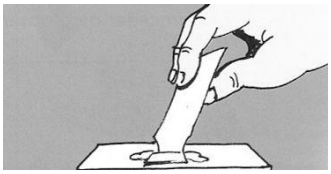


4. Colocar uma lamela obliquamente contra a gota de água, sustentando-a com a agulha.

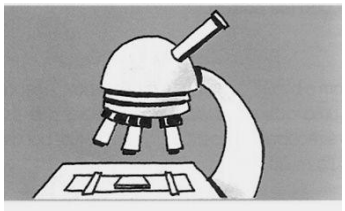


5. Baixar a lamela lentamente.

6. Retirar o excesso de líquido com o papel de filtro.



7. Colocar a preparação na platina do microscópio já iluminado, fixando-a com as pinças.



A microscopia inclui vários tipos de instrumentos e técnicas. De acordo com a constituição e funcionamento do microscópio óptico, o material biológico, para ser observado, tem de ser sujeito a uma série de manipulações físicas e químicas.

No microscópio óptico, a luz é transmitida através do objecto de modo a que o material seja atravessado pela luz, a fim de se produzir a imagem. Este aspecto impõe que, na observação de tecidos animais ou vegetais em que as células estão justapostas, seja necessário fazer finos cortes de modo a que se apresentem translúcidos.

Com esse objectivo, utilizam-se normalmente as seguintes técnicas:

- técnica do esfregaço;
- técnica do esmagamento.

Técnicas de preparação de material biológico

Técnica do esfregaço

Técnica utilizada com frequência em bacteriologia. Esta técnica permite a separação de células em meio líquido. Consiste em espalhar um fragmento de tecido ou uma colónia sobre uma lâmina de vidro, o que provoca a dissociação de alguns elementos celulares e a sua aderência ao vidro. Desta maneira forma-se uma camada fina de células, facilitando a observação. Após estar seco, o material, pode ser fixado e corado.

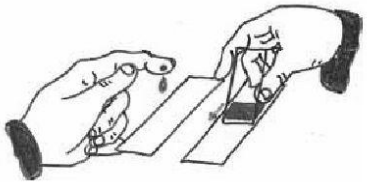


Figura 10 – Técnica do esfregaço.

Técnica do Esmagamento

Técnica utilizada nos casos em que existe uma aderência fraca entre as células do tecido a observar. Para visualizar as células, basta colocar um pequeno fragmento do tecido entre a lâmina e a lamela e fazer uma pequena pressão com o polegar. Provoca-se, desta forma, um esmagamento do tecido, o que faz com que se espalhem, formando uma fina camada, que é facilmente atravessada pela luz.

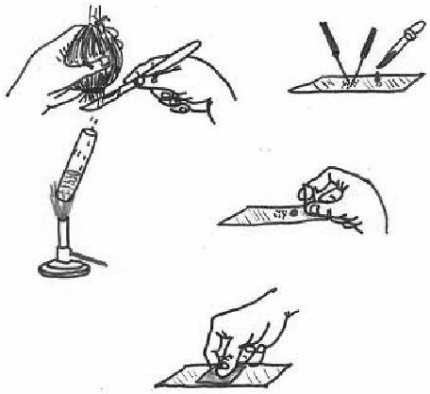


Figura 11 – Técnica do esmagamento.

Técnicas de coloração

Todas as técnicas citológicas implicam frequentemente a coloração de material biológico; a maioria das estruturas celulares só é observável ao microscópio óptico composto se a célula for previamente tratada por corantes. Cada corante reage apenas com certos elementos celulares, que ficam contrastados em relação aos outros, o que facilita a observação.

Para observarmos células vivas devemos ter o cuidado de usar corantes que não alterem nem destruam o material biológico. Tais corantes, os corantes vitais, como é o caso do azul-de-metileno, do vermelho neutro e da eosina, são normalmente utilizados nas preparações temporárias. A tabela 2 apresenta vários corantes vitais e as estruturas por eles coradas.

Tabela 2 – Corantes vitais e estruturas por eles coradas

CORANTES	ESTRUTURAS
Orceína acética	Cromossomas
Água iodada	Núcleo; grãos de amido
Eosina	Citoplasma
Soluto de lugol	Parede celulósica; grãos de amigo
Vermelho neutro	Vacúolos
Azul-de-metileno	núcleo

Para aplicação do corante ao material biológico utilizam-se frequentemente duas técnicas:

Coloração por imersão – o corante é utilizado como meio de montagem.

Coloração por irrigação – coloca-se uma gota de corante num dos bordos da lamela e arrasta-se o corante para o lado oposto com papel de filtro.

No caso das preparações definitivas, além da coloração, há necessidade de preservar, da maneira mais perfeita possível, a estrutura original das células. Tal efeito consegue-se com a utilização de fixadores (substâncias químicas como o formol, o éter, o ácido acético e o álcool) que matam rapidamente a célula, mantendo as suas estruturas com a menor alteração possível, sendo assim conservado o material biológico para futuras observações.

Os agentes susceptíveis de exercerem acção fixadora também podem ser de natureza física, como o frio e o calor. Consoante a estrutura celular que se pretende observar, deve ter-se o cuidado de escolher o fixador mais adequado, pois estes actuam de diferente forma.

Trabalhos Laboratoriais

Figura 12

Qualquer trabalho laboratorial, seja uma experiência que implique a manipulação de variáveis, seja apenas uma observação microscópica do epitélio bucal, implica seguir rigorosos passos. Esses passos devem ser seguidos a partir de um protocolo redigido particularmente para o trabalho em causa e que tenha em conta o laboratório e os meios disponíveis.

T.L. 1 Características da imagem em microscopia óptica

Introdução

O microscópio óptico composto (MOC), representado na figura 8 da página 8, serve para fazer observações de materiais microscópicos, isto é, que não são visíveis a olho nu. Por exemplo, olhando para uma folha de uma planta, conseguimos ver o seu exterior, mas não conseguimos ver as suas células e muito menos os vários componentes celulares. Com a ajuda do MOC e recorrendo a diversos corantes, essas observações tornam-se possíveis.

Uma das características da imagem microscópica é o facto de ser ampliada. O valor total da ampliação de uma imagem obtém-se a partir da fórmula:

Ampliação total = Ampliação ocular X Ampliação objectiva.

No entanto, é preciso ter em conta que o poder ampliador de um microscópio não deve ser considerado como a melhor qualidade de um sistema óptico. Este deve apresentar, para além de tudo, algumas características como o poder de definição (capacidade de formação de imagens com contornos bem definidos) e o poder de resolução (capacidade de se distinguir dois pontos que se encontrem muito próximos).

Para além de se obterem imagens ampliadas, a imagem obtida ao MOC possui outras características, que ficarás a conhecer pela realização do presente protocolo experimental.

Material

- Microscópio óptico composto
- Kit de dissecação
- Lâmina
- Lamela
- Água
- Letras **F** em papel

Procedimento

1. Coloca uma gota de água sobre uma lâmina.
2. Coloca a letra, com auxílio da pinça, sobre a gota de água.
3. Cobre o fragmento de papel com uma lamela, de modo a fazer um ângulo de 45º com a lâmina, deixando-a cair lentamente e utilizando a agulha de dissecação.
4. Retira o excesso de água com o papel de filtro.
5. Ilumina o microscópio e posteriormente coloca a preparação, com a letra F na posição real, sobre a platina, de modo a ocupar o orifício desta.
6. Procede à focagem seleccionando a objectiva de menor ampliação.
7. Desenha a imagem da letra obtida no campo do microscópio.
8. Desloca a preparação na platina, para a direita e para a esquerda, para a frente e para trás, registando o sentido de deslocação da imagem.
9. Selecciona a objectiva de ampliação imediatamente superior e procede à observação da preparação, corrigindo a focagem.
10. Desenha a imagem obtida no campo do microscópio.

Discussão

1. Compara a posição real da letra F com a da imagem obtida no campo do microscópio.
   1.1. Procura tirar uma conclusão relativamente às características da imagem obtida.
2. Indica o sentido de deslocação da imagem obtida relativamente ao sentido de deslocação do objecto.
3. De acordo com as informações fornecidas no sistema de ampliação (ocular e objectiva), calcula a ampliação de cada uma das imagens obtidas.

<u>T.L. 2</u> Observação microscópica de seres vivos de uma infusão

Introdução

Para completares o teu estudo sobre células eucarióticas animais vais observar neste trabalho experimental pequenos seres que se distribuem por todo o planeta, em ambientes terrestres ou aquáticos, de água doce ou água salgada, e que se reproduzem com facilidade em qualquer meio.

Os seres observados, apesar da diversidade de formas apresentada, não são mais do que uma célula bastante especializada constituída por duas regiões fundamentais: o núcleo e o citoplasma.

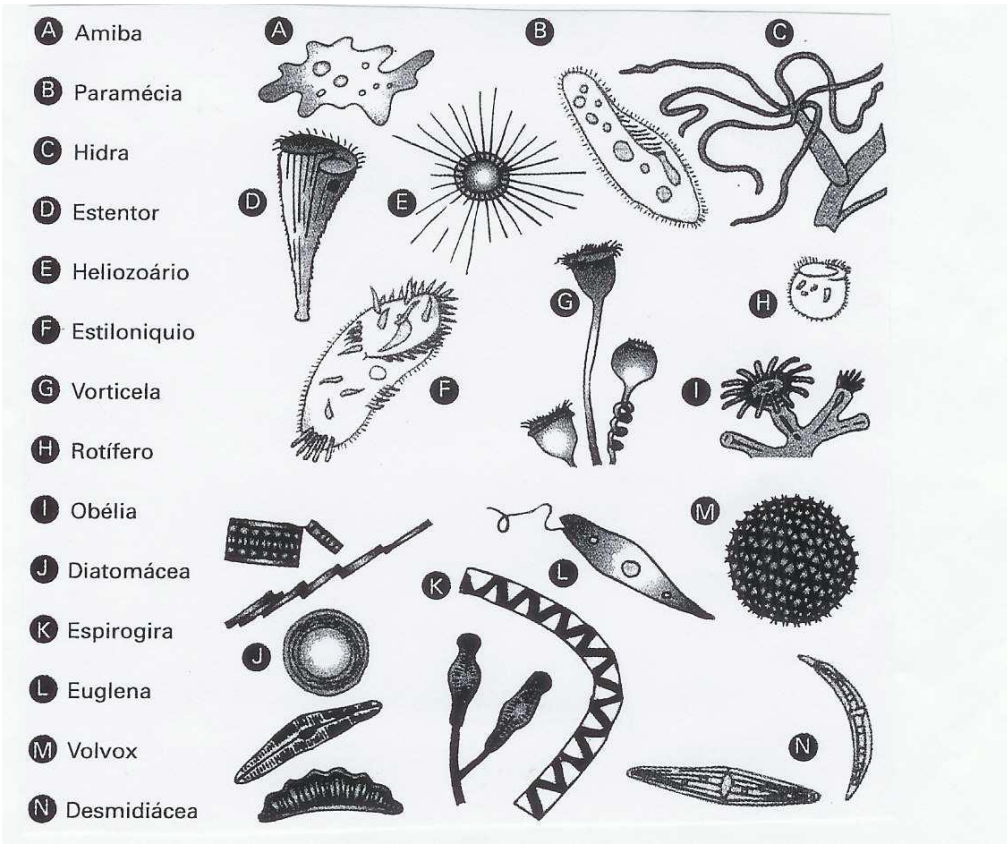


Figura 13 - Seres vivos visíveis ao microscópio óptico, frequentes em lagos e imfusões. (os seres vivos não estão desenhados à escala.

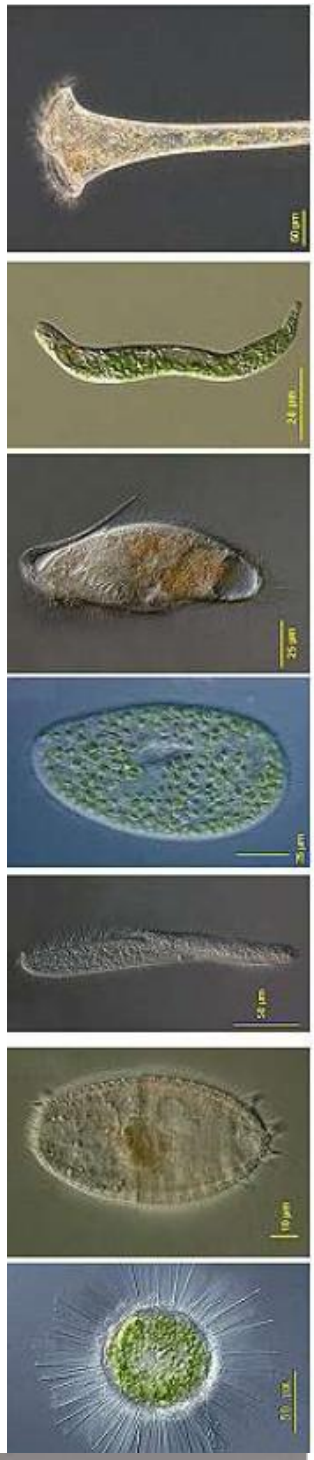


Fig.14 – Seres vivos numa gota de infusão, de cima para baixo: Stentor, Euglena, Metopus, Paramecium, Spirostomum, Coleps, Acanthocystis e Espirogira (Alga filamentosa).

Material

- Microscópio óptico
- Lâmina escavada
- Lamela
- Agulha de dissecação
- Pipeta Pasteur
- Papel de filtro
- Papel de limpeza
- Infusão de material biológico diverso

Procedimento

1. Com uma pipeta retira uma gota de água da cobertura gelatinosa da infusão.
2. Monta a gota de água entre a lâmina e lamela.
3. Observa ao microscópio usando a objectiva de menor ampliação e, posteriormente, a de maior ampliação.
4. Repete este procedimento para cada uma das infusões preparadas

Discussão

1. Representa através de esquemas os microrganismos que observaste.
2. Indica, para cada esquema, a ampliação utilizada.
3. Identifica, através de uma legenda, os constituintes celulares observados, tais como a membrana celular, o citoplasma, o núcleo e eventuais organelos locomotores como cílios e flagelos.
4. Tenta identificar os seres vivos que representaste.
5. Indica dois elementos comuns a todos estes os microrganismos.
6. Qual o microrganismo mais abundante na infusão?
7. Qual o microrganismo que existe em menor número?
8. O que podes concluir deste trabalho?
9. Elabora um relatório desta actividade laboratorial.

<u>T.L. 3</u> Observação microscópica de células da epiderme do bolbo da cebola (*Allium cepa*)

Introdução

As dimensões celulares, salvo algumas excepções, estão aquém do limite de resolução do olho humano. O recurso ao microscópio óptico permite a observação de alguns constituintes celulares em material de diferente proveniência.

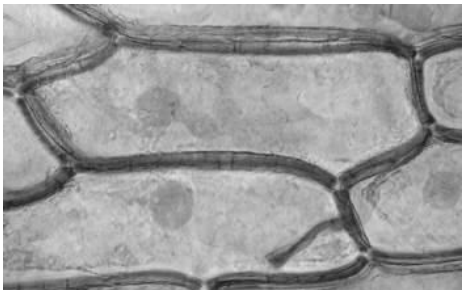


Figura 15 – Células da epiderme de *Allium cepa*, coradas com azul-de-metileno.

Material

- MOC
- Lâminas
- Lamelas
- Vidros de relógio
- Kit de dissecação
- Papel de filtro
- Azul de metileno
- Vermelho neutro
- Eosina
- Água destilada
- Cebola

Procedimento

1. Coloca numa lâmina uma gota de água destilada
2. Destaca um fragmento da epiderme da face côncava de uma túnica carnuda do bolbo da cebola.
3. Divide o fragmento em porções e coloca uma dessas porções, bem distendida, sobre a gota de água
4. Cobre cautelosamente o material com a lamela e observa ao MOC com várias ampliações.
5. Recorrendo à técnica de irrigação, cora a preparação com os diferentes corantes.

Discussão

1. Faz a representação esquemática das células com os pormenores que observas, utilizando a objectiva de maior ampliação.
2. Legenda o esquema, identificando as estruturas e os organelos celulares visíveis.

T.L. 4 Observação da célula eucariótica vegetal: observação de amiloplastos e cromoplastos

Introdução

Os plastos são organelos celulares com uma estrutura e função específica. A classificação destes organelos baseia-se na presença ou ausência de pigmentos. Os plastos incolores denominam-se leucoplastos. Em função do tipo de reserva acumulada, os leucoplastos recebem a denominação de amiloplastos (acumulam amido), oleoplastos (acumulam lipídios) e proteoplastos (acumulam proteínas). Os plastos pigmentosos designam-se por cromoplastos. Neste último grupo encontram-se os cloroplastos (plastos verdes). Para além dos cloroplastos, existem outros plastos que acumulam pigmentos de outras cores mas que não tomam designação própria. Estes pigmentos são moléculas de natureza lipídica, que lhes conferem uma cor amarela, alaranjada ou vermelha.

Material

- Microscópio óptico
- Lâmina
- Lamela
- Tesoura
- Pinça
- Agulha de dissecação
- Bisturi
- Conta-gotas
- Papel de filtro
- Papel de limpeza
- Solução de Ringer
- Solução de Lugol
- Tomate verde e maduro
- Batata
- Pimentão

Procedimento

A - Observação microscópica de cromoplastos em células do parênquima do tomate (Lycopersicon esculentum)

1. Com o bisturi retira uma pequena porção da polpa do tomate verde e monta uma preparação microscópica com o material obtido. Usa como meio de montagem uma gota de solução de Ringer.
2. Espalha o material biológico na preparação através da técnica do esmagamento
3. Observa a preparação ao microscópio, nas várias ampliações. Esquematiza e legenda as tuas observações.
4. Repete os passos 1,2 e 3 usando como material biológico a polpa de tomate maduro.

B - Observação microscópica de cromoplastos em células de pimentão (Capsicum annum)

5. Repete os passos 1,2 e 3 usando como material biológico o pimentão.

C - Observação microscópica de amiloplastos e grãos de amido na batata (*Solanum sp.*)

6. Repete os passos 1,2 e 3 usando como material biológico a batata.
7. Retira a preparação da platina e adiciona-lhe uma gota de solução de Lugol (método de irrigação).
8. Procede novamente à observação da preparação, nas várias ampliações. Esquematiza e legenda as tuas observações.

Nota: A solução de Lugol é um corante selectivo que evidencia os amiloplastos, o núcleo e a parede celular corando-os de roxo ou castanho.

Discussão

1. O que podes concluir a partir dos resultados obtidos?

T.L.5 Identificação de Glícidos

Introdução

Os glícidos, também conhecidos por glúcidos ou simplesmente açúcares, são moléculas orgânicas de estrutura variada. Os glícidos são compostos ternários, isto é, são constituídos por carbono, hidrogénio e oxigénio. Em função da sua complexidade os glícidos classificam-se como monossacarídeos, dissacarídeos, oligossacarídeos ou polissacarídeos. Um dos glícidos mais importantes na nossa alimentação é o amido, um polissacarídeo de glicose presente em órgãos vegetais. Em alguns alimentos está presente em grandes quantidades, sendo fácil de detectar. O soluto de lugol é um indicador utilizado em laboratório para identificar a presença de amido.

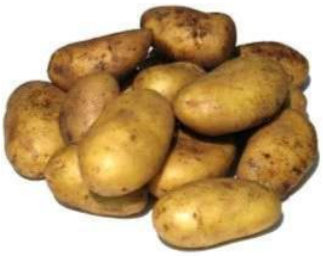


Figura 16 – A maioria dos glícidos estão contidos em alimentos de origem vegetal.

Material

- 2 tubos de ensaio
- Balança
- Papel de limpeza
- 8 Vidros de relógio
- Suporte de tubos de ensaio
- Vareta de vidro
- Água destilada
- Gobelé (200 ml)
- Espátula
- Solução de Lugol
- Placa de aquecimento
- Conta-gotas
- Amido em pó
- Alimentos variados (banana, batata, manga, pão, etc.)

Procedimento

A

1. Coloca num tubo de ensaio 5ml de água destilada e adiciona, com ajuda de uma espátula, um pouco de amido.
2. Agita o tubo e observa a suspensão formada.
3. Coloca o gobelé no prato da balança. Após estabilizar o seu peso efectua a «taragem» (a balança deverá indicar 0,000g).
4. Retira, com ajuda da espátula, 1 g de amido em pó para o gobelé.
5. De seguida, retira o gobelé da balança e perfaz um volume de 100 ml com água destilada.
6. Agita a suspensão com uma vareta de vidro e coloca-a sobre uma placa de aquecimento. A solução deve ferver até ficar límpida.
7. Deixa arrefecer.
8. Coloca 2 ml de solução de cozimento de amido num tubo de ensaio.
9. Adiciona à solução 2 a 3 gotas de solução de soluto de lugol. Observa e regista o resultado.

B

10. Coloca em cada vidro de relógio uma porção de alimento.
11. Adiciona uma gota de lugol a cada alimento. Observa e regista.

Discussão

1. Que conclusões podes retirar dos resultados obtidos?

T.L.6 Identificação de proteínas

Figura 17 – Alimentos ricos em prótidos.

Introdução

As proteínas são macromoléculas constituídas por uma ou mais cadeias polipeptídicas e apresentam uma estrutura tridimensional definida. A importância biológica das proteínas é enorme, pelo que devem estar sempre presentes na nossa alimentação. Que alimentos nos fornecem proteínas?

Material

- Tubos de ensaio
- Suporte para tubos de ensaio
- Varetas de vidro
- Pipetas
- Pompetes
- Pinças de madeira
- Vidro de relógio
- Lamparina
- Papel de Filtro
- Espátula
- Leite
- Sumo de laranja
- Sumo de batata
- Sulfato de cobre a 5%
- Hidróxido de potássio a50%
- Ácido Nítrico concentrado
- Hidróxido de Sódio concentrado
- Licor de Fehling
- Caneta de Acetato
- Soluto de Lugol
- Solução de Sudão III
- Sulfato de cobre anidro

Procedimento

Reacção do Biureto

1. Prepara 3 tubos de ensaio, marcando cada um deles com as letras A,B e C.
2. No tubo de ensaio A coloque 2mL de leite.
3. No tubo de ensaio B coloque 2 mL de sumo de laranja.
4. No tubo de ensaio C coloque 2 mL de sumo de batata.
5. A cada um dos tubos de ensaio adiciona 4 gotas da solução de sulfato de cobre a 5%.
6. Junta depois a cada um dos tubos de ensaio uma gota de hidróxido de potássio a 50%. Se houver proteínas esta solução passará de uma cor rosada a violeta forte.
7. Regista os resultados.

Reacção xantoproteica

8. Prepara 3 tubos de ensaio, marcando cada um deles com as letras A,B e C.
9. No tubo de ensaio A coloque 2mL de leite.
10. No tubo de ensaio B coloque 2 mL de sumo de laranja.
11. No tubo de ensaio C coloque 2 mL de sumo de batata.
12. Adiciona a cada tubo de ensaio uma ou duas gotas de ácido nítrico forte. Este composto na presença de proteínas adquire coloração amarela.
13. Adiciona a cada tubo de ensaio uma gota da solução de hidróxido de sódio concentrado. Este composto muda de amarelo para castanho alaranjado quando na presença de proteínas.
14. Regista os resultados.

Discussão

1. Que conclusões podes retirar dos resultados obtidos?

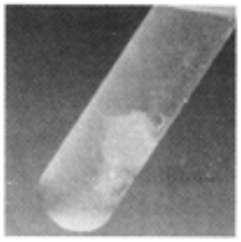
T.L.7 Extracção de DNA de células de cebola (*Allium cepa*)

Introdução

Toda a informação necessária para criar um organismo encontra-se no DNA. Esta molécula é usada durante o período de vida de um organismo para fornecer instruções para milhões de processos celulares que ocorrem constantemente.

Para estudar o modo como essas informações são comunicadas à célula os cientista isolaram o DNA. Para o isolar, os cientistas separaram-no dos outros componentes celulares. As células foram fragmentadas e o DNA separado do conteúdo lipídico das membranas da célula e dos organelos. Em seguida, o DNA foi separado das proteínas.

Este trabalho laboratorial usa um processo semelhante ao utilizado pelos cientistas quando começaram as primeiras investigações sobre DNA. Embora este protocolo não permita a separação do DNA de proteínas e de RNA, possibilita a visualização do conteúdo nuclear, sob a forma de filamentos brancos.



4 Extracto de DNA e de proteínas de células do bolbo da cebola.

Figura 18

Material

- Algodão
- Almofariz
- Balão Erlenmeyer
- Bisturi
- Funil
- Papel de filtro
- Proveta
- Tubos de ensaio
- Vareta
- Água
- Álcool refrigerado
- Detergente da louça (1 colher de sopa)
- Sal de cozinha (1 colher de chá)
- Cebola

Procedimento

1. Corta a cebola em pequenos fragmentos e coloque-os no almofariz.
2. Num balão Erlenmeyer com água até cerca de metade da altura, coloca o sal e o detergente. Agita suavemente a mistura durante cerca de 5 minutos.
3. Coloca cerca de metade da mistura obtida em 2 e triture no almofariz.
4. Filtra a mistura do almofariz para o Erlenmeyer. Utiliza o papel de filtro.
5. Filtra novamente o material contido no Erlenmeyer para uma proveta, utilizando o algodão.
6. Cuidadosamente, faz escorrer lentamente um pouco de álcool pelas paredes da proveta e procure observar a formação de duas fases: uma superior alcoólica e outra inferior aquosa.
7. Introduz uma vareta na proveta, e com movimentos circulares, procura misturar as duas fases. O DNA é insolúvel no álcool e precipita, formando uma massa filamentosa esbranquiçada que contém proteínas e outros materiais.

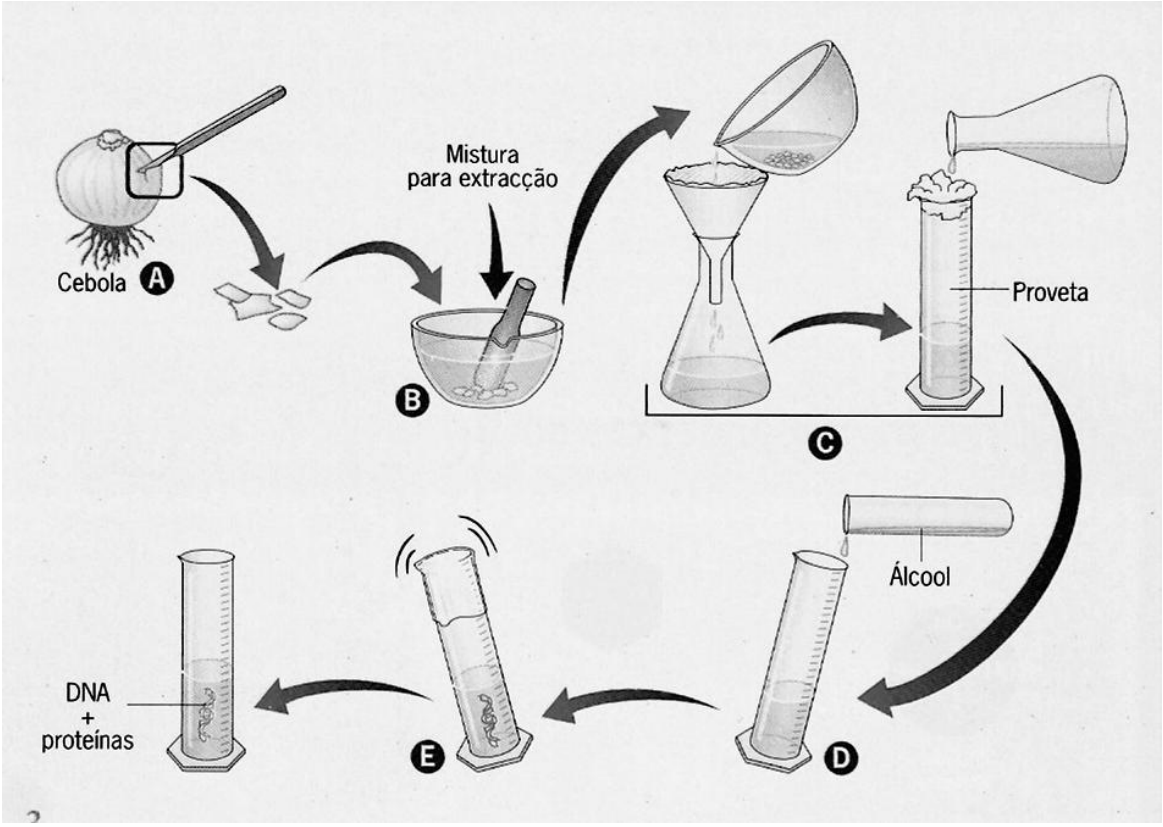


Figura 19 – Extracção de DNA de células de cebola (procedimento)

Discussão

1. Indica a função dos seguintes materiais/ reagentes:
   1.1. Sal.
   1.2. Detergente.
   1.3. Papel de filtro
   1.4. Álcool.

T.L. 8 Osmose em células vegetais

Introdução

A parede celulósica das células vegetais é permeável à água e às substâncias nela dissolvidas. A entrada dá-se principalmente para os vacúolos, que aumentam ou diminuem de volume conforme a concentração do meio que envolve as células.

Quando uma célula está rodeada por uma solução mais concentrada em solutos que a do vacúolo, a água sai desta para o exterior. A perda de água é responsável pela diminuição do volume do vacúolo e pela retracção do citoplasma, que apenas fica ligado à parede celular na zona dos plasmodesmos – célula plasmolisada (o fenómeno designa-se por plasmólise).

No caso da célula se encontrar rodeada por uma solução cuja concentração em solutos é aproximadamente igual à do vacúolo, esta não apresentará alteração.

Quando uma célula vegetal é colocada numa solução hipotónica, a água entra por osmose para o vacúolo. Este expande-se e empurra o citoplasma contra a parede celular – célula túrgida (o fenómeno designa-se por turgescência). Devido à acção da parede celular mão ocorre rebentamento das células.

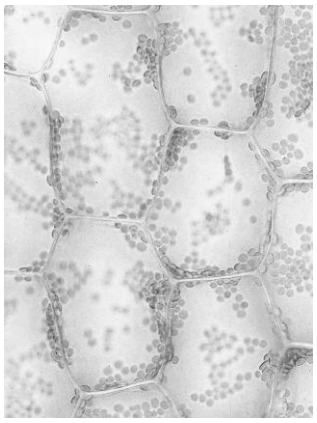


Figura 20 – Célula plasmolisada (A) e célula túrgida (B).

A B

Material

- MOC
- Lâmina
- Lamela
- Kit de dissecação
- Vidro de relógio
- Papel de filtro
- Marcadores
- Papel de limpeza
- Água destilada
- Solução de NaCl a 12%
- Flor colorida

Procedimento

1. Utilizando a pinça, destaca dois fragmentos da epiderme da página superior da flor.
2. Monta um dos fragmentos numa gota de água destilada, entre lâmina e lamela. Marca a lâmina com a letra A.
3. Monte outro fragmento entre lâmina e lamela numa gota de solução de NaCl a 12%. Marca a lâmina com a letra B.
4. Observa as duas preparações ao MOC e esquematiza as observações. Procura legendar os esquemas.
5. Coloca uma ou duas gotas de água destilada sobre a lâmina B, junto a um dos bordos laterais da lamela. Do lado oposto, com papel de filtro, absorve o líquido de montagem. Deste modo, substituirás a solução de NaCl por água destilada. Se necessário, repete o procedimento.
6. Observa durante alguns minutos e regista as alterações que vais notando.

Discussão

1. Considerando que a cor das pétalas é devida à presença de certos pigmentos dispersos no suco vacuolar, como interpretas as diferenças de coloração entre A e B?
2. Explica as alterações observadas em 6.

T.L. 9 Separação de pigmentos fotossintéticos por cromatografia em papel

Introdução

Os pigmentos fotossintéticos, moléculas capazes de absorver radiações luminosas, são essenciais para o processo fotossintético. A clorofila é um pigmento de cor verde, sintetizado pelas células dos seres fotossintéticos, fundamental para a captação da energia luminosa. Mas será este o único pigmento presente nas células dos seres que realizam a fotossíntese? Quais os pigmentos que existem nos cloroplastos? Vamos estudar estas questões no trabalho laboratorial que se segue.

Material

- Folhas
- Areia fina
- Tesoura
- Funil
- Vareta
- Placa de Petri
- Papel de filtro
- Álcool a 90%
- Almofariz

Procedimento

1. Corta as folhas em pedaços para dentro do almofariz. Junta areia e esmaga com o pilão.
2. Adiciona um pouco de álcool, agita com a vareta e filtra.
3. Verte o filtrado para uma caixa de Petri. Introduz nesse filtrado um rectângulo de papel de filtro dobrado em ângulo, como mostra a figura.
4. Após o procedimento, aguarda uns minutos. Observa o papel de filtro e regista as alterações sucedidas.

Figura 21 – Separação de pigmentos fotossintéticos no laboratório.

Discussão

1. Identifica os pigmentos fotossintéticos observados no papel de filtro.
2. Refere a principal função dos pigmentos fotossintéticos.
3. Explica a mudança de coloração das folhas quando estão prestes a cair das árvores.

T.L. 10 Fotossíntese e interferência de factores do meio ambiente

Introdução

Hoje em dia sabe-se que a taxa fotossintética depende de diversos factores internos (clorofila, enzimas, etc.) e externos (concentração de CO_2, luz, temperatura e humidade).
Os primeiros investigadores que estudaram a influência destes factores na actividade fotossintética tentaram determinar, para cada um, os valores mínimo, óptimo e máximo. Em 1905, Blackman introduziu o "princípio dos factores limitantes". Estes são a menor quantidade de um factor, entre vários, que determina o rendimento final de um processo, ou seja, o factor que por estar em quantidade m+inimoas limita o rendimento global do processo.
Apresentamos, de seguida, gráficos que resultaram de experiências que pretenderam demonstrar a influência de alguns factores sobre a taxa fotossintética.

Exercícios de aplicação

Analisa cuidadosamente os gráficos 2, 3 e 4.

1. Refere a razão por que se utilizam como indicadores da actividade fotossintética as quantidades de oxigénio libertado e de CO_2 absorvido.
2. Com base no gráfico 2, indica como varia a taxa fotossintética com a intensidade luminosa.
3. O gráfico 3 estabelece a variação fotossintética em função do CO2 presente no meio. O que podes inferir entre:
   3.1. A e B?
   3.2. B e C?
   3.3. C e D?
4. Relativamente ao gráfico 4:
   4.1. Indica o valor da temperatura para o qual a taxa fotossintética é mais elevada para as plantas X e Y.
   4.2. Prevê qual das duas plantas, X ou Y, se encontra em local com mais baixa intensidade luminosa. Justifica.
5. Comenta a afirmação seguinte. "A taxa fotossintética é diferente nas várias regiões do globo terrestre.".

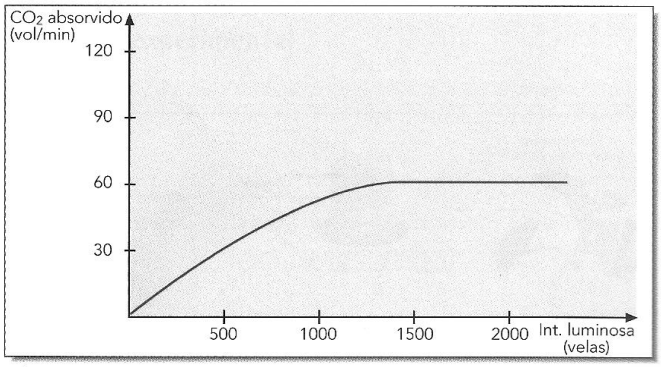


Gráfico 2: Relação entre a actividade fotossintética e a intensidade luminosa.

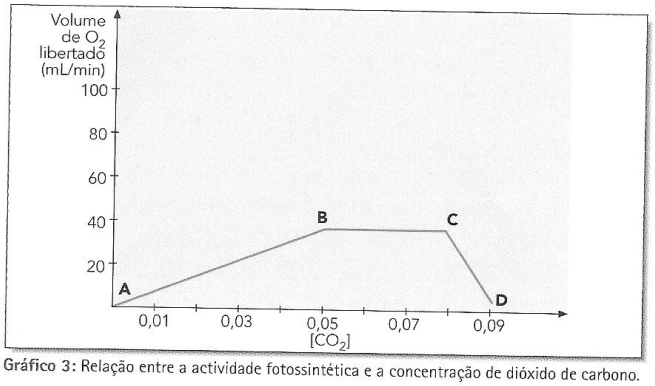


Gráfico 3: Relação entre a actividade fotossintética e a concentração de dióxido de carbono.

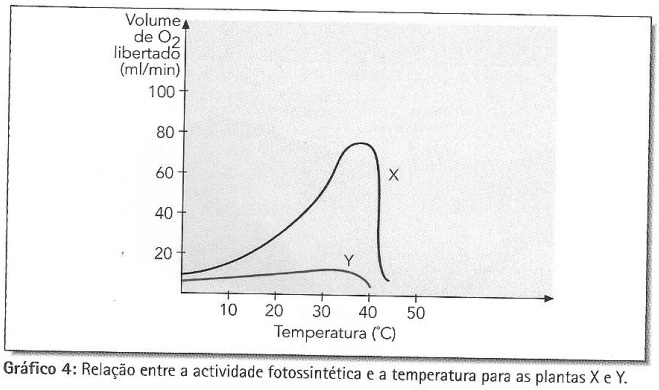


Gráfico 4: Relação entre a actividade fotossintética e a temperatura para as plantas X e Y.

Figura 22

T.L. 11 Mecanismo de abertura e fecho de estomas

Introdução

Os estomas são estruturas localizadas na epiderme das plantas. Estas estruturas permitem que as trocas gasosas se processem eficazmente e controlam a quantidade de gases absorvidos e libertados durante os processos biológicos: fotossíntese, respiração e transpiração.

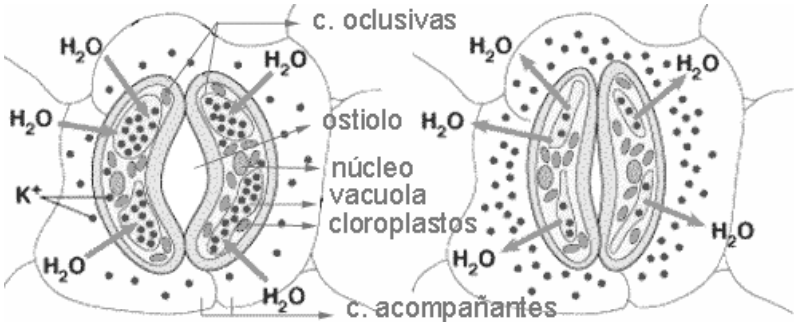


Figura 23 – Estoma aberto e estoma fechado

Esta actividade prática tem como objectivo observar o comportamento dos estomas em diferentes meios.

Material

- MOC
- Laminas
- Lamelas
- Kit de dissecação
- Vidro de relógio
- Solução de Ringer
- Solução saturada de cloreto de sódio
- Água destilada
- Alface

Procedimento

1. Faça uma preparação microscópica com um fragmento de epiderme do caule de alface utilizando solução de Ringer como meio de montagem.
2. Faça outra preparação microscópica com um fragmento de epiderme do caule de alface, utilizando como meio de montagem uma solução saturada de cloreto de sódio.
3. Monte uma terceira preparação microscópica com um fragmento de epiderme do caule de alface, utilizando água destilada como meio de montagem.
4. Observe ao microscópio as preparações que realizou.
5. Registe as suas observações.

Discussão:

1. Compare e comente as suas observações microscópicas realizadas com diferentes meios de montagem.
2. Relacione o mecanismo de abertura e fecho dos estomas com os diferentes meios de montagem utilizados.

T.L. 12 Ascensão de água nas plantas

Introdução

A sobrevivência das plantas no ambiente terrestre depende da sua capacidade para transportarem várias substâncias para dentro do seu organismo, através dele e para fora dele.
As plantas mais simples (plantas avasculares) não apresentam, tecidos condutores; o movimento de água efectua-se por osmose e as substâncias dissolvidas movimentam-se por difusão, célula a célula.
As plantas mais evoluídas (plantas vasculares) possuem estruturas especializadas no transporte de substâncias. Importa compreender como são transportados nas plantas vasculares a água e os sais minerais desde que são captados até ao local de produção de matéria orgânica.

Material

- Lupa binocular
- Flores de pétalas brancas
- Gobelés ou copos de vidro
- Corante alimentar de várias cores
- Água
- Tesoura

Procedimento

1. Faz um corte muito fino do caule de uma das flores com a lâmina e observa-o à lupa.
2. Coloca as flores nos gobelés, com soluções diluídas de corante alimentar.
3. Coloca as montagens num local iluminado e arejado e aguarda um dia.
4. Observa o aspecto das flores.
5. Repete o passo 1, utilizando o caule de uma flor corada.
6. Esquematiza as tuas observações.

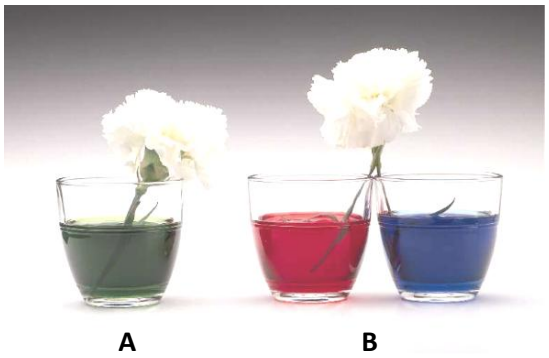


Figura 24 - Montagem experimental com uma possibilidade diferente à direita.

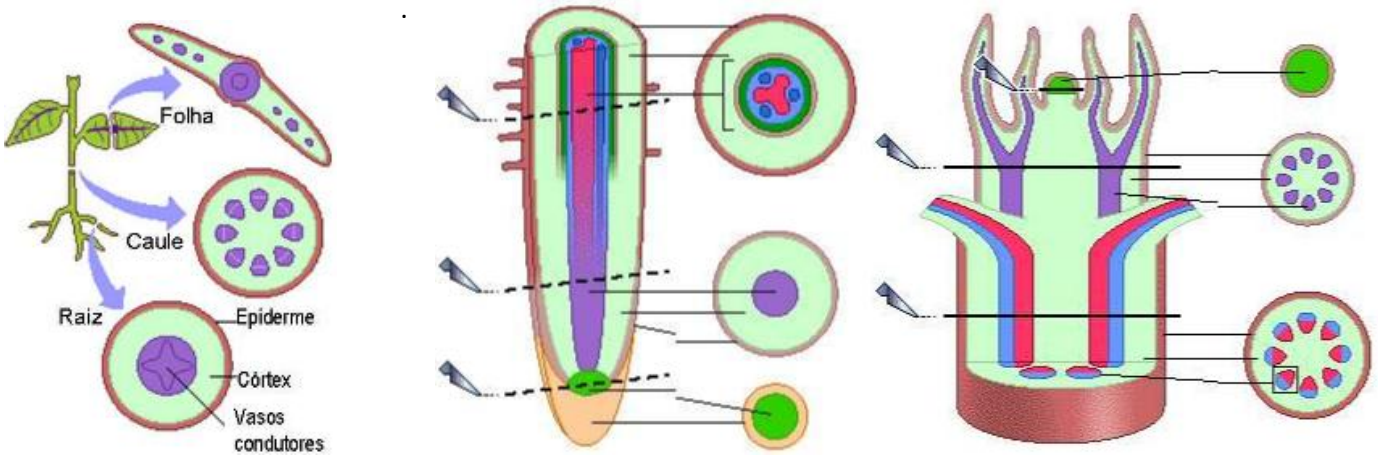
Discussão

1. Explica as diferenças verificadas entre A e B.
2. O que podes concluir a partir dos resultados desta experiência?

T.L. 13 Observação microscópica de tecidos condutores

Introdução

Os tecidos condutores têm continuidade em toda a planta, permitindo o transporte da seiva xilémica até às células e a distribuição da seiva floémica a todas as células vivas das plantas. Embora os diferentes órgãos da planta se encontrem os mesmos tipos básicos de tecidos condutores, estes tecidos podem não ocupar a mesma posição relativa e não apresentar o mesmo desenvolvimento. Utilizando órgãos de diferentes plantas podemos observar aspectos estruturais relacionados com o transporte.



Tecidos condutores | Raiz (extremidade) | Caule (extremidade)

Figura 25

Material

- MOC
- Lâminas e lamelas
- Lâmina
- Vidros de relógio
- Pinça
- Água destilada
- Lixívia
- Verde-Iodo
- Carmim aluminado
- Ácido acético 1%
- Folhas, raízes e caules herbáceos de diferentes plantas

Procedimento

1. Efectua cortes o mais finos possível dos órgãos a observar.
2. Utilizando uma pinça passa cuidadosamente os cortes, sucessivamente, por vidros de relógio com a) lixivia – 3 minutos; b) água destilada – 1 minuto; c) ácido acético 1% - 30 segundos; d) mistura de 10 partes de carmim e 1 parte de verde-iodo – 1 minuto.
3. Monta os melhores cortes entre lâmina e lamela, numa gota de água.
4. Observa ao microscópio, utilizando diferentes ampliações.
5. Esquematiza as tuas observações.
6. Identifica os feixes condutores (vasos xilémicos e floémicos) em cada uma das preparações.

Discussão

1. O que podes concluir acerca da localização dos tecidos condutores nas plantas observadas?

T.L. 14 Estudo da constituição do sangue: observação microscópica de preparação definitiva de esfregaço sanguíneo humano

Introdução

Nos animais superiores encontram-se dois fluidos circulantes, o sangue e a linfa. O sangue circula num sistema de vasos sanguíneos que integra artérias, arteríolas, capilares, vénulas e veias. Um Homem adulto, em boas condições de saúde, contém quatro a seis litros de sangue.

O sangue é um tecido constituído por elementos figurados (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas) que se encontram num meio denominado plasma (tabela 2). Este fluido desloca-se por todo o corpo, fazendo parte do sistema de transporte, e tendo como funções o transporte de gases, nutrientes, produtos de excreção, células, hormonas, anticorpos, enzimas, etc.

Componentes do plasma	% relativa	Funções
ÁGUA	91-92%	SOLVENTE
IÕES Sódio Potássio Cálcio Magnésio Cloro Bicarbonato	1-2%	Manutenção do pH Pressão osmótica
PROTEÍNAS Albumina Fibrinogénio Imunoglobulinas	7-8%	Reserva proteica Transporte de substâncias de defesa Coagulação
NUTRIENTES Glicose Aminoácidos Lípidos Vitaminas Etc. **RESÍDUOS** Amónia Ureia **GASES RESPIRATÓRIOS** Dióxido de carbono Oxigénio **HORMONAS**	1-2%	Manutenção do pH Pressão osmótica Regulação do metabolismo

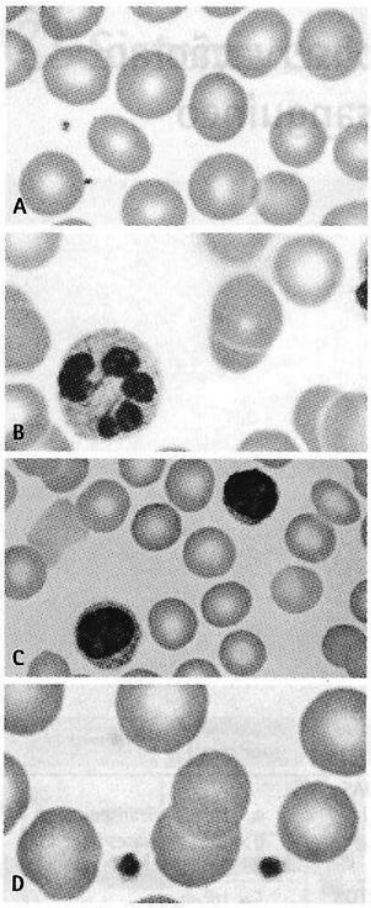
Elementos figurados	Abundância (por mm³)	Funções
HEMÁCIAS	4×10^6 6×10^3	Transporte de gases (O_2 e CO_2)
LEUCÓCITOS Agranulócitos	5×10^3 6×10^3	
Linfócito	1000–2700	Resposta imunitária (produção de anticorpos)
Monócito	150–720	Fagocitose
Granulócitos		
Basófilo	25–90	Resposta inflamatória Anticoagulante
Eosinófilo (acidófilo)	100–360	Fagocitose Reacções alérgicas
Neutrófilo	3000–6750	Fagocitose
PLAQUETAS	$2{,}5 \times 10^5$ 4×10^5	Coagulação

Tabela 2: Componentes do sangue humano, abundância e principais funções.

Os elementos do sangue são de três tipos:

1. Glóbulos vermelhos, eritrócitos ou hemácias (fig. 26 A)
   Células em dorma de disco bicôncavo e produzidas na medula óssea vermelha. No caso dos mamíferos não possuem núcleo, porque toda a célula e ocupada por uma proteína de cor vermelha – a hemoglobina – que possui átomos de ferro, onde o oxigénio e o dióxido de carbono se ligam durante o transporte.

2. Glóbulos brancos ou leucócitos (fig. 26 B e C)
   Células especializadas na defesa do organismo contra infecções, de dimensões superiores às das hemácias, que se caracterizam por possuírem núcleo de formas variadas e algumas podem ter granulações citoplasmáticas.
3. Plaquetas ou trombócitos (fig. 26 D)
   Fragmentos esféricos de células formadas na medula óssea, desprovidas de núcleo e outros organelos. Desempenham um papel fundamental na coagulação do sangue.



Microfotografias de sangue coradas pelo método de Giemsa.
A — Hemácias (× 1200).
B — Neutrófilos (× 1200).
C — Linfócitos (× 800).
D — Plaquetas (× 1600).

Figura 26

Material

- MOC
- Papel de limpeza
- Óleo de imersão
- Álcool
- Preparação definitiva de sangue de mamífero.

Procedimento

1. Observa a preparação definitiva de sangue de mamífero ao microscópio óptico nas várias ampliações.
2. Esquematiza o que observas e legenda.

Discussão:

1. Distingue os elementos figurados do sangue quanto a:
   a. Dimensão relativa;
   b. Ausência ou presença de núcleo;
   c. Forma do elemento figurado;
   d. Forma do núcleo;
   e. Abundância relativa.

T.L. 15 - A origem do iogurte

Introdução

O iogurte é desde há muito conhecido do Homem. Talvez desde o neolítico, altura em que3 começaram a domesticar os mamíferos, o iogurte tem vindo a ser reconhecido como benéfico para a saúde.

São vários os nomes associados à descoberta do iogurte, bem como à divulgação dos seus benefícios para a saúde. Diz a lenda que o iogurte surgiu pela primeira vez em França por volta do ano de 1954, numa época em que reinava o Rei Francisco I. por esta altura o rei estava a atravessar uma fase de grande depressão, para a qual os médicos não conseguiam proporcionar qualquer tipo de ajuda, uma vez que os sintomas que apresentava de tristeza e fraqueza eram pouco estudados nessa época. Um embaixador na Turquia fez então saber na corte que um médico judeu preparava em Constantinopla um leite de ovelha fermentado do qual se proclamavam maravilhas entre os turcos. Francisco I mandou chamar esse médico, que se negou a deslocar de outro modo que não fosse a pé. Atravessou toda a Europa Meridional, seguido do seu rebanho de ovelhas. Quando chegou por fim diante de Francisco I, a languidez do rei tinha-se transformado numa enorme impaciência. No entanto, ainda não se encontrava recuperado. Após várias semanas a alimentar-se de iogurte de ovelha, o soberano restabeleceu-se por completo.

Muito embora o consumo de iogurte tenha surtido efeitos benéficos na saúde do monarca, só anos mais tarde, bem no início do século XX, o iogurte foi alvo de estudo, por um microbiologista russo de nome Ilya Iliyich Metchnikov, galardoado em 1908 com o Prémio Nobel da Medicina. Metchnikov interessou-se desde muito cedo pelas condições de vida que provocam o envelhecimento precoce e empenhou-se particularmente no estudo da população búlgara. Naquela época, os povos Balcãs tinham um baixíssimo nível de vida, determinado pelo seu árido território, as contínuas invasões e dominações estrangeiras. Mas esta não era a sua característica marcante! Apesar da miséria, Metchnikov descobriu que, numa população com pouco mais de um milhão de habitantes, cerca de 1600 pessoas ultrapassavam os 100 anos de idade em óptimas condições de saúde, enquanto na América do Norte a proporção de pessoas com essa idade era de 11 em um milhão. Analisou então a alimentação dos búlgaros e descobriu que o iogurte era um dos componentes básicos, juntamente com o consumo de grandes quantidades de produtos hortícolas de cultivo próprio. Mais tarde, atribuiu ao iogurte a causa dessa longevidade, tendo descoberto que continha bactérias capazes de converter o açúcar do leite – a lactose – em ácido láctico.

De facto, Metchnikov isolou o bacilo, tendo dedicado todos os esforços a estudar as propriedades deste microrganismo, a que chamou *Bacilus bulgaricus*, mais tarde denominado *Lactobacilos bulgaricus*. Esta bactéria, juntamente com o *Streptococus thermophilus*, origina o iogurte tradicional.

Pais & Filhos, Dossier Alimentação, 2002-2003

Exercícios de aplicação

1. Relativamente ao aparecimento do iogurte em França, refere:
   1.1. Em que ano ocorreu.
   1.2. Qual o motivo que conduziu à sua introdução.
   1.3. Quem foi o responsável por trazê-lo para esse país.
2. No século XX retomou-se o estudo do iogurte.
   2.1. Quem foi o cientista que o estudou?
   2.2. Qual o motivo que despertou o interesse sobre o iogurte?
   2.3. Transcreve a descoberta relacionada com este alimento.
3. O iogurte tradicional é o produto da fermentação do leite por dois microrganismos.
   3.1. Refere, justificando, se esses seres vivos são benéficos ou prejudiciais.
   3.2. Transcreve o nome desses microrganismos.

<u>TLB 16</u> Observação de células procarióticas: observação microscópica das bactérias do iogurte (*Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococus termophilus*)

Introdução

O iogurte que comemos é, na realidade, um alimento que contém microrganismos vivos. Num único iogurte vivem milhões e milhões de seres vivos microscópicos. Os microrganismos existentes no iogurte são bactérias.

As bactérias mobilizam energia através da fermentação em condições de anaerobiose. As lactobactérias do iogurte designam-se *Lactobacillus bulgaricus e Streptococcus termophilus*. Podemos observar estes microrganismos ao MOC.

Figura 27 – Bactérias do iogurte.

Para saber mais...

As bactérias podem apresentar-se isoladas, com formas muito distintas:

- Cocos (esféricos);
- Bacilos (forma de bastonete);
- Vibriões (forma de agulha);
- Espirilos (espiralados).

Em colónias, podemos encontrar diplococos, estreptococos ou estafilococos.

Material

- Microscópio óptico
- Lâmina e lamelas
- Ansa de inoculação
- Varetas de vidro
- Água destilada
- Papel de limpeza
- Violeta de genciana ou azul-de-metileno
- Álcool
- Óleo de imersão
- Iogurte

Procedimento

1. Coloca uma gota de água destilada numa lâmina
2. Com a ansa de inoculação retira uma pequena porção de iogurte e coloca-a sobre uma gota de água. Aplica a técnica do esfregaço e espalha o iogurte sobre a lâmina.
3. Seca levemente na chama da lamparina o esfregaço efectuado (recorda os cuidados a ter no manuseamento da chama).
4. Coloca sobre o esfregaço duas a quatro gotas de álcool para retirar o excesso da gordura.
5. Deixa secar o esfregaço ao ar durante alguns minutos.
6. Coloca a lâmina na tina de coloração sobre duas varetas de vidro e tapa completamente o esfregaço com o corante. Deixa o corante actuar durante 20 a 60 segundos (se utilizares o azul-de-metileno deixa actuar durante 1 a 2 minutos).
7. Após o tempo de coloração retira o corante do esfregaço por imersão em água.
8. Deixar secar o esfregaço ao ar.

9. Observa ao microscópio óptico com as várias objectivas. Depois de fazeres observações nas menores ampliações, utiliza a objectiva de imersão. Para tal deves colocar uma gota de óleo de imersão sobre o esfregaço e seguidamente observa com a objectiva de maior ampliação (100x).
10. Esquematiza as tuas observações.

Discussão

1. Identifica os microrganismos que observaste.
2. Caracteriza os microrganismos presentes no iogurte em função do seu tamanho, forma e abundância relativa.
3. O iogurte, apesar de conter milhões de bactérias, é utilizado na alimentação humana. Justifica este facto.
4. Como explicas a formação de iogurte a partir do leite?

TLB 17 Observação de células procarióticas: observação microscópica das bactérias do vinagre (*Acetobacter aceti*)

Introdução

A transformação de vinho em vinagre deve-se a um processo de fermentação – fermentação acética – em que actuam bactérias, sendo a *Acetobacter aceti* uma das espécies mais comuns. Estas bactérias podem observar-se microscopicamente na película que se forma à superfície do vinho quando este está exposto ao ar.

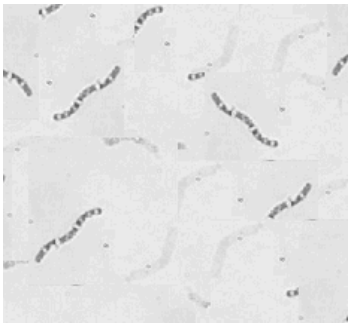


Figura 28 - Bactérias do vinho.

Material

- Microscópio óptico
- Lâminas
- Ansa de inoculação
- Lamparina
- Conta-gotas
- Pano
- Frasco lavador
- Papel de limpeza
- Violeta de genciana ou azul-de-metileno
- Película de vinho fermentado

Procedimento

1. Retira com uma ansa de inoculação uma pequena porção de película que se forma na superfície do vinho
2. Preparar um esfregaço.
3. Repete todas as operações efectuadas no trabalho experimental anterior, excepto o passo 4 (operação de desengorduramento).
4. Observa ao microscópio óptico, com a objectiva de menor ampliação. Coloca uma gota de óleo de imersão e observa com a objectiva de imersão (100x)
5. Faz um esquema do que observares.

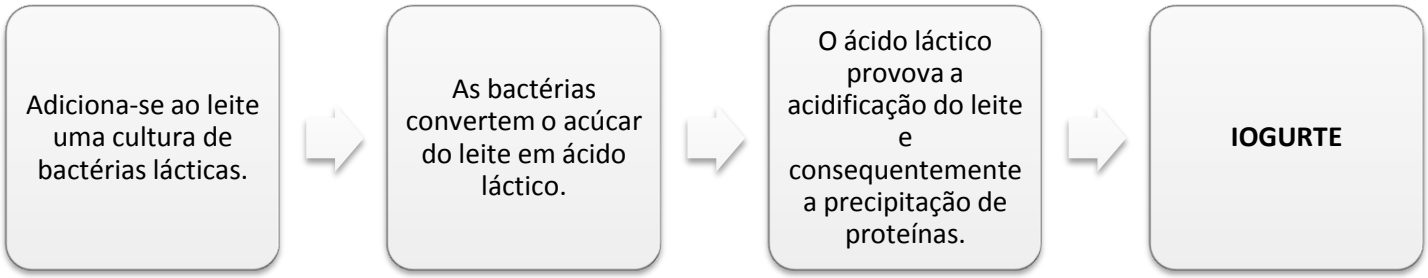
Discussão

1. Identifica os microrganismos que observaste.
2. Caracteriza os microrganismos presentes no vinho em função do seu tamanho, forma e abundância.
3. Como explicas a formação de vinagre a partir do vinho?

TLB 18 – Produção de iogurte

Introdução

As bactérias lácticas presentes no leite, ou porque pertencem à microflora do leite (contaminação que pode ocorrer durante a ordenha, devido, por exemplo, ao uso de utensílios contaminados), quando este não experimentou pasteurização prévia, ou por terem sido adicionadas ao leite pasteurizado.
Podem ser usados diferentes tipos de leite para fabricar iogurte, o que afecta as características finais do produto em termos de consistência, aroma e sabor. Na fermentação intervêm bactérias lácticas, *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococus termophilus*. Os iogurtes aromatizados são fabricados de forma idêntica à dos iogurtes tradicionais, adicionando-se o componente responsável pelo aroma. É fácil fazer iogurte em casa, utilizando pouco material.



Material

- Leite (1L)
- Iogurte natural (175g)
- Dois recipientes, um deles com tampa
- Frascos pequenos
- Estufa ou iogurteira
- Espátulas

Procedimento

1. Coloque um litro de leite num recipiente e adicione cerca de 175g de iogurte natural. Mexa durante alguns segundos até a mistura ficar homogénea.
2. Encha pequenos frascos com o conteúdo obtido e feche-os bem (um baixo conteúdo de ar nos frascos garante uma melhor conservação).
3. Coloque os frascos dentro de um recipiente com tampa e introduza-os numa estufa a uma temperatura de cerca de 40°C a 45°C, durante 12 horas, aproximadamente. Pode também utilizar-se uma iogurteira.
4. Retire os frascos da estufa e coloque-os num frigorífico a uma temperatura de 4°C a 5°C. Decorrida cerca de uma hora, a mistura deve apresentar-se espessa.
5. Coloque rótulos nos frascos, indicando a data de fabrico e a validade (o iogurte apresenta um pH próximo de 4,5, o que permite um tempo médio de conservação no frigorífico de 15 a 30 dias, a cerca de 4°C a 5°C).

Discussão

1. Qual a importância de, na etapa inicial da actividade, se adicionar ao leite iogurte já confeccionado?
2. Se for utilizado leite do dia para fazer iogurte, este leite tem de ser previamente fervido. Que explicação sugere para este procedimento?
3. Planifique uma experiência para testar a influência da temperatura no fabrico do iogurte.

TLB 19 – Respiração celular em tecidos vegetais

Introdução

A observação e quantificação das trocas gasosas em células ou tecidos permitem estudar o processo de respiração celular. Assim, utilizando substâncias como indicadoras da presença ou ausência de CO_2 ou O_2, como indicadores de oxirredução, podemos obter uma informação, ainda que qualitativa, da existência daquele processo em tecidos animais ou vegetais metabolicamente activos. O azul-de-metileno é um indicador de oxirredução que na sua forma oxidada tem cor azul e na sua forma reduzida fica incolor, o que acontece quando o O_2 é consumido.

Material

- Kit de dissecação
- 4 Gobelés de 25 cm^3
- 1 Pipeta de 1cm^3
- Papel de limpeza
- Placa de aquecimento
- Solução de Ringer
- Solução de azul-de-metileno
- Óleo vegetal
- Material biológico (matabala, cenoura)

Procedimento

6. Descasca dois pedaços do material biológico escolhido.
7. Submete um dos lotes a uma longa ebulição (vinte minutos).
8. Numera os gobelés de 1 a 3.
9. Coloca em cada um dos copos 10 cm^3 de solução de Ringer.
10. Adiciona a cada copo, 1cm^3 de solução de azul-de-metileno.
11. Ao copo 1 adiciona uma porção de matabala ou cenoura, de forma a que os fragmentos fiquem cobertos pela solução de Ringer.
12. Ao copo 2 adiciona o mesmo tipo de material biológico submetido a ebulição.
13. Deita em todos os copos um pouco de óleo para formar uma camada isoladora à superfície.
14. Regista a cor da solução nos três copos no início da experiência.
15. Observa e regista a cor da solução nos 3 copos ao fim de uma hora.

Discussão

4. Como explicas os resultados da experiência?
5. Por que razão se preparou o gobelé 3?
6. Por que razão se deve adicionar uma camada de óleo aos gobelés, nesta experiência?

Relatório Científico

"Como parte integrante do trabalho laboratorial surge o relatório científico, como instrumento de registo das diferentes fases do trabalho e de comunicação aos outros de todo o trabalho desenvolvido. Assim, torna-se necessário proporcionar-te algumas normas para a elaboração desses relatórios que, não sendo rígidas, servem como linhas orientadoras para a redacção dos mesmos."

Marques *et al.*, 1999

De uma maneira geral, as partes constituintes de um relato científico são as seguintes: capa, introdução, material, procedimento experimental, resultados, discussão, conclusão e bibliografia.

Capa

Esta deve incluir:

- O título completo, que deve ser curto e dar uma indicação clara da intenção do trabalho;
- Nome do(s) autore(s);
- Nome da escola onde o trabalho foi realizado;
- Data em que o relatório foi concluído.

Introdução

Esta secção deve incluir, de uma forma sumária, o problema em estudo enquadrado no conhecimento existente (resultado de pesquisa bibliográfica), a justificação do seu estudo e a definição dos objectivos a alcançar.

Procedimento experimental

Inclui o material utilizado e a descrição dos vários passos da experiência. Deve conter elementos suficientes para assegurar que a repetição do trabalho, por alguém com experiência na mesma área, leve à obtenção de resultados semelhantes. Deve redigir-se na terceira pessoa do singular do pretérito perfeito.

Resultados

As observações e resultados experimentais são registados nesta secção com clareza, sob a forma de esquemas, quadros, gráficos, tabelas, etc. Deve descrever-se pormenorizadamente e sem comentários interpretativos os ensaios bem sucedidos e/ou tentativa infrutíferas que podem ocorrer em qualquer trabalho laboratorial.

Discussão

Nesta secção o autor analisa os seus resultados, compara-os com outros obtidos noutras investigações e formula hipóteses para futuros trabalhos. É aqui que o relatório perde o carácter impessoal, podendo reflectir a opinião do autor.

Conclusão

Esta secção constitui uma síntese da discussão dos resultados obtidos, em relação aos objectivos iniciais. Deve considerar se o problema ficou ou não esclarecido.

Referências bibliográficas

Esta secção consiste na enumeração da lista de todo o material consultado ou, de preferência, apenas o material bibliográfico referido no texto (trabalhos, artigos ou livros).

Exemplo: FERREIRA, A. M.; QUINTAS, C.; BRAZ. N. R.; PALMA, S. C.- *No Laboratório, Bloco* 7. Porto; Areal Editores, 1994.

Na redacção de um relatório deve ter-se cuidado na escolha do vocabulário e no cumprimento das regras gramaticais. A linguagem científica deve ser objectiva, precisa e isenta de ambiguidade.

Para saber mais, consulta
http://www.esab.ipbeja.pt/conselho_pedagogico/documentos/Normas_referencias_bibliograficas.doc.

Apontamentos baseados nos livros

Marques, E., Soares, R., Almeida, C. (1999). *Técnicas Laboratoriais de Biologia Bloco I*. Porto: Porto Editora.
Soares, R., Almeida, C., Serra, L. (2000). *Técnicas Laboratoriais de Biologia Bloco II*. Porto: Porto Editora.
Silva, A. D., Mesquita, A. F., Gramaxo, F., Santos, M. E., Baldaia, L. & Félix, J. M. (2007). *Terra Universo de Vida 2ª Parte Biologia 10|11 (ano1)*. Porto: Porto Editora.
Matias, O., Martins, P. (2007).Biologia 10/11, Biologia e Geologia 10/11. Porto: Areal Editores.
Motta, L., Viana, M. (2004).Bioterra – Viver Melhor na Terra. Porto: Porto Editora.

Sítios da internet

http://netexplica.com
http://labbioeducacaoambiental.blogspot.com