TEXTO DE APOIO PARA OS ALUNOS

11ª ou 12ª 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

T.L. 1 Extracção de DNA de células de cebola (*Allium cepa*) 3
T.L. 2 Construção de um molde de DNA 5
T.L. 3 Estudo do processo responsável pelo crescimento das células – Mitose 7
T.L. 4 Estratégias de reprodução assexuada 8
T.L.5 Como se processa a meiose? 10
T.L. 6 Como ocorre a reprodução sexuada nas plantas com flor? 11
T. L. 7 Cariótipo Humano 12
T.L. 8 Transmissão genética, um jogo de sorte? - Simulação da 1ª Lei de Mendel 14
T.L.9 Árvore genealógica da família 15
T.L. 10 Vírus e bactérias 16
T.L. 11 Como pode testar-se a presença de bactérias em objectos que utilizamos frequentemente? 20
T.L. 12 Observação de seres procariontes – Como distinguir bactérias Gram de bactérias Gram-negativo 22
T.L.13 Colheita, montagem, preservação e identificação de insectos 24
Bibliografia 33

Trabalhos Laboratoriais

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.

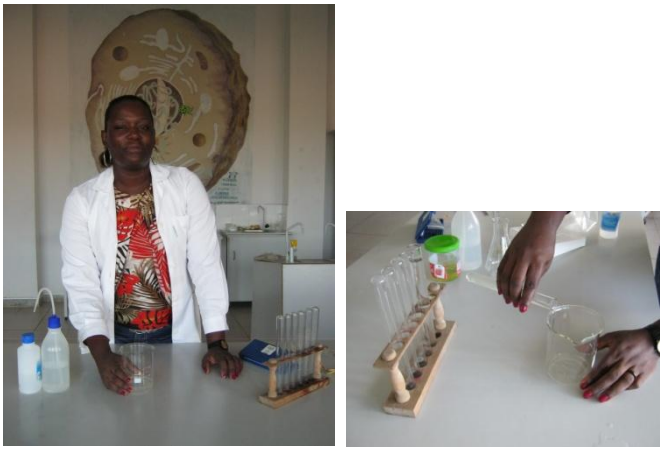


Figura 1 - Os Biólogos realizam muitos estudos científicos nos laboratórios de Biologia.

<u>T.L. 1</u> 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.

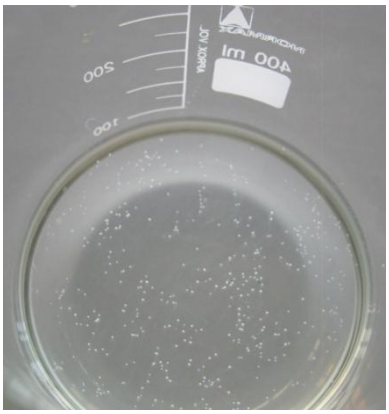


Figura 2- DNA de células de cebola

Material

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

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.

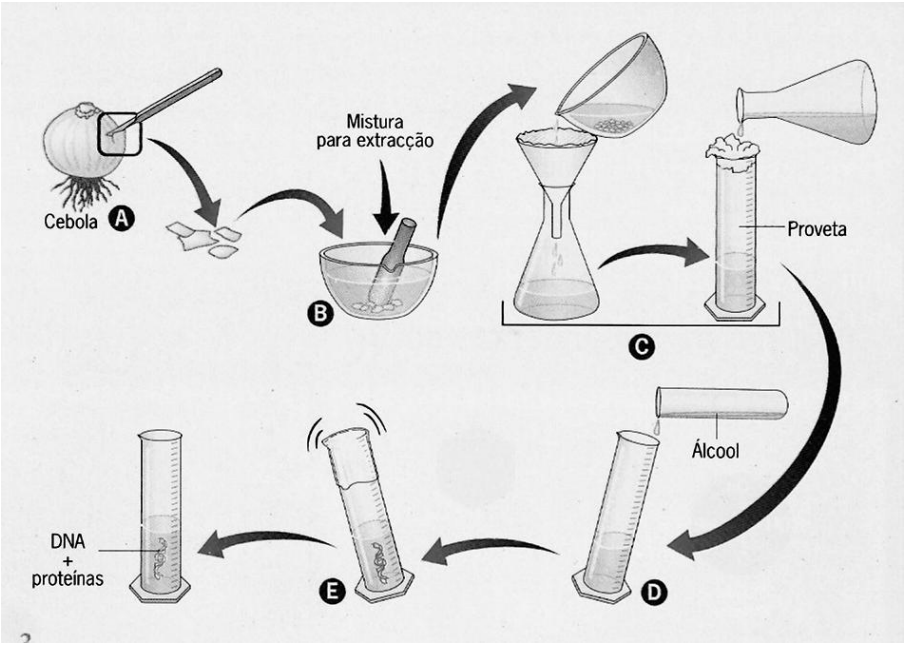


Figura 3 – Extracção de DNA de células de cebola (procedimento)

Discussão

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

<u>T.L. 2</u> Construção de um molde de DNA

Introdução

A construção de modelos é uma das técnicas utilizadas pelos cientistas para a compreensão de certas estruturas. Watson e Crick também construíram vários modelos no âmbito dos estudos que efectuaram.

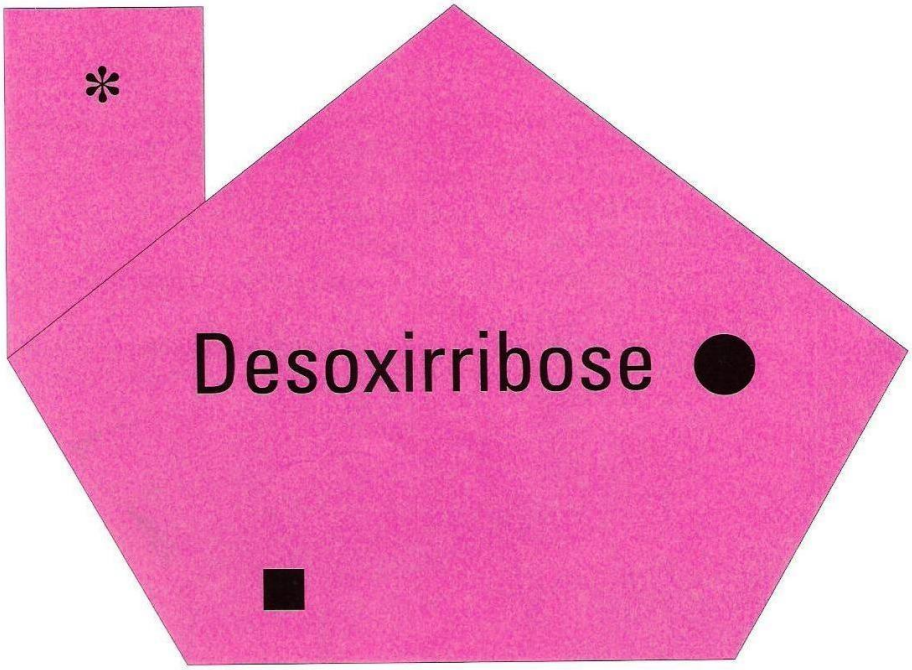
Material

Tesoura
Cola
Materiais reciclados
Materais de papelaria variados

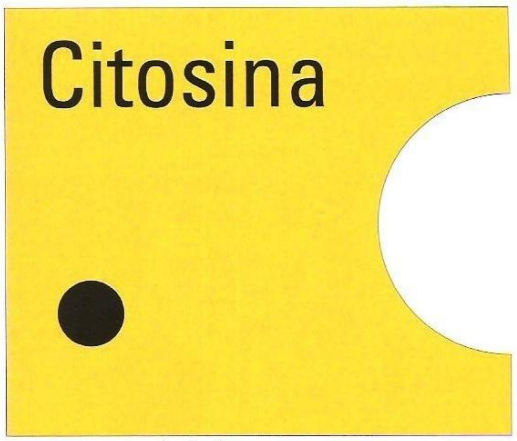
Procedimento

1. Aplicando os conhecimentos que já possuis sobre a molécula de DNA elabora modelos relativos à estrutura e replicação desta molécula. Utiliza várias cópias das peças da figura 1.
   Repara que nos diferentes componentes existem pequenos desenhos que podem ajudar no processo de colagem das diferentes peças. Podes associar outros materiais como cartolinas, papéis de lustro, tubos, materiais reciclados,… Sê criativo!
2. Elabora um relatório desta actividade (deves incluir a planificação do trabalho, as diferentes fases do procedimento e a apresentação de conclusões).

Grupo fosfato.

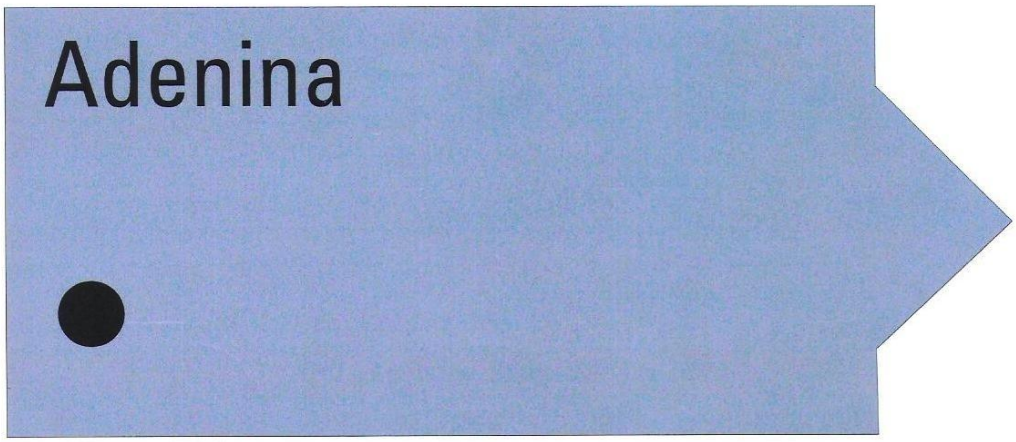


Pentose – desoxirribose.

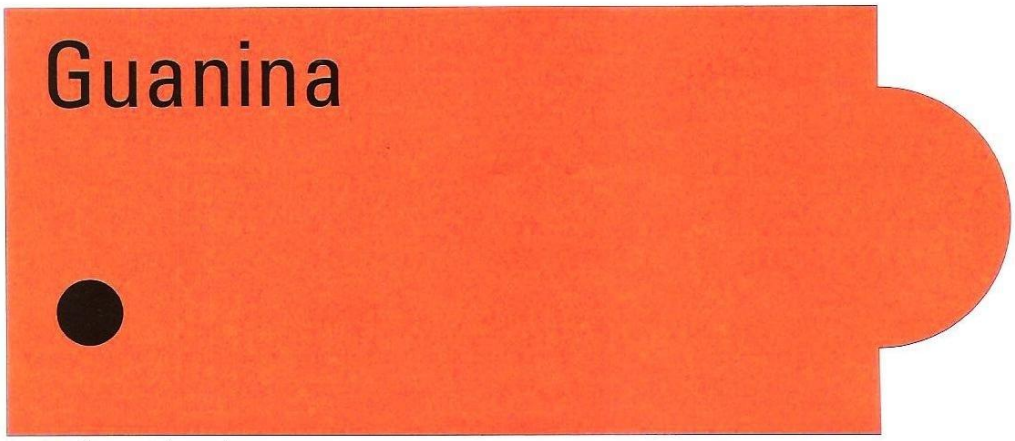


Base azotada citosina.

Base azotada timina.



Base azotada adenina.



Base azotada guanina.

Figura 4

<u>T.L. 3</u> Estudo do processo responsável pelo crescimento das células – Mitose

Introdução

O crescimento das plantas envolve o incremento quantitativo do número e do tamanho das células, bem como uma diferenciação dos tipos celulares. O aumento do número de células do corpo da planta ocorre por divisão celular, nomeadamente por mitose. As células em divisão passam uma sequência regular de eventos designados por divisão celular.

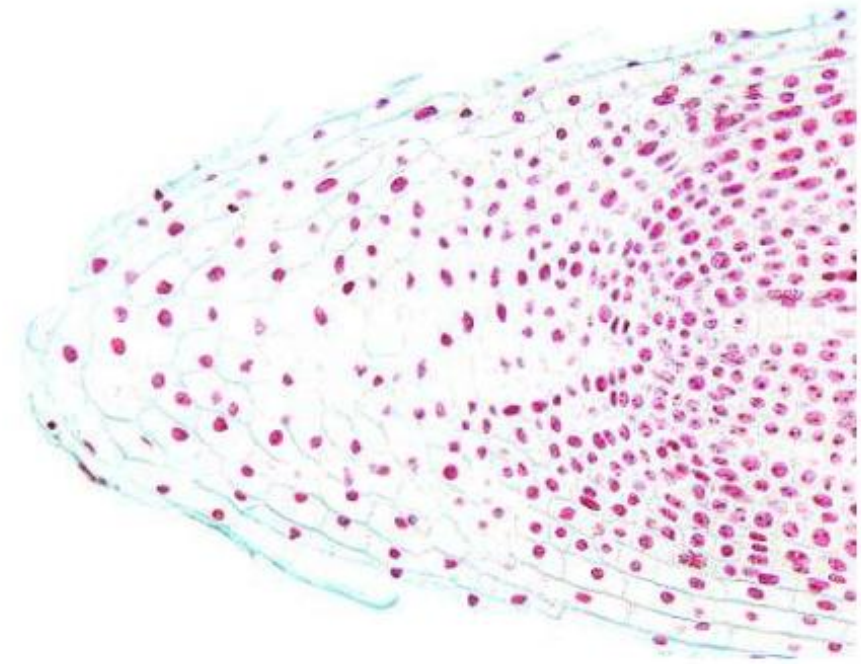


Figura 5 - Extremidade de uma raiz ao MOC.as extremidades das raízes são zonas de intendo crescimento, sendo possível observar inúmeras células em divisão.

Material

- Microscópio óptico
- Lâminas
- Lamelas
- Tesoura
- Bisturi
- Pinça
- Conta-gotas
- Agulha de dissecação
- Vidro de relógio
- Papel de filtro
- Papel de limpeza
- Frasco lavador
- Carmim acético ou orceína acética
- Óleo de imersão
- Álcool
- Ápices radiculares de cebola

Procedimento

1. Corta aproximadamente 1 cm da extremidade do ápice radicular da cebola e coloca-o num vidro de relógio.
2. Coloca duas gotas de carmim acético no centro da lâmina
3. Coloca o ápice radicular, com a pinça, sobre as gotas de carmim acético.
4. Dissocia o ápice radicular com duas agulhas de dissecação e aguarda um minuto. De seguida, cobre com a lamela o material dissociado.
5. Retira o excesso de corante da preparação com papel de filtro.
6. Observa a preparação ao microscópio óptico. Se necessário recorre à objectiva de imersão.
7. Repete os procedimentos anteriores utilizando, desta vez, uma região localizada a 4 cm da extremidade radicular

Discussão

Esquematiza e identifica as fases da mitose.

T.L. 4 Estratégias de reprodução assexuada

Introdução

Os seres procariontes e a maioria dos seres unicelulares podem reproduzir-se assexuadamente. Este tipo de reprodução ocorre também em muitos seres pluricelulares. Neste trabalho laboratorial poderás estudar a forma de reprodução em três seres vivos de diferente complexidade: em leveduras, no bolor do pão e em plantas.

I. Em leveduras

Material

- Suspensão de leveduras
- Lâminas e lamelas
- Conta-gotas
- Microscópio óptico

Modo de proceder

1. Prepara uma suspensão de leveduras: juntar 20 g de fermento de padeiro a 200 ml de água destilada; deixar repousar durante 48 horas em local quente e arejado.
2. Retira uma gota de uma suspensão de leveduras, previamente preparada, e monte entre lâmina e a lamela.
3. Observa ao microscópio e, percorrendo a preparação, procure leveduras em divisão.
4. Regista num esquema o que observaste.

II. No Bolor do Pão

Material

- Pão com bolor
- Água
- Tesoura
- Pinça
- Agulha de dissecação
- Pincel
- Lâminas e lamelas
- Lupa binocular ou microscópio óptico
- Placa de Petri

Modo de proceder

1. Prepara o bolor do pão: colocar numa placa Petri pão humedecido durante 24 horas; fechar e colocar num local húmido durante uns dias, até serem visíveis filamentos escuros.
2. Recolhe, com uma pinça, alguns filamentos verticais observáveis à vista desarmada.
3. Observa à lupa binocular ou ao microscópio essas estruturas.
4. Regista o que observas num esquema.
5. Pressiona cuidadosamente a lamela, observa ao microscópio e regista.

6. Retira com um pincel algumas das estruturas observadas em 4 e dispõe esse material sobre pão colocado previamente numa placa de Petri.
7. Coloque a placa de Petri fechada num local sem luz directa.
8. Passado alguns dias, regista o que observas.

II. Em plantas

Material

- Pequenos ramos de plantas herbáceas (por exemplo sardinheiras) ou folhas (begónias ou violetas-africanas)
- Água
- Pó de enraizamento
- Solo
- Recipiente rectangular ou pequenos vasos
- Tesoura
- Placa de vidro para cobrir o recipiente
- Regador

Modo de proceder

1. Humedece a extremidade inferior de fragmentos de plantas.
2. Passa essa extremidade pelo pó de enraizamento e sacode o excesso.
3. Introduz as extremidades já preparadas em recipientes com solo.
4. Rega e cobre com uma placa de vidro.
5. Observa semanalmente e, se necessário, rega para manter o solo húmido.
6. Regista os resultados.
7. Após um certo desenvolvimento, podes transplantar as plantas.

Discussão

1. O que há de comum nos diferentes processos observados?
2. Em que diferem?

<u>T.L.5</u> Como se processa a meiose?

Introdução

A meiose é o processo de divisão nuclear através do qual, a partir de uma célula com núcleo diplóide, se podem formar células com núcleo haplóide. Estes núcleos possuem metade do número de cromossomas do núcleo inicial, possuindo um só cromossoma e cada par de homólogos.

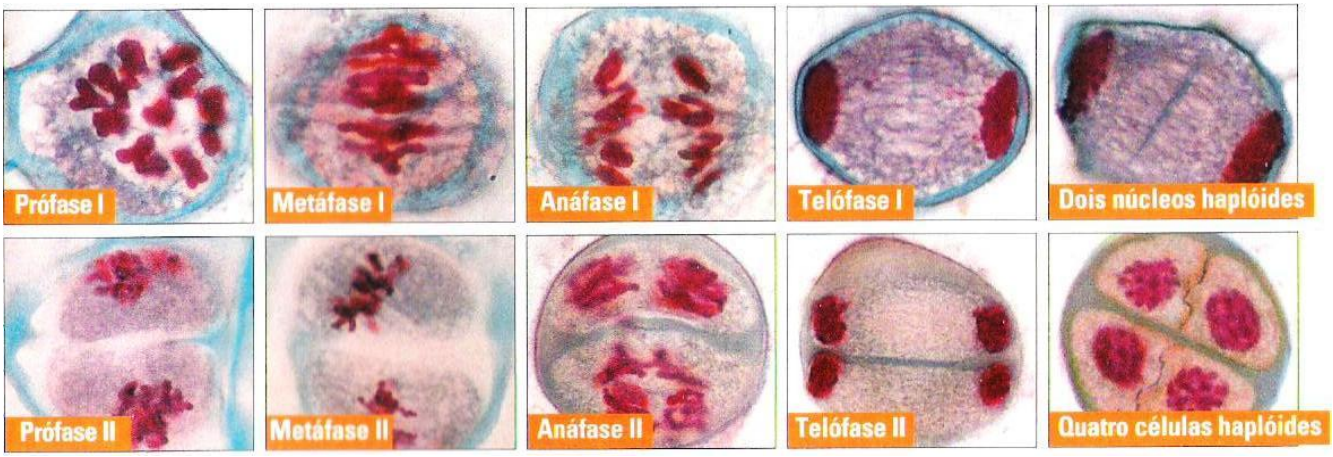


Figura 6 – Etapas da meiose.

Procedimento

1. Retira, com uma pinça e tesoura, um estame de uma flor ainda em botão e destaca uma antera.
2. Coloca uma gota de carmim acético numa lâmina e mergulha nela a antera.
3. Dissocia a antera com duas agulhas de dissecção. Elimina os fragmentos maiores.
4. Passa a preparação pela chama de uma lamparina de álcool rapidamente, sem que o corante ferva.
5. Coloca a lamela e, se necessário, junta mais corante.
6. Observa a preparação ao microscópio, com pequena e média ampliação, percorrendo-a com cuidado, de modo a identificar diferentes figuras da meiose.

Discussão

1. Compara as tuas observações com as fotografias da figura 6.
2. Que diferenças constatas em relação à mitose?

<u>T.L. 6</u> Como ocorre a reprodução sexuada nas plantas com flor?

Introdução

Nas plantas, as estruturas onde são formados os gâmetas designam-se por gametângios, havendo gametângios masculinos e gametângios femininos.
Tal como nos animais, nas plantas ocorrem diversas estratégias que permitem o sucesso da reprodução sexuada. Os mecanismos são extremamente variados nas plantas com flores, onde existem estruturas reprodutoras que permitem o desenvolvimento de sementes.

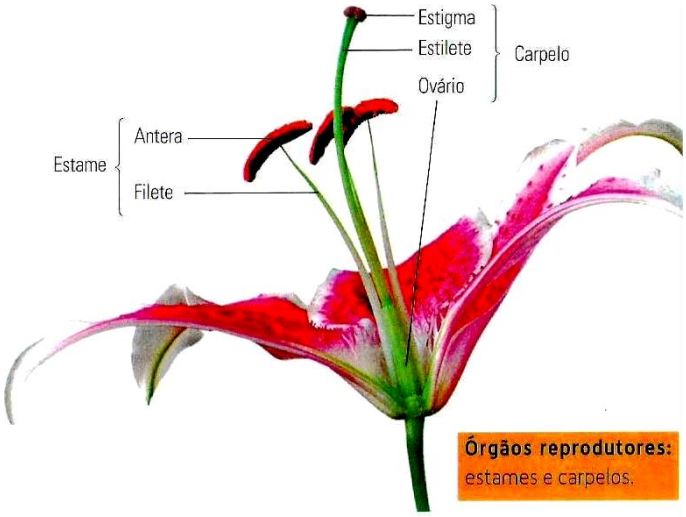


Figura 7 – Constituição de uma flor.

Material

- Flores com anteras maduras
- Meio de cultura (solução de sacarose a 10% + 1% a 3% de gelatina em pó)
- Pinça
- Pincel
- Agulhas de dissecação
- Placa de Petri
- Microscópio ou lupa binocular

Figura 8 – Ovário em corte

Figura 9 – Antera em corte

Procedimento

1. Corta o estigma de uma flor.
2. Coloca o estigma no centro de uma placa de Petri ou de uma lâmina escavada contendo meio de cultura.
3. Com um pincel, retira grãos de pólen das anteras da mesma flor e coloca-os na zona periférica do meio de cultura.
4. Coloca a lâmina a uma temperatura de 25 C, durante duas horas.
5. Observa com a lupa binocular e esquematiza o que observares.

Discussão

1. O que podes concluir das tuas observações?

<u>T. L. 7</u> Cariótipo Humano

Introdução

Figura 10

O conjunto de cromossomas de uma célula que, pelo seu número, forma e tamanho caracteriza uma dada espécie designa-se por cariótipo. O cariótipo humano é constituído por 23 pares de cromossomas, tendo cada par determinada forma e tamanho. Todos os seres humanos apresentam 23 pares de cromossomas no núcleo das suas células, daí que todos apresentem um conjunto de características que os distinguem das outras espécies. Tu, os teus colegas e, de um modo geral, todos os seres humanos apresentam o mesmo cariótipo, independentemente da forma dos olhos, da cor da pele, da estatura e do tipo de cabelo. Todos pertencem à mesma espécie, todos são seres humanos. São estes 23 pares de cromossomas que nos reúnem.

Material

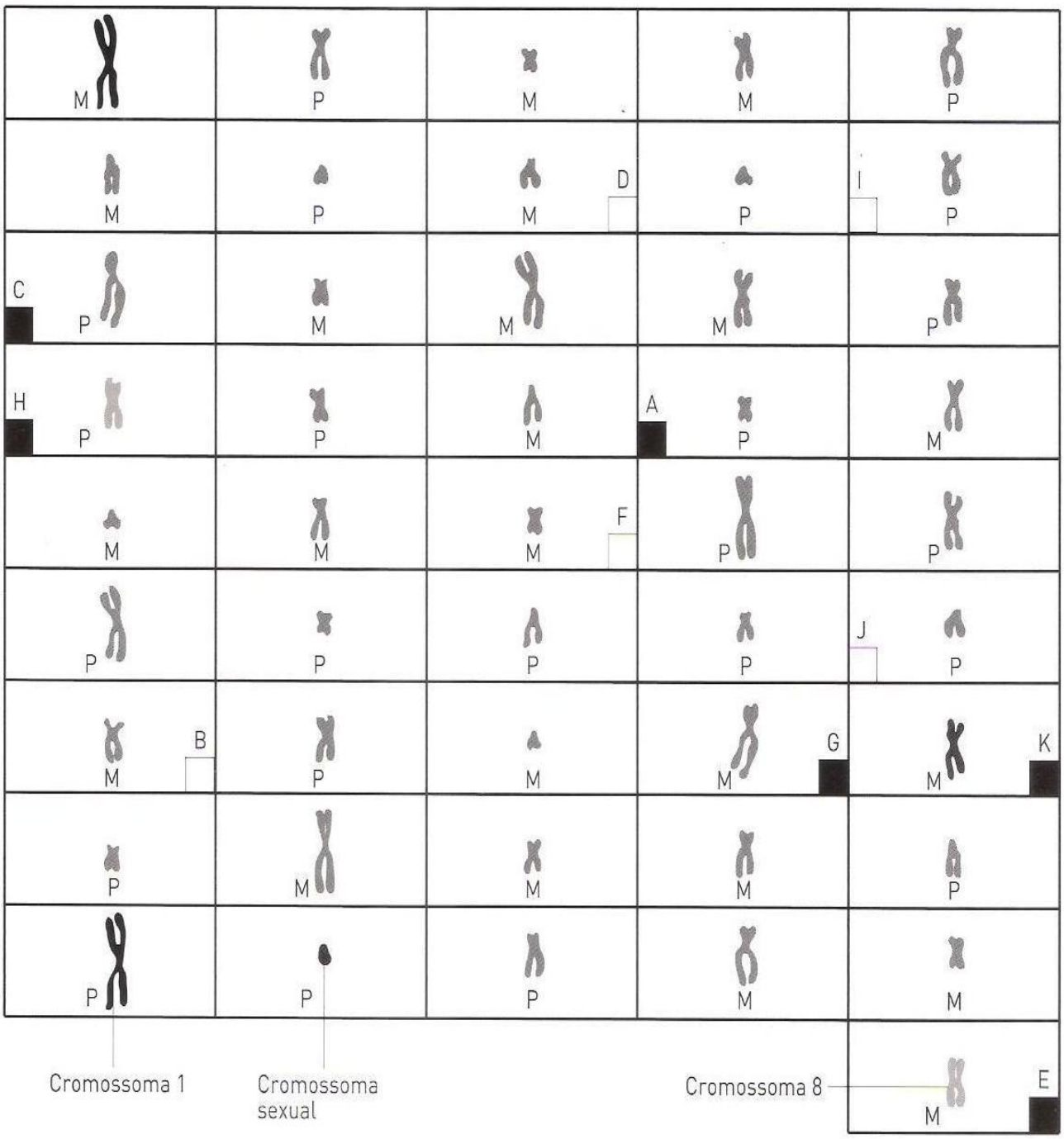
- Tesoura
- Cola
- Folha de papel em branco

Procedimento

1. Recorta os rectângulos dos cromossomas da figura 10.
2. Associa os homólogos paternos e maternos (cromossomas idênticos).
3. Dispõe os pares de cromossomas por ordem decrescente de tamanho (do par 1 ao 22).
4. Cola-os na folha de papel.

Discussão

1. Onde se localizam os cromossomas nas células?
2. Indica o cariótipo deste indivíduo.
3. Enumera as características hereditárias que se observam neste cariótipo.
4. Determina o sexo deste indivíduo.



Legenda

M – mãe; P – pai; A – olhos azuis; B – nariz médio; C – cabelos encaracolados; D – orelhas pequenas; E – cabelos louros; F – olhos castanhos; G – cabelos lisos; H – cabelos castanhos; I – nariz comprido; J – orelhas grandes; K – daltonismo

Figura 11

<u>T.L. 8</u> Transmissão genética, um jogo de sorte? - Simulação da 1ª Lei de Mendel

Introdução

Gregor Mendel foi o pioneiro da Genética. Austríaco, filho de um agricultor pobre, foi um monge e um físico excepcional. Começou a investigar a hereditariedade para melhorar as culturas de cereais do seu convento. Os resultados que obteve com as ervilheiras, publicados em 1865, só foram compreendidos por volta de 1900, quando outros cientistas chegaram às mesmas conclusões. Estes organizaram as suas conclusões sob a forma de três leis que, dedicadas a Mendel, ficaram conhecidas por leis de Mendel. Mais recentemente os princípios mendelianos foram agrupados em apenas duas leis:

- 1ª Lei de Mendel – os dois elementos de um par de genes alelos separam-se durante a formação de gâmetas, de tal modo que há probabilidade de metade dos gâmetas transportar um dos alelos e a outra metade transportar o outro alelo.
- 2ª Lei de Mendel – durante a formação dos gâmetas, a segregação dos alelos de um gene é independente da segregação dos alelos de outro gene.

Nesta actividade prática vais simular 1ª lei de Mendel.

Material

- Recipiente I e II contendo 20 pedras cada um - 10 pedras marcadas com a letra (A) maiúscula e 10 com a letra (a) minúscula.

Procedimento

1. Sortear uma pedra do recipiente I e outra do recipiente II. Cada pedra corresponderá a um gene dos possíveis gâmetas, e o par (um de cada recipiente) corresponderá ao zigoto.
2. 2. Faz 100 sorteios. Assegura-te que as pedras sorteadas são repostas.
3. Anota os resultados.
4. Preenche a tabela 1.

Pedras	Tabela 1 Número de sorteios	
	Recipiente I	Recipiente II
A		
a		
AA		
Aa		
Aa		

(A) Gâmeta sorteado
(a) Gâmeta sorteado
(Aa) zigoto formado

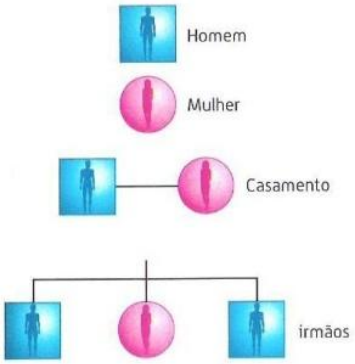
Discussão

1. Em que princípio se baseia a primeira Lei de Mendel?
2. O resultado obtido foi o que esperavas? Justifica.
3. Se (A) condicionasse em gene dominante e (a) um recessivo, qual a percentagem fenotípica obtida no final desta experiência?

T.L.9 Árvore genealógica da família

Introdução

Um dos primeiros métodos utilizados em genética humana foi a construção e análise de árvores genealógicas ou heredogramas das famílias. Estes organigramas permitem seguir a transmissão de certos caracteres através de várias gerações. Assim, construir a árvore genealógica de um indivíduo implica traçar a sua história familiar recorrendo aos ascendentes, nomeadamente os pais, os tios, os avós, os bisavós etc., bem como registar os irmãos, primos e até os seus descendentes. Através desta actividade terás a oportunidade de estudar a transmissão de um carácter na tua famíla.



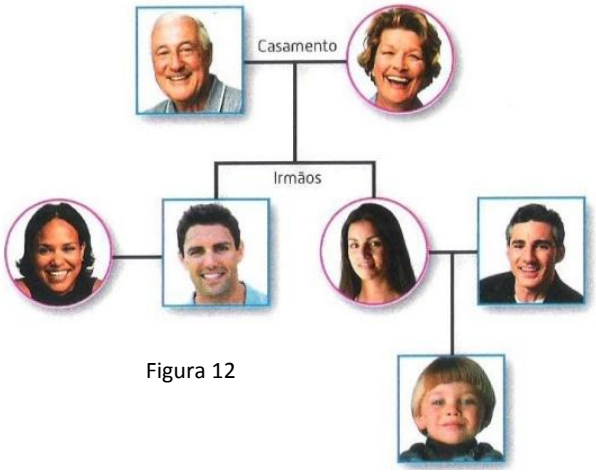


Figura 12

Material

- Folha A3 ou A4
- Canetas coloridas

Procedimento

Figura 13

Figura 14

1. Começa por construir a árvore genealógica da tua família. Poderás ampliar a tua árvore se recorreres a informação de pessoas mais idosas. (inclui, no mínimo, três gerações).
2. Considera uma característica na tua família, como, por exemplo, a forma da orelha ou o enrolamento da língua (figs.13 e 14).
3. Assinala a característica que pesquisaste em cada um dos familiares a que tens acesso, utilizando para isso uma cor ou símbolo à tua escola; os restantes ficarão assinalados com uma interrogação (?).
4. Indica o genótipo de cada indivíduo (relativamente à característica em estudo).
5. Legenda a árvore genealógica que elaboraste.

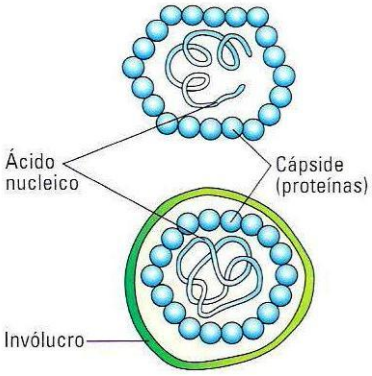
Discussão

1. Tenta explicar a forma como essa característica se transmitiu nos teus ascendentes.
2. Como é determinada a transmissão genética deste caracter?
3. Qual o fenótipo determinado pelo gene dominante? E o recessivo? Justifica a tua resposta utilizando dados da tua árvore genealógica.
4. Se tiveres um filho com uma pessoa que manifeste o fenótipo dominante, qual a probabilidade de a criança manifestar cada um dos fenótipos? Justifica a tua resposta recorrendo a um xadrez mendeliano.

T.L. 10 Vírus e bactérias

Introdução

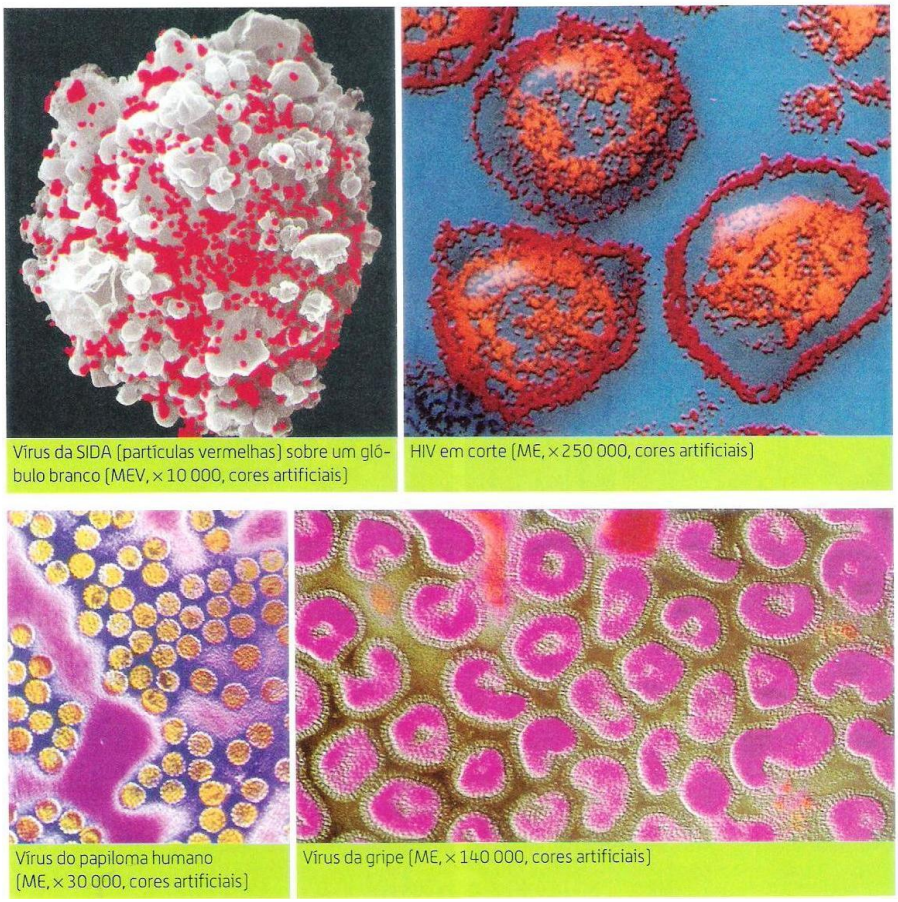
Contactamos diariamente com milhões de organismos. A pele, as mucosas respiratórias, digestiva e vaginal albergam uma enorme variedade desses seres, que se estima em cerca de 10^{14} (cem biliões). Muitos microrganismos são benéficos para o Homem. As bactérias são essenciais para o funcionamento do nosso sistema digestivo. São utilizadas desde a antiguidade na produção de alimentos. Com o desenvolvimento da microbiologia, da biologia molecular e da biotecnologia, reforçou-se a importância dos microrganismos, sendo várias as áreas em que são utilizados. Se a maior parte dos microrganismos é inofensiva, outros podem provocar graves doenças. Os vírus e as bactérias são, sem dúvida, os agentes que provocam um maior número de doenças infecciosas. Os vírus e as bactérias diferem entre si não só quanto à estrutura como também quanto ao modo como actuam e se reproduzem.



Vírus

Os vírus são seres acelulares. Possuem um património genético constituído por DNA (vírus da hepatite B, herpes) ou por RNA (HIV, hepatite A), mas não os dois simultaneamente. O ácido nucleico é rodeado por uma camada proteica a que se dá o nome de cápside, possuindo, por vezes, também algumas enzimas e outras proteínas. Muitos vírus possuem ainda um invólucro externo semelhante à membrana das células, produzido pela célula hospedeira onde eles se multiplicam.

Figura 15 – Estrutura básica de dois vírus.


Vírus da SIDA (partículas vermelhas) sobre um glóbulo branco (MEV, × 10 000, cores artificiais)

HIV em corte (ME, × 250 000, cores artificiais)

Vírus do papiloma humano (ME, × 30 000, cores artificiais)

Vírus da gripe (ME, × 140 000, cores artificiais)

Incapazes de se reproduzirem e de realizarem o metabolismo autónomo, os vírus são parasitas intra-celulares obrigatórios, isto ó, manifestam características vitais dentro de células vivas por eles invadidas. Os vírus utilizam a maquinaria metabólica da célula que invadem para se reproduzirem.

Figura 16 – Diferentes tipos de vírus.

Bactérias

Como já sabe, as bactérias são células procarióticas. O DNA forma uma molécula, em regra circular, no seio do citoplasma, não sendo rodeado por invólucro nuclear, constituindo o nucleoide. Muitas bactérias têm também pequenos anéis de DNA, os plasmídeos, que contêm genes acessórios. As bactérias não possuem organelos, como mitocôndrias, plastos, retículo e complexo de Golgi, mas possuem ribossomas e todas as estruturas necessárias à realização de biossíntese e outras transformações energéticas; podem, pois, reproduzir-se autonomamente e obter e mobilizar energia do meio.

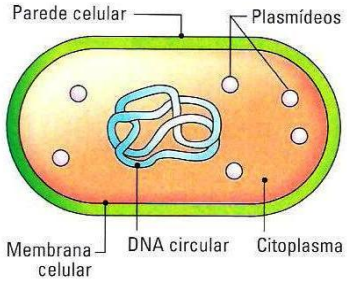


Figura 17 – Tipos de bactérias.

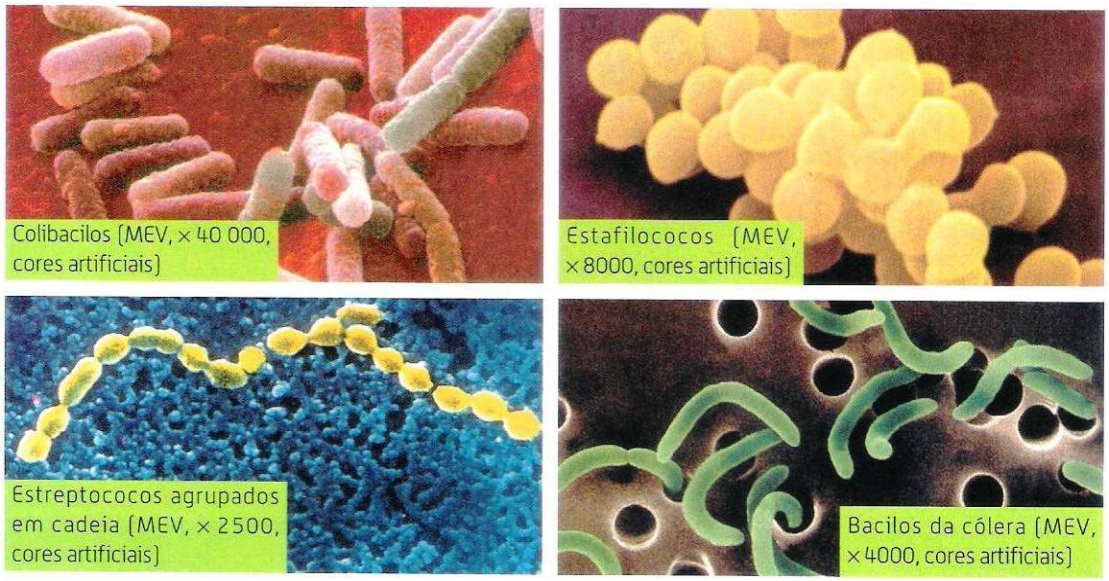


Figura 18 – Estrutura básica de uma bactéria.

Tabela – Componentes da célula procariótica.

Célula procariótica	
Componentes	**Características**
Cápsula bacteriana	Estrutura presente em quase todos os grupos de bactérias patogénicas; tem uma espessura que oscila entre 1000 e 400Å. De aspecto gelatinoso, é rica em glícidos, possuindo também moléculas proteicas. Além de uma função protectora, funciona como defesa em relação a anticorpos, vírus e células fagocitárias.
Parede celular	É uma estrutura rígida composta por polissacarídeos e polipeptídeos que confere forma às células. A espessura da parede celular oscila entre 50 e 100Å.
Flagelos	Algumas bactérias apresentam um número variável de flagelos (1 a 100), os quais têm uma estrutura mais simples do que os flagelos dos eucariontes.
Pili e fímbrias	São estruturas de natureza proteica, tubulosas e muito numerosas, muito mais curtas e finas que os flagelos. Não têm funções de mobilidade. Pensa-se que estão relacionadas com a fixação ao substrato, com o intercâmbio de moléculas com o exterior, funcionando mesmo como vias de penetração de vírus.
Membrana celular	Apresenta a constituição típica deste grupo de membranas. Pode formar invaginações para o interior a célula e constituir mesossomas em cuja superfície se localizam enzimas relacionadas com a respiração.
Material genético	O DNA bacteriano é uma simples molécula circular com cerca de $5x10^6$ pares de bases. Muitas bactérias possuem pequenas moléculas circulares de DNA chamadas plasmídeos, dispersas no citoplasma.
Ribossomas e inclusões	Livres no citoplasma bacteriano encontram-se ribossomas e grânulos de reserva.

Como se reproduzem os vírus e as bactérias?

Os vírus e as bactérias reproduzem-se transmitindo a respectiva informação genética. De acordo com os conhecimentos actuais, a reprodução dos vírus só ocorre dentro de células vivas por ele parasitadas. Estas células hospedeiras podem ser procarióticas ou eucarióticas (protistas, células de fungos, células de plantas ou de animais). Os vírus utilizam organelos, enzimas e reservas bioquímicas das células hospedeiras para a produção de proteínas e ácidos nucleicos virais, formando-se centenas de milhar de novos vírus, que podem levar à destruição da célula hospedeira. Muitos vírus, caso da figura, possuem um invólucro com constituição idêntica à membrana celular da respectiva célula hospedeira. Nestes casos, as glicoproteínas do invólucro viral ligam-se a receptores da membrana da célula hospedeira, enquanto o conteúdo penetra no interior. A replicação do DNA viral ocorre dentro do núcleo da célula hospedeira, assim como a transcrição dos respectivos genes. O mRNA viral migra para o citoplasma da célula hospedeira e liga-se a ribossomas. Os ribossomas da célula fazem a tradução do mRNA viral e produzem as proteínas dos vírus. No citoplasma, o ácido nucleico e as proteínas virais organizam-se espontaneamente, aproximam-se da membrana celular, ficando rodeados por ela, e formam novos vírus que abandonam a célula. Os vírus que não possuem o invólucro membranar entram na célula hospedeira por endocitose. Nos vírus constituídos por RNA, o processo de reprodução é mais complexo.

A reprodução das bactérias é autónoma e realiza-se, habitualmente, por divisão binária. Dá-se a replicação do DNA, as duas cópias separam-se e afastam-se em sentidos opostos. Posteriormente, a membrana celular dobra-se para o interior, formando uma dupla camada a meio da célula, ocorrendo assim a divisão do citoplasma. Forma-se, então, uma parede celular entre as duas membranas celulares. Os plasmídeos também se replicam separadamente, recebendo cada célula-filha das bactérias que os contêm cópias desses plasmídeos. As células-filhas separam-se, crescem e voltam a dividir-se. Em boas condições ambientais pode ocorrer uma divisão em cada 20-25 minutos.

Exercícios de aplicação

Analisa as seguintes figuras.

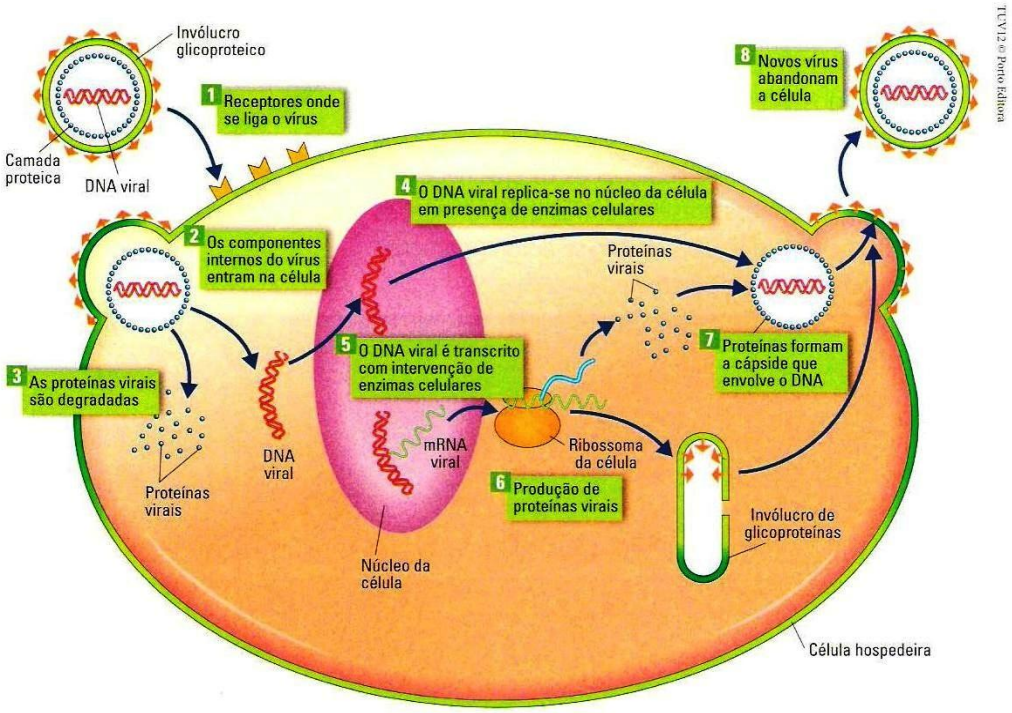


Figura 19 – Ciclo reprodutor de um vírus numa célula eucariótica animal.

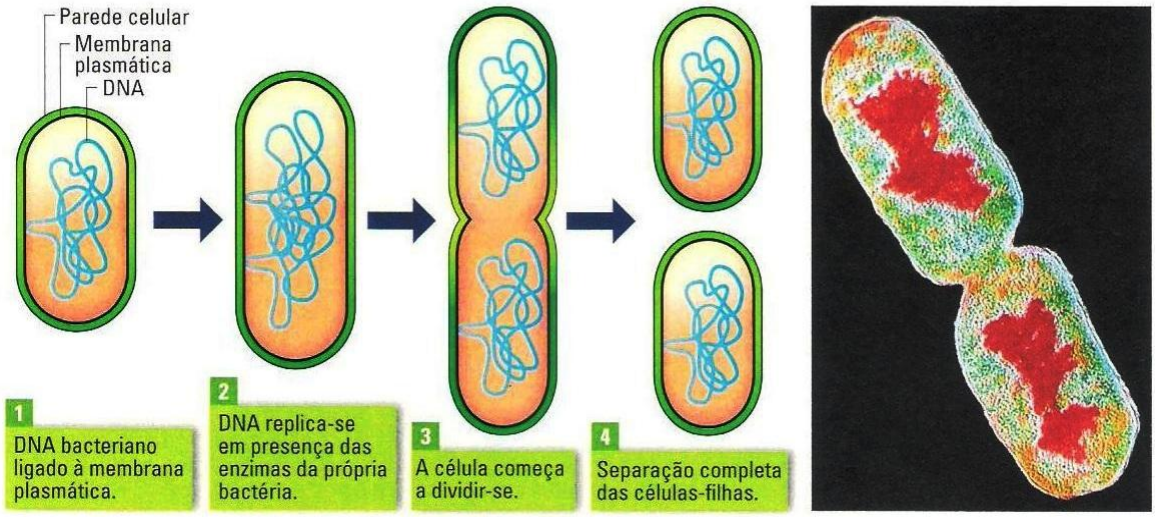


Figura 20 – Ciclo reprodutor de uma bactéria.

1. Refere o organelo da célula hospedeira onde ocorre a replicação e a transcrição do DNA viral.
2. Justifica em que medida se pode afirmar que a "maquinaria metabólica" da célula parasitada é utilizada para a reprodução do vírus.
3. Descreve o ciclo reprodutor da bactéria representada na figura 20.
4. A reprodução bacteriana é um processo autónomo. Justifica a afirmação.

<u>T.L. 11</u> Como pode testar-se a presença de bactérias em objectos que utilizamos frequentemente?

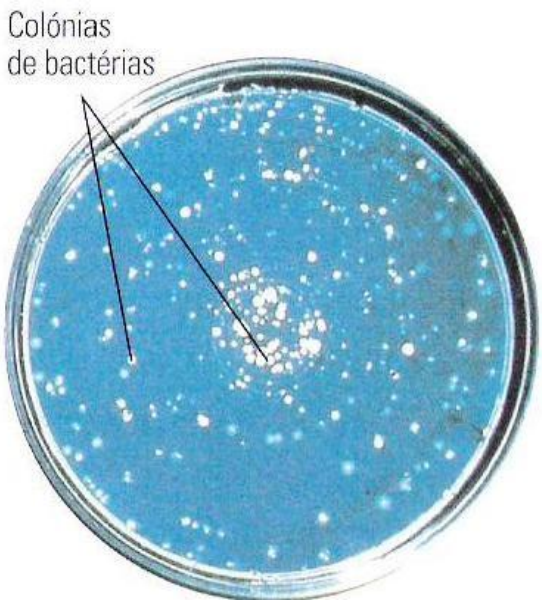


Figura 21 - Cultura de microrganismos em placa de Petri.

Introdução

As bactérias rodeiam-nos e estão presentes em todos os objectos que utilizamos diariamente. Em laboratório, é fácil detectar a presença de bactérias nesses objectos.

Material

- Meio de cultura
- Balão de Erlenmayer
- Funil
- 4 Placas de Petri
- Papel de filtro
- Fita adesiva
- Bico de Bunsen
- Autoclave ou panela de pressão
- Etiquetas
- Procedimento

Procedimento

A - Preparação do meio

Existem no mercado meios de cultura preparados me laboratório que são vendidos sob a forma desidratada.

1. Dissolve 38 g do meio de cultura desidratado em 1 l de água destilada e misture cuidadosamente.
2. Aquece, agitando frequentemente, e deixe ferver cerca de 1 minuto.

No caso de não ser possível conseguir este produto, pode preparar um produto artesanal.

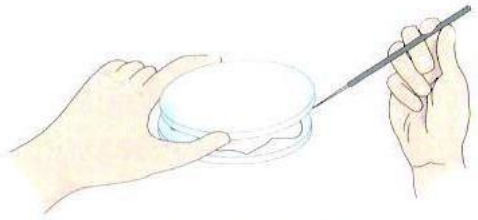
3. Prepara um caldo de carne.
4. Filtra e junta ágar, deixando levantar fervura para liquefazer o ágar (15 g de ágar para 1 L de caldo).

B - Preparação das placas

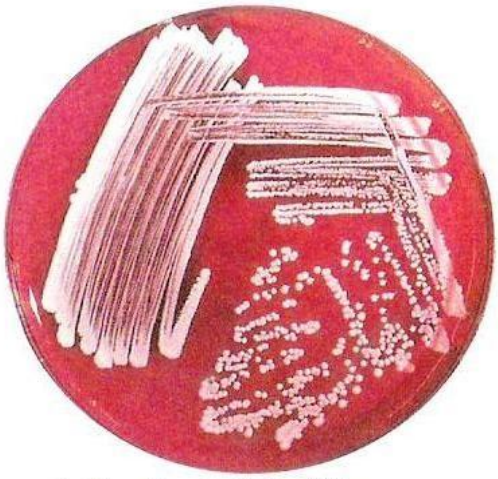
5. Tapa as placas e ponha-as a esterilizar em autoclave. Também pode utilizar uma panela de pressão, embrulhando as placas em papel e colocando-as na rede para não mergulharem na água.
6. Distribui o meio de cultura pelas placas de Petri esterilizadas.
7. Mantém as placas tapadas e deixe-as arrefecer para o meio de cultura solidificar.

C - Inoculação das placas

8. Mantém uma das placas fechadas sem qualquer inoculação.
9. Retire a tampa a uma das placas e deixe o meio de cultura em contacto com o ar durante uns minutos. Volte a colocar a tampa.
10. Levanta ligeiramente a tampa de cada uma das placas e toque o meio de cultura com a ponta dos dedos ou com objectos de uso corrente (moeda, caneta, …).
11. Fixa as tampas com fita adesiva e coloque em cada uma etiqueta, indicando o processo de inoculação.
12. Coloca as placas na estufa a 25-30° C durante 3 dias. As placas devem ser colocadas com a tampa para baixo (se o vapor de água com densar cairá na tampa e não no meio de cultura).



Inoculação de uma placa.



Crescimento de bactérias.

Figura 22

Importante!

<u>Podem formar-se colónias de bactérias patogénicas. Por isso, não abra as placas de Petri para observar e não toque nas colónias. A observação deve ser feita através da tampa. Quando acabar o trabalho, as placas devem ser novamente esterilizadas.</u>

Discussão

1. Observa as diferentes placas e descreva cada uma das situações.
2. Compara com o controlo.
3. Que conclusões podes tirar deste trabalho?

<u>T.L. 12</u> Observação de seres procariontes – Como distinguir bactérias Gram + de bactérias Gram-negativo

Introdução

Os seres vivos mais simples são unicelulares e procariontes. Os procariontes possuem células muito simples, sem organelos membranares. Estes organismos podem possuir uma parede celular ou ainda uma cápsula espessa, que lhes conferem a forma característica, dando suporte e protecção à célula. Os procariontes são representados pelas bactérias e cianobactérias.

No universo bacteriano, um método muito utilizado para classificar as bactérias é o método de Gram, desenvolvido por Hans Christian Gram no final do século XIX. Através deste método podem distinguir-se bactérias Gram positivo [+] e bactérias Gram negativo [-] .

Princípios

- *Algumas bactérias, depois de coradas, retêm o corante quando lavadas com um solvente orgânico; são as bactérias Gram* [+].
- *Outras bactérias, depois de coradas, não retêm o corante quando lavadas com um solvente orgânico; são as bactérias Gram* [-].
- *O calor fixa as bactérias.*
- *O violeta de gensiana/cristal violeta, o lugol e a fucsina/safranina coram diferentes tipos de bactérias.*
- *As bactérias Gram* [-], depois de descoradas para serem visualizadas de novo, podem ser coradas de fucsina/safranina, ficando cor-de-rosa.

Material

- Microscópio óptico
- Lâmina
- Lamparina
- Conta-gotas
- Tina de coloração
- Varetas de vidro
- Papel absorvente
- Papel de limpeza
- Pano
- Frasco lavador
- Cristal violeta
- Soluto de lugol
- Safranina ou fucsina diluída
- Água destilada
- Etanol ou mistura de álcool e acetona
- Suspensão de *Acetobacter*
- Suspensão de *Lactobacillus*

Procedimento

1. Identifica 4 lâminas de vidro.
2. Utilizando uma pipeta de Pasteur, coloca duas gotas de suspensão de cada cultura em cada uma das lâminas.
3. Efectua quatro **esfregaços – 1, 2, 3 e 4** (Fig.<u>A</u>).
4. Fixa os esfregaços pela acção do calor.
5. Coloca as lâminas na tina, sobre as varetas.
6. Cobre por completo as lâminas com a **solução de cristal violeta** (Fig.<u>B</u>). Deixa actuar durante 30 segundos.
7. Remove o corante dos esfregaços por imersão em água durante 5 segundos (Fig.<u>C</u>).
8. Retira o excesso de água das preparações (coloca a lâmina de face contra papel absorvente).
9. Seca uma das preparações (1) ao ar e observa ao microscópio óptico com a objectiva de imersão.
10. Numa tina coloca uma porção de etanol (o suficiente para mergulhar as lâminas).

11. Mergulha a preparação 2 em **etano**l e agita durante 1,5 minutos.
12. Lava com água destilada. Retira o excesso de água com papel absorvente.
13. Seca ao ar e observa ao microscópio com a objectiva 40x.
14. Cobre as duas lâminas restantes (3 e 4) com **soluto de lugol** (Fig. D). Deixa actuar durante 1 minuto. Verte o lugol para a tina e lava o esfregaço com água destilada por 5 segundos (Figura E). Retira o excesso de **água**, mas não deixes secar as preparações.
15. Mergulha as lâminas em **etanol** e agita durante 30 -60 segundos (Figura F). Lava com água destilada (5 segundos) (Fig. G) e retira o excesso de água com papel.
16. Seca uma das preparações (3) e observa-a ao microscópio com a objectiva de 40x.
17. Cobre a quarta lâmina (4) com a **solução de safranina/fucsina** (Fig. H). Deixa actuar durante 60 -80 segundos.
18. Lava com água destilada durante 5 segundos (Fig. I) e retira o excesso de água com papel absorvente. Seca a preparação ao ar.
19. Observa a preparação 4 ao microscópio óptico com a objectiva de imersão.

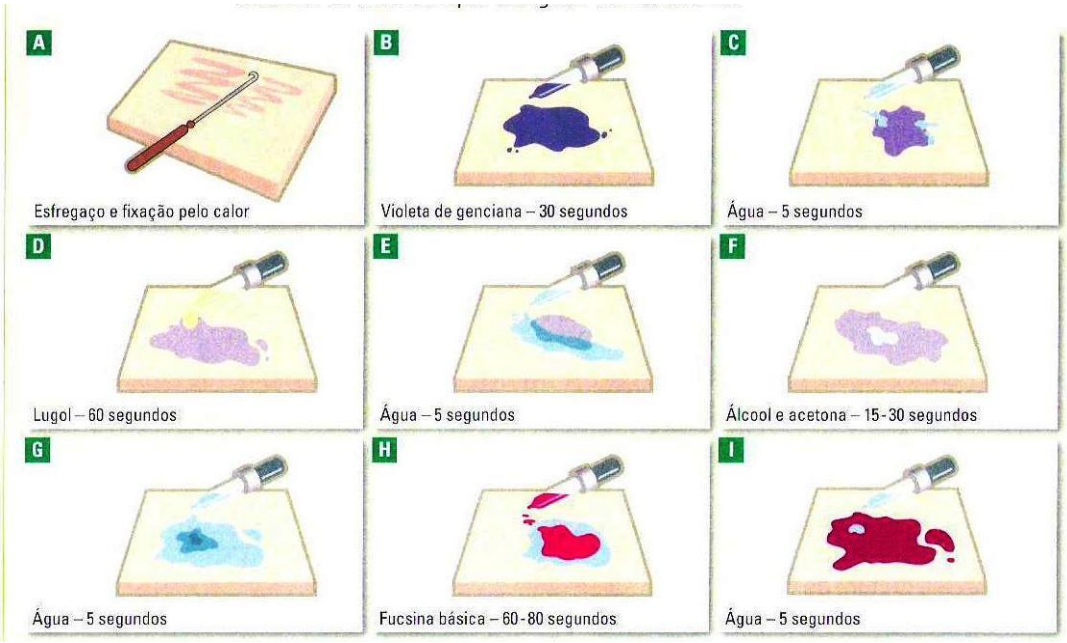


Figura 23- Método de Gram

Discussão

Resultados		
Tipos de bactérias	**Cor da parede**	**Gram**
Lactobacillus		
Acetobacter		

1. Enumera os procedimentos laboratoriais utilizados no método de Gram.
2. Descreve as etapas de coloração do método de Gram.
3. O método de Gram utiliza uma coloração diferencial. Justifica esta afirmação.
4. Qual a importância do método de Gram?
5. Preenche uma tabela com os resultados obtidos.
6. O que podes concluir dos resultados obtidos nesta actividade?

T.L.13 Colheita, montagem, preservação e identificação de insectos

Fig. 24 - Colecção de borboletas.

Introdução

Uma colecção taxonómica é a reunião ordenada de exemplares mortos ou partes corporais desses exemplares, devidamente preservados para estudos. A Coleção é imprescindível para estudos taxonómicos. A entomologia é a ciência que se dedica ao estudo dos insectos. Neste trabalho laboratorial irás organizar e catalogar uma colecção de insectos.

Material

- Lupa
- Vidro de relógio
- Alfinetes
- Papel absorvente
- Esferovite
- Etuquetas

Procedimento

1. COLHEITA
   Recolhe, na tua área de residência, um ou vários exemplares de insectos adultos.
   A colheita de insetos é o primeiro passo para a estruturação e preparação de uma coleção entomológica. Considerando que grande parte da taxonomia dos insetos se baseia em caracteres externos do corpo e seus apêndices (pernas, antenas e asas), devemos ter um cuidado especial durante o acto de captura, para evitar a quebra de qualquer parte do material entomológico. Além dos equipamentos de captura, um bloco de anotações é fundamental para registo de informações relativas ao local e tipo de ambiente onde o insecto foi capturado. Recomenda-se não misturar os insetos que tenham tamanhos diferentes. Estes devem ser acondicionados em pequenas caixas de papelão ou de plástico e separados entre si, por papel absorvente.
2. MONTAGEM E PRESERVAÇÃO
   Cada táxon requer meios e formas adequadas para sua montagem. Seleciona, com o apoio do teu professor, o método mais adequado para a preservação dos teus espécimes (anexo 1).
3. IDENTIFICAÇÃO
   Observa os insectos à lupa e analisa as suas características. Recorre a uma chave de identificação de insectos para identificares o espécime (anexo 2).
4. ETIQUETAGEM
   Prepara duas etiquetas para classificares cada espécime. As etiquetas devem conter informações como: localidade, data da colheita, nome do colector, identificação taxonómica, etc. (anexo 3). Os dados na etiqueta devem ser escritos de modo bem legível.
5. CURADORIA
   Toda a colecção deve possuir um responsável pela curadoria. O curador é o encarregado pelas atividades de preservação do material. Selecciona um curador para a colecção que preparaste.

Anexo 1 *Preservação e montagem de insectos*

1. Preservação Temporária

Refrigeração

- Recipiente adequado – papel filtro no fundo para manutenção da umidade dentro do recipiente – REFRIGERADOR OU FREEZER – preserva o exemplar durante vários dias.

Preservação em Via-líquida

- em álcool 70% ou outros conservantes apropriados
- preserva os exemplares vários anos
- não recomendado para alguns grupos: Lepidoptera em geral e Diptera-Culicidae (mosquitos) – são frágeis e possuem escamas e cerdas importantes para a identificação.

Preservação em Via-Seca

- alfinetagem
- envelopes ou triângulos

2. Montagem e Conservação permanente

Conservação em via seca

Alfinetagem: melhor processo para conservação de insetos de corpo duro. Utiliza-se alfinete entomológico de aço (para não enferrujar) com espessura adequada ao tamanho do inseto (0 a 7). O alfinete deve ser introduzido diretamento no local indicado para cada tipo de inseto, mas sempre do lado direito e de maneira perpendicular com o corpo.

Montagem: utiliza-se placa de esferovite forrada com papel para que o corpo do inseto possa estar assentado e possa ser arrumado (pernas, antenas, asas—alfinetes entrecruzados).

Procedimentos após a montagem via seca

Os insetos devem ser colocados em estufa por 24 a 48 horas para a eliminação da humidade (fungos). Pode-se improvisar colocando-os debaixo de uma lâmpada forte ligada por algum tempo.

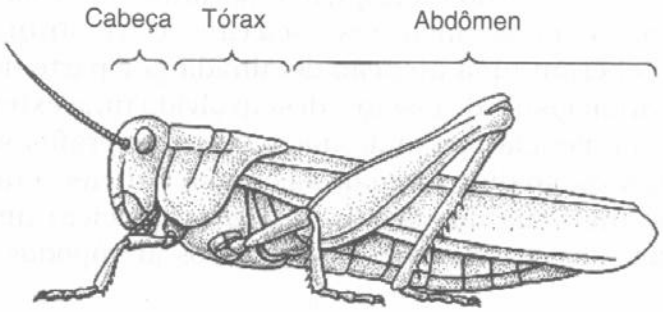
Os exemplares devem ser acondicionados em caixas entomológicas hermeticamente fechadas contendo paraformolaldeído ou naftalina para evitar ataque de pragas de coleção. Estas caixas devem ser mantidas em local sob controlo de humidade e temperatura.

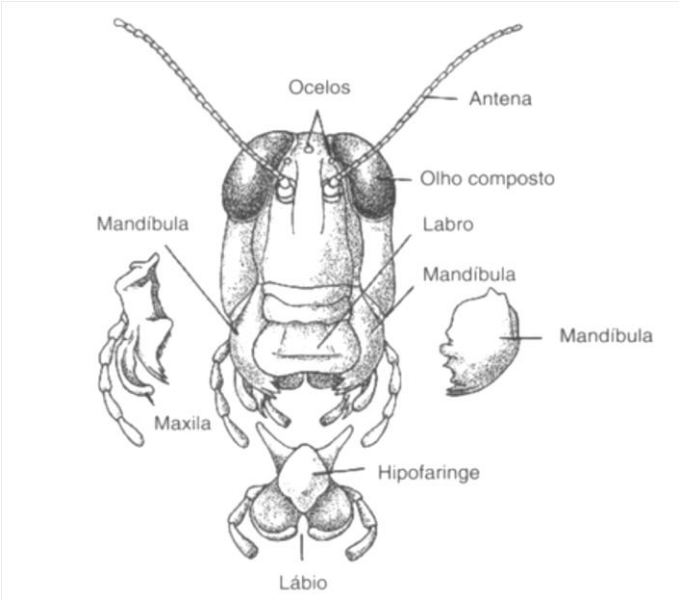
Cuidados com a coleção via líquida

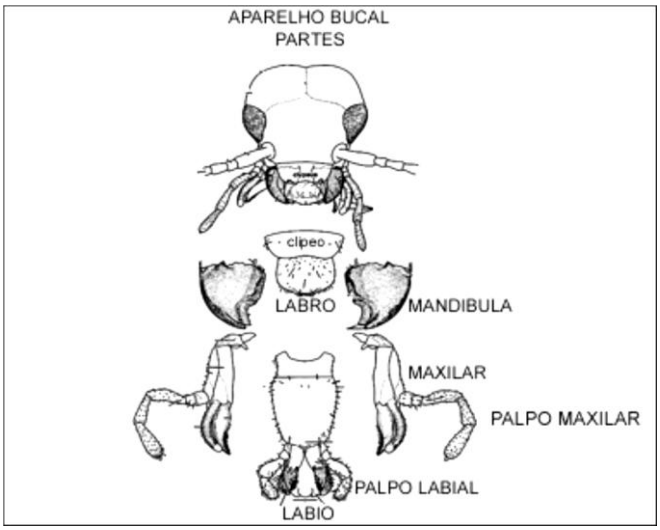
- Revisão periódica para reposição do líquido conservante (evaporação; estes recipientes devem ser acondicionados em armários com portas bem fechadas e longe da coleção via seca.

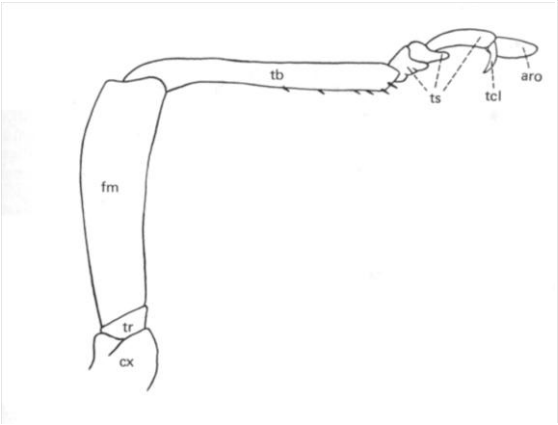
Fig. 25 - Colecção de insectos em via seca.

Anexo 2 - *Morfologia básica dos insectos*









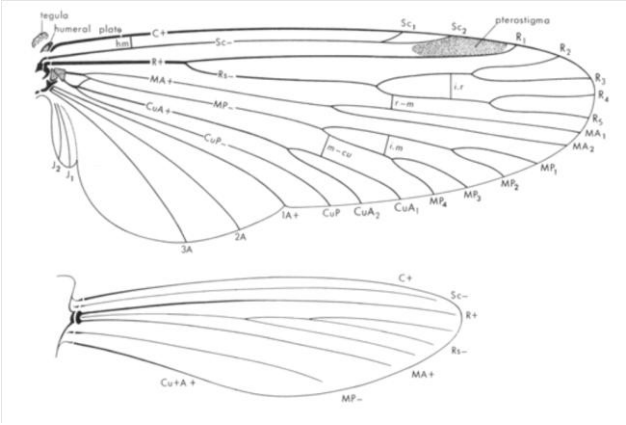


Fig. 26

Anexo 3 – *Chave para determinar as ordens da classe insecta através de insectos adultos*

01 – Abdómen com estilos esternais; insetos sempre ápteros **02**
01' - Abdómen sem estilos esternais; insetos ápteros ou alados **03**

02 – Coxas medianas e posteriores sem estilos; olhos compostos reduzidos ou ausentes, se presentes, separados; apêndice dorsal e cercos, geralmente subiguais em tamanho ..... **THYSANURA**
02' – Coxas medianas e posteriores com estilos; olhos compostos grandes e contíguos; apêndice dorsal mais longo que os cercos..... **ARCHAEOGNATHA**

03 – Insetos ápteros ou com todas as asas vestigiais **04**
03' - Insetos alados (pelo menos um par de asas desenvolvido) **26**

04 – Sifúnculos abdominais presentes, se ausentes, o corpo se apresenta protegido por "escama", carapaça ou revestido de secreção cerosa; aparelho bucal sugador labial (Figs. I-1 a I-6) ..... **HEMIPTERA-STERNORHYNCHA**
04' - Insetos com outras combinações de caracteres **05**

05 – Insetos larviformes **06**
05' - Insetos não larviformes **08**

06 – Insetos reclusos em um abrigo formado por fragmentos de galhos, unidos por fio de seda (Fig.I-7)..... **LEPIDOPTERA**
06' - Insetos livres **07**

07 – Trocanter ausente; cabeça e tórax distintos, ou insetos ápodos; cabeça e tórax fundidos (endoparasitas) (Fig.I-8).....**STREPSIPTERA**
07' – Trocanter presente (Fig.. I-9)..... **COLEOPTERA**

08 – Insetos com o corpo totalmente achatado, lateralmente ou dorsalmente **09**
08' - Insetos com o corpo não achatado, se achatado, não em toda a extensão **10**

09 – Corpo achatado lateralmente; tarsos pentameros (Fig.I-10)..... **SIPHONAPTERA**
09' – Corpo achatado dorsoventralmente; tarsos de 1 a 2 tarsómeros (Fig. I-11).....**PHTHIRAPTERA**

10 – Aparelho bucal sugador labial, representado por um lábio segmentado (Fig. I-12) ..... **HEMIPTERA-HETEROPTERA**
10' - Aparelho bucal, se visível, não representado por lábio segmentado **11**

11 – Antenas inseridas em sulcos sob a cabeça (Fig. I-13)..... **DIPTERA**
11' - Antenas livres **12**

12 – Abdómen pedunculado (Fig. I-14 e I-15)..... **HYMENOPTERA**
12' - Abdómen livre ou séssil **13**

13 – Cabeça prolongada inferiormente (Fig. I-16)..... **MECOPTERA**
13' - Cabeça não prolongada inferiormente **14**

14 – Olhos ausentes **15**
14' - Olhos presentes **16**

15 – Tarsos dímeros; tíbias sem esporão apical; cercos unissegmentados, com cerda apical (Fig. I-17)..... **ZORAPTERA**
15' – Tarsos tetrâmeros; tíbias com esporão apical; cercos multissegmentados, sem cerda apical (Fig. I-18)..... **ISOPTERA**

16 – Pernas anteriores distintamente raptatoriais (Fig. I-19)..... **MANTODEA**
16' - Pernas anteriores de outro tipo **17**

17 – Pernas posteriores distintamente saltatoriais (Fig. I-20) ..... **ORTHOPTERA**
17' - Pernas posteriores de outros tipos **18**

18 – Primeiro tarsómero das pernas anteriores consideravelmente dilatado, em forma de bulbo (Fig. I-21)..... **EMBIOPTERA**
18' - Primeiro tarsómero das pernas anteriores normal **19**

19 – Insetos com aparelho bucal sugador labial, caracterizado por um rostro cônico; cabeça dorsalmente com contorno quadrangular; antenas de 6 a 10 antenómeros (Fig. I-22) ..... **THYSANOPTERA**
19' - Insetos com outras combinações de caracteres **20**

20 – Cabeça apresentando uma "bossa frontal"; antenas longas (13 a 50 antenómeros) (Figs. I-23 e I-24)..... **PSOCOPTERA**
20' - Cabeça normal **21**

21 –Tarsos trímeros **22**
21' - Tarsos com 4 ou 5 tarsómeros **23**

22 – Cercos unissegmentados, rígidos, em forma de pinça, ou flexíveis (Fig. I-25) .....**DERMAPTERA**
22' –Cercos multissegmentados (Fig. I-26)..... **PLECOPTERA**

23 – Fêmures anteriores distintamente arqueados na base; cercos unissegmentados (Fig.I-27)..... **PHASMATODEA**
23' - Insetos com outras combinações de caracteres **24**

24 – Tarsos tetrâmeros; antenas inseridas em depressões acima da base das mandíbulas (Fig. I-28)..... **ISOPTERA**
24' - Insetos com outras combinações de caracteres **25**

25 – Pronoto não encobrindo a cabeça; tarsos pentâmeros (Fig.I-29)..... **GRYLLOBLATTODEA**
25' – Pronoto encobrindo a cabeça; tarsos tetrâmeros, pentâmeros ou heterómeros (Fig. I-30) ..... **BLATTODEA**

26 – Insetos com um dos pares de asas ausente, reduzido ou modificado **27**
26' - Insetos com os dois pares de asas desenvolvidos **39**

27 – Somente as asas anteriores são desenvolvidas **28**
27' - Somente as asas posteriores são desenvolvidas **34**

28 – Asas desenvolvidas, tipicamente membranosas **29**
28' - Asas desenvolvidas, de outro tipo **31**

29 – Segundo par de asas modificado em "balancins" **30**
29' – Segundo par de asas ausente ou atrofiado (Fig. I-31)..... **EPHEMEROPTERA**

30 – Asas desenvolvidas, com número reduzido de nervuras (Fig. I-32) ..... **HEMIPTERA-STERNORRHYNCHA**
30' – Asas desenvolvidas, com maior número de nervuras (Figs. I-33 e I-34) ..... **DIPTERA**

31 – Asas desenvolvidas, com textura coriácea (élitro) e sem nervuras .....**COLEOPTERA**
31' -Asas desenvolvidas de textura pergaminhosa (tégmina) e com nervuras **32**

32 – Pernas anteriores fossoriais ou pernas posteriores, distintamente saltatoriais (Figs. I-72 e I-73)..... **ORTHOPTERA**
32' - Pernas anteriores e posteriores de outros tipos **33**

33 – Fémures anteriores distintamente arqueados na base; cercos unissegmentados (Figs. I-40 e I-74)..... **PHASMATODEA**
33' –Fémures anteriores não arqueados na base; cercos multissegmentados (Figs I-75 A e B) ..... **BLATTODEA**

34 –Antenas flabeladas; asas anteriores semelhantes a balancins ou reduzidas e sem nervuras (Fig. I-35)..... **STREPSIPTERA**
34' - Insetos com outras combinações de caracteres **35**

35 – Asas anteriores reduzidas e do tipo élitro **36**
35' - Asas anteriores reduzidas e do tipo tégmina **37**

36 – Abdómen com cercos, bem esclerotizados, desenvolvidos e com formato de pinça (Fig. I-36) ..... **DERMAPTERA**
36' – Abdómen sem cercos (Fig. I-37) ..... **COLEOPTERA**

37 –Pernas anteriores fossoriais ou as posteriores saltatoriais (Figs. I-38 e I-39)..... **ORTHOPTERA**
37' - Pernas anteriores e posteriores de outros tipos **38**

38 –Fémures anteriores distintamente arqueados na base; cercos unissegmentados (Fig.I-40) ..... **PHASMATODEA**
38' – Fémures anteriores não arqueados na base; cercos multissegmentados (Fig. I-41) ..... **BLATTODEA**

39 – Aparelho bucal representado por uma espirotromba; corpo e asas anteriores, total ou parcialmente, revestidos de escamas (Figs. I-42 a I-44)..... **LEPIDOPTERA**
39' - Insetos com outras combinações de caracteres **40**

40 – Asas estreitas com franjas de longas cerdas em ambas ou uma das margens; cabeça, em vista dorsal, de contorno quadrangular (Fig. I-45)..... **THYSANOPTERA**
40' -Insetos com outras combinações de caracteres **41**

41 –Primeiro tarsómero das pernas anteriores consideravelmente dilatado, em forma de bulbo (Fig. I-46)..... **EMBIOPTERA**
41' -Primeiro tarsómero das pernas anteriores normais **42**

42 –Aparelho bucal sugador labial, representado por um lábio segmentado **43**
42' -Aparelho bucal de outro tipo ou ausente **44**

43 –Inserção do aparelho bucal com a cabeça, localizada à frente da posição dos olhos, portanto, distante do prosterno (Fig.I-47 a I-49) ..... **HEMIPTERA-HETEROPTERA**
43' –Inserção do aparelho bucal com a cabeça, localizada atrás da posição dos olhos, portanto sobre o prosterno (Fig. I-50 a I-54) ..... **HEMIPTERA-AUCHENORRHYNCHA**

44 –Pernas anteriores distintamente raptatoriais **45**
44' - Pernas anteriores de outro tipo **46**

45 –Cercos presentes; garras, medianas e posteriores, lisas; asas sem pterostigma (Fig. I-55) ..... **MANTODEA**
45' –Cercos ausentes; garras, medianas e posteriores, denteadas; asas com pterostigma (Fig. I-56) ..... **NEUROPTERA**

46 –Primeiro par de asas do tipo élitro, sulcado ou liso, porém sem nervuras; cercos ausentes (Fig. I-57)..... **COLEOPTERA**
46' -Primeiro par de asas de outro tipo; nervuras presentes **47**

47 –Cabeça prolongada inferiormente (Fig. I-58)..... **MECOPTERA**
47' -Cabeça normal **48**

48 –Asas recobertas por pelos; aparelho bucal não representado por espirotromba; insetos semelhantes a mariposas (Fig. I-59).....**TRICHOPTERA**
48' -Insetos com outras combinações de caracteres **49**

49 –Cabeça apresentando uma "bossa frontal"; antenas longas (13 a 50 antenómeros) (Figs. I-23 e I-61) ..... **PSOCOPTERA**
49' -Cabeça normal **50**

50 –Os dois pares de asas da mesma estrutura e textura **51**
50' -Os dois pares de asas de estrutura e textura diferentes **58**

51 –Asas anteriores com uma sutura transversal próxima à base (Fig. I-61)..... **ISOPTERA**
51' -Asas anteriores sem tal sutura **52**

52 –Asa posterior de tamanho inferior à metade da asa anterior (Fig. I-62)..... **EPHEMEROPTERA**
52' -Asa posterior de tamanho igual ou superior à metade da asa anterior **53**

53 –Cercos presentes; tarsos dímeros ou trímeros **54**
53' -Cercos ausentes, se presentes, tarsos pentameros **56**

54 –Cercos curtos com cerda apical; tarsos dímeros (Fig. I-63) ..... **ZORAPTERA**
54' -Cercos de tamanho variável; tarsos trímeros **55**

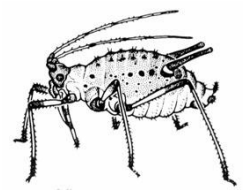
55 –Antenas longas, filiformes (Fig. I-64) ..... **PLECOPTERA**
55' – Antenas curtas, setiformes (Figs. I-65 e I-66)..... **ODONATA**

56 – Tégulas presentes (Figs. I-67 e I-68)..... **HYMENOPTERA**
56' - Tégulas ausentes **57**

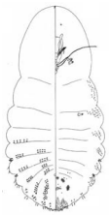
57 –Cabeça prognata; mandíbulas bem desenvolvidas, de tamanho igual ou superior aos palpos maxilares (Figs. I-69 e I-70)..... **MEGALOPTERA**
57' –Cabeça hipognata; mandíbulas normais, de tamanho inferior aos palpos maxilares (Fig. I-71) ..... **NEUROPTERA**

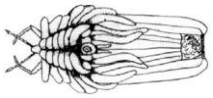
58 –Pernas posteriores saltatoriais (Figs. I-72 e I-73) ..... **ORTHOPTERA**
58' -Pernas posteriores de outros tipos **59**

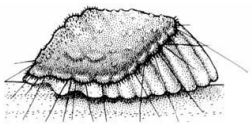
59 –Fémures anteriores distintamente arqueados na base; cercos unissegmentados (Fig. I-74)..... **PHASMATODEA**
59' –Fémures anteriores não arqueados na base; cercos multissegmentados (Fig. I-75)..... **BLATTODEA**

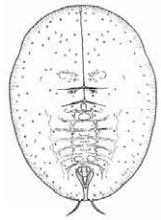

I-1

I-2

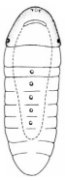

I-3


I-4

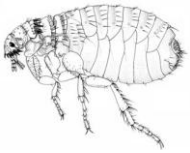

I-5

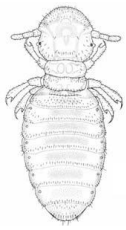

I-6

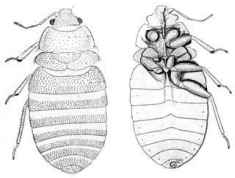
I-7

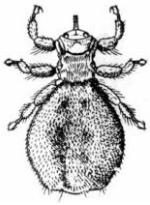

I-8

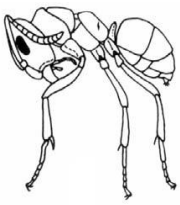
I-9

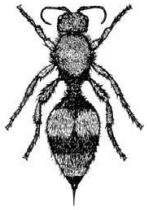

I-10

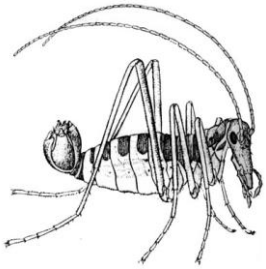

I-11

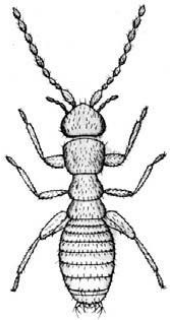

I-12

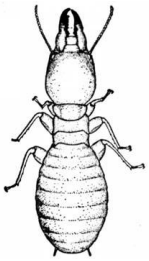

I-13

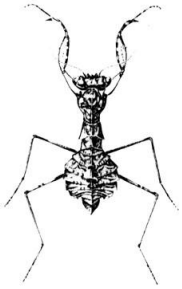

I-14

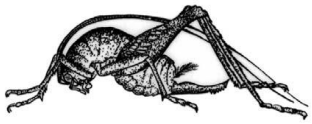

I-15

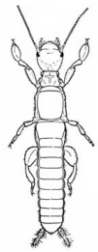

I-16

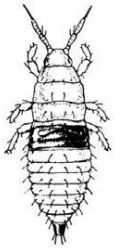

I-17

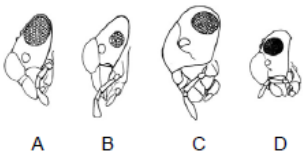

I-18


I-19

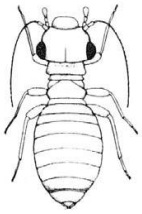

I-20

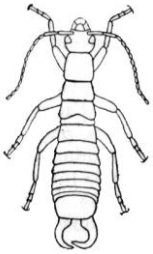

I-21

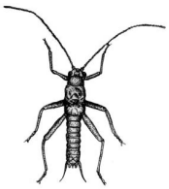

I-22

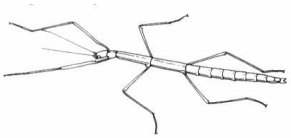


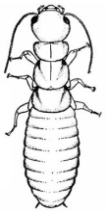
I-23


I-24

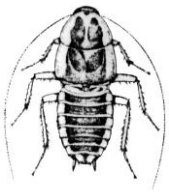

I-25

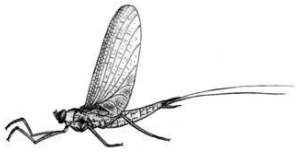

I-26

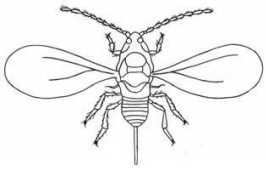

I-27


I-28

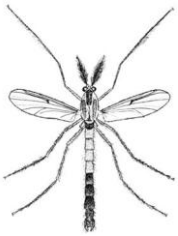
I-29

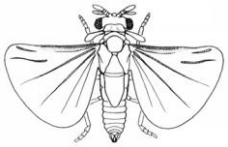

I-30

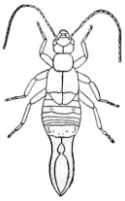

I-31


I-32

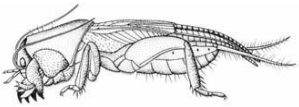
I-33


I-34


I-35

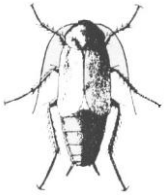

I-36

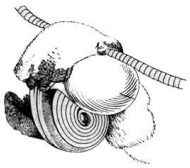
I-37

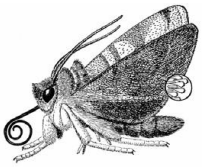

I-38

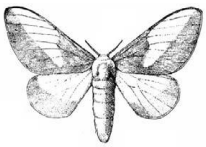
I-39

I-40

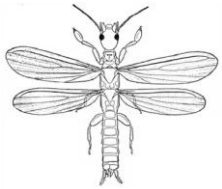

I-41


I-42

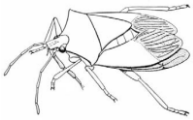

I-43

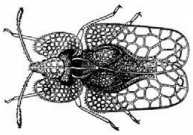

I-44

I-45


I-46

I-47


I-48


I-49

I-50

I-51

I-52

I-53

I-54

I-55

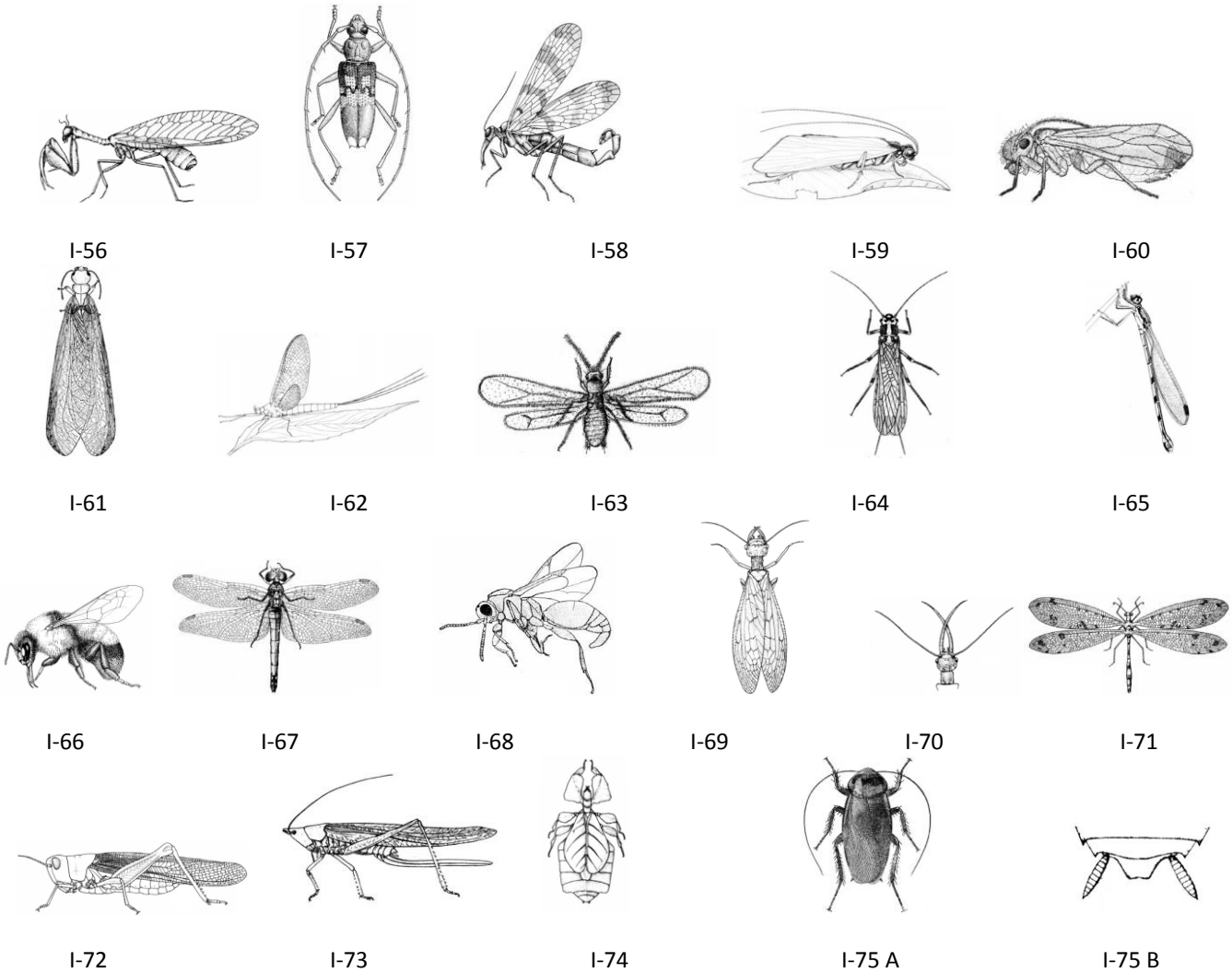

I-56
I-57
I-58
I-59
I-60
I-61
I-62
I-63
I-64
I-65
I-66
I-67
I-68
I-69
I-70
I-71
I-72
I-73
I-74
I-75 A
I-75 B

Fig. 27

Anexo 4 Etiquetagem

_ Os insetos de um museu possuem duas etiquetas: uma de procedência, outra de identificação.

- ✓ A primeira etiqueta a ser colocada é a de procedência, que deve conter:
  - Cidade, estado, país. Ex.: Ipanguaçu, RN, Brasil
  - Data, com mês em algarismo romano. Ex.: 20/XII/2010
  - Nome do coletor, seguido dessa palavra abreviada. Ex.: Macedo, L.P.M. col.

Curitiba - Paraná - Brasil
13/VI/2006
L.M. Almeida leg.

- ✓ A segunda etiqueta, a de identificação, deve conter a informação que se tem sobre o exemplar coletado, ou seja, nome da ordem, da família, género ou espécie.

Insetos montados ou armazenados em via seca:

- Etiquetas de 1,6 X 0,6 cm escrita atinta preta à prova de água, em papel resistente, paralela ao corpo do inseto em distância de mais um menos 1 cm ou na medida padrão (bloco de madeira ou medidor).

Insetos montados ou armazenados em via líquida:

- As etiquetas para os vidros podem ser maiores (proporcionais), em papel vegetal, a lápis ou a marcador.
- Nos insetos preservados em álcool, as etiquetas devem ser colocadas dentro do vidro.

Observação: as informações contidas nas etiquetas devem ser precisas e reais. Segundo Almeida *et al*. (1998), "na ausência de informações corretas do local de coleta ou em casos de erros na atribuição de informações aos exemplares (por exemplo, troca de etiquetas), inúmeras conclusões taxonómicas, sistemáticas, biogeográficas e evolutivas equivocadas podem ser inferidas".

Bibliografia

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.

Cruz, A, Oliveira, E., Freitas, R. (2009). *Manual simplificado de coleta de insetos e formação de insetário*. Goiás, Universidade Federal de Goiás.

Macedo, L. Coleta, Montagem e Conservação de insetos.

Motta, L., Viana, M. (2004). Bioterra – Viver Melhor na Terra. Porto: Porto Editora.

Silva, A.D., Gramaxo, F., Santos, Mª. E., Mesquita A. F., A., Baldaia, L., Félix, J. Mº. (2010). *Planeta Vivo – Sustentabilidade na Terra: Ciências Naturais 8º ano*. Porto: Porto Editora.

Sítios da internet

http://netexplica.com

http://labbioeducacaoambiental.blogspot.com

www.pragas.com.br

http://zoo.bio.ufpr.br