



E

DIRETORIA DE ENSINO NORTE 2

Reunião:

- Palestra do Prof. Dr. Bayardo Baptista Torres – As bases bioquímicas do metabolismo
- Planejamento do uso do material instrucional e de aulas práticas
- Uma viagem sem volta (contrato pedagógico)
- Construção coletiva de jogos como instrumento para uma aprendizagem significativa.

PROJETO CELULAR

17/abril/2007

Oficina Pedagógica - Diretoria de Ensino Norte 2
Rua Plínio Pasqui, 217
Parada Inglesa

As bases bioquímicas do metabolismo

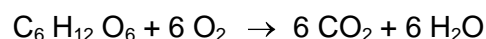
Bayardo Baptista Torres

Depto. de Bioquímica, Instituto de Química, Universidade de São Paulo

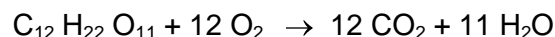
Para que sejam discutidos alguns princípios bioquímicos que regem o metabolismo, responda as questões listadas abaixo; redija, sem identificar-se, todas as dúvidas e informações que gostaria de ver discutidas.

Questões

1. A adenosina trifosfato (ATP) é o composto que fornece energia para todos os processos celulares. Esta informação é correta?
2. O ATP é necessário para a manutenção de todas as células vivas. Certo ou errado?
3. O ATP pode ser classificado como aminoácido, proteína, base nitrogenada, nucleotídeo, enzima, coenzima, todos eles, alguns deles ou nenhum deles?
4. Os animais obtêm ATP a partir da oxidação de alimentos. As bactérias também oxidam compostos com a mesma finalidade? E os vegetais superiores?
5. Assinale, entre os processos a seguir, os que só podem ocorrer com a participação do ATP.
 - a. Conversão de amido a glicose, no trato digestório.
 - b. Síntese celular de proteínas.
 - c. Contração muscular.
 - d. Transporte de íons ou moléculas de uma solução mais concentrada para outra, menos concentrada, separada da primeira por uma membrana permeável ao íon ou molécula.
 - e. Transporte de íons ou moléculas de uma solução menos concentrada para outra, mais concentrada, separada da primeira por uma membrana permeável ao íon ou molécula.
6. É necessário ingerir diariamente carboidratos, lipídios e proteínas? Por que?
7. As tabelas de composição nutricional, encontradas nas embalagens de alimentos, registram o número de calorias contidas no alimento.
 - a. Como se faz para medir a quantidade de calorias presente em um alimento?
 - b. De que adianta saber a quantidade de calorias dos alimentos, se os seres vivos não podem utilizar o calor como fonte de energia? Ou podem?
8. É conhecida a reação de glicose com oxigênio:



Analogamente, poder-se-ia escrever a reação, também possível de sacarose com oxigênio:



Por que o açúcar não se transforma em gás carbônico e água?



UMA VIAGEM SEM VOLTA -

Maria Ligia Coutinho Carvalho

(Depto. Microbiol./Inst. Ciênc. Bioméd./USP) mlcarval@ajato.com.br

&

Maria Silvia Coutinho Carvalho

(Lab. Comunicação e Educação em Saúde/Depto. Med. Prev. e Social/FCM/Unicamp) mariasilviacarvalho@yahoo.com.br

Objetivo da atividade:

Apresentar uma atividade didático-pedagógica capaz de favorecer o processo de ensino/aprendizagem significativo, pela construção coletiva de uma ferramenta contratual da relação: **professor – aluno – grupo – conteúdos -método**

Justificativa:

Estar em sala de aula tem sido um exaustivo exercício de paciência e esforço criativo para professores e alunos. Frequentemente resulta em desgaste da relação entre esses sujeitos submetidos à rigidez curricular. A dificuldade em abrir mão das tradicionais formas de ensinar é proporcional à dificuldade de incorporar novos paradigmas de ensino/ aprendizagem e novas formas de ser e estar em sala de aula. A atividade didática/pedagógica VIAGEM SEM VOLTA insere-se na metodologia de OFICINA e foi criada a partir da necessidade de trabalhar com educadores e cuidadores da área de saúde pública, responsáveis por grupos de pessoas com problemas de saúde.

Condições necessárias:

- Participação ativa de todo o grupo: professores (incluindo o coordenador de disciplina), monitores, técnicos, alunos e outros elementos que participarão do curso.
- Tempo aproximado para um grupo de 40 alunos: Aproximadamente 2 horas.

Metodologia

Etapas de construção coletiva do ônibus:

1. **O desenho esquemático:** O professor traz o desenho esquemático de um ônibus ou outro veículo e inicia a montagem do mesmo (figura abaixo).

2. **Destino:** Identificação do curso. - Para onde queremos ir? Onde queremos chegar?
3. **Peças do Motor:** Métodos a serem utilizados durante o curso ou temas do conteúdo do mesmo;
4. **Parafusos:** que unem as peças do motor: atitudes e valores necessários para que o motor funcione;
5. **Combustível:** Energia Afetiva que permeia o aprendizado. Medos e desejos = expectativas em relação ao curso/viagem que terá início;
6. **Carcaça:** Regras de funcionamento do grupo durante o processo = Limites;
7. **Lubrificante das Rodas:** Disposições e intenções esperadas que contribuem para o bom andamento das rodas;



8. **Espelhos retrovisores e faróis:** Avaliação contínua. Como será a avaliação?;
9. **Pedras no caminho:** possíveis problemas a serem resolvidos durante a disciplina;
10. **Bagagem:** Vivências pessoais de cada passageiro. Exemplo: vivência em grupo, conhecimento sobre determinado tema, etc;
11. **Passageiros:** os passageiros tomam os seus lugares e se identificam ao subirem no ônibus;
12. **Motorista:** Definição de papéis e funções.

Resultados:

A atividade didático-pedagógica "A Viagem sem Volta" permite:

1. O favorecimento aos participantes da tomada de consciência e o fortalecimento do papel de sujeito histórico, de cidadão com seus direitos e deveres, enquanto participantes de um processo;
2. A construção coletiva de um contrato pedagógico envolvendo todos os elementos participantes do curso a ser iniciado;
3. O estabelecimento de um compromisso entre todas as partes envolvidas no processo e legitimação das condições estabelecidas proveniente da construção coletiva do ônibus;
4. A sistematização dos conteúdos e possíveis processos emergentes;
5. A possibilidade de mudanças afetivas e cognitivas e, portanto mudanças na ação;
6. Uma análise do contexto psico-social do grupo sem prejuízo das diferenças individuais;
7. Trabalhar o acolhimento, a apresentação e a integração grupal;
8. Definir diferentes papéis e funções dos integrantes;
9. Uma avaliação permanente do processo de ensino e aprendizagem, pois o painel construído permanece, durante todo o curso ao alcance de todos. Desta forma o painel constitui, para todos os passageiros referência do planejamento, das regras, do compromisso, das prioridades, dos medos e das necessidades e obstáculos a serem contornados.

CONSTRUÇÃO COLETIVA DE JOGOS COMO INSTRUMENTO PARA UMA APRENDIZAGEM SIGNIFICATIVA.

M. Ligia Coutinho Carvalhal
(Depto. Microbiologia. Instituto Ciências Biomédicas/ USP)

“... muitas vezes os educadores se perdem e não conseguem mais atrair a atenção, motivar seus alunos, pois se o educando mudou, o educador também precisa mudar. Os métodos tradicionais de ensino estão cada vez menos atraentes para a criança, ela quer participar, questionar, atuar e não consegue ficar horas a fio sentada ouvindo uma aula expositiva....”

(Maria da Glória Lopes - Jogos na educação: criar, fazer, jogar. Ed. Cortez, 2000)

O objetivo da proposta de construção de jogos em sala de aula é proporcionar ao aluno a possibilidade de relacionar conteúdos e vivências pessoais e, ao mesmo tempo, desenvolver potencialidades e descobrir aplicações para o que precisam aprender de forma significativa.

Sugerimos algumas etapas a serem seguidas para o processo de construção de jogos em sala de aula (Todas as etapas do trabalho estavam apresentadas no calendário e cronograma da disciplina.).

1. Oficina preparatória para sensibilização dos alunos para o processo ser iniciado. Nesta atividade deverá ser também definido qual o objetivo principal da criação do jogo.
2. Pesquisa e definição do público alvo. Discussão sobre a necessidade de conhecermos o público alvo.
3. Sugestão de modelos de jogos a serem utilizados. Trabalhar com alguns jogos e discutir com os alunos possibilidades de utilização dos modelos e regras apresentadas.
4. Definir grupos de trabalho e conteúdo.
5. Definir, o material necessário e sugestões para a confecção.
6. Disponibilizar tempo e material necessário para a realização do trabalho.
7. Acompanhar em períodos seguidos a construção da idéia, do tema e da dinâmica.
8. Marcar dia e horário para a aplicação do jogo em sala de aula ou no público alvo.
9. Construir planilha com questões para avaliação do jogo pelo grupo que construiu e pelos demais grupos.

Porque Jogos?

- O jogo em si possui componentes do cotidiano capazes de despertar o interesse do aprendiz que, desta forma, se torna sujeito ativo do processo de aprendizagem sendo que a confecção dos próprios jogos é ainda mais emocionante do que o próprio jogar.
- O professor tem sempre a possibilidade de adaptar o conteúdo programático ao jogo.
- O jogo é válido para todas as idades, desde o maternal até o adulto.
- O jogo, na medida em que visa um desenvolvimento globalizado, pode interligar diversas áreas do conhecimento atendendo à demanda do aprendiz.

Como um trabalho em grupo ele atende algumas necessidades sociais de inter-relação de respeito a regras, competição e cooperação tanto nos domínios afetivos como cognitivos e muitas vezes motores. No respeito às regras pode desenvolver o autocontrole, a capacidade criativa, o autoconceito, a auto-estima e a valorização pelo desenvolvimento da capacidade de realização.

Objetivos Pedagógicos no Contexto escolar:

1. Trabalhar a ansiedade.
2. Rever limites.
3. Reduzir a descrença na autocapacidade de realização.
4. Diminuir a dependência; desenvolvimento de autonomia.
5. Aprimorar a coordenação motora (quando é o caso).
6. Desenvolver a organização espacial.
7. Aumentar a atenção e a concentração.
8. Desenvolver antecipação e estratégia. Resolução de problemas
9. Ampliar o raciocínio lógico.
10. Desenvolver a criatividade
11. Perceber e ler imagens e textos.
12. Saber jogar cada vez melhor! Ser cada vez um melhor jogador.

Avaliação a ser feita pelo professor:

Verificar se o material preencheu o objetivo inicial que deve ter relação com a aprendizagem significativa:

Para tanto o material deve:

1. Suscitar modificações no comportamento e na relação do aprendiz com o mundo que o cerca.
2. Ter relação com o universo de conhecimentos, experiências e vivências dos alunos.
3. Permitir que o aluno formule problemas e questões que, de algum modo lhe interessem e o envolvam.
4. Permitir que o aluno entre em confronto experimental com problemas práticos de natureza social, ética, profissional que lhes sejam relevantes.
5. Permitir que o aluno participe, com responsabilidade do processo de aprendizagem.

Bibliografia:

Aprendendo com jogos e situações problema: Lino de Macedo.
Jogos na Educação; criar, fazer, jogar. Maria da Glória Lopes, 2000.
Ensaio pedagógico. Lino de Macedo
Almanaque de criação pedagógica. A aventura da explicação: ciência e linguagem. Hercília T. de Miranda e L. C. de Menezes (orgs). Vozes, 2002.

OPÇÕES PARA AULAS PRÁTICAS

A seguir estão apresentadas várias possibilidades de aulas práticas com a utilização de microscopia óptica. O professor pode optar por uma ou mais delas, ou ainda por outras que julgar conveniente. Porém, é importante levar em consideração que o aluno se envolve muito mais em procedimentos dos quais ele participa ativamente. Assim sendo, é recomendável que numa primeira aula o aluno tenha contato com o instrumento de análise das células – o microscópio óptico – tomando conhecimento de suas partes, funcionamento e cuidados no seu uso (ver protocolo na página 8: Conhecendo o microscópio)

Estão apresentados, nas páginas 8 a 16, vários protocolos de aula prática. Cada um deles pode constituir uma aula prática, ou então, segmentos de protocolos podem ser misturados para compor uma aula.

Os alunos que se mostrarem mais interessados e se distinguirem no preparo do material biológico poderão, por exemplo, serem convidados a desenvolver outras práticas para a Feira de Ciência que ocorrerá no segundo semestre.

Informações adicionais para o professor e repostas para as perguntas realizadas nas aulas práticas encontram-se, respectivamente, nos anexos I e II, no final da apostila.

UNIDADES DE MEDIDA DA CÉLULA

- 1 mm (milímetro) = 10^{-3} metro
- 1 μm (micrometro) = 10^{-6} metro (10^{-3} mm)
- 1 nm (nanômetro) = 10^{-9} metro (10^{-3} μm)
- 1 Å (angström) = 10^{-10} metro (10^{-4} μm)

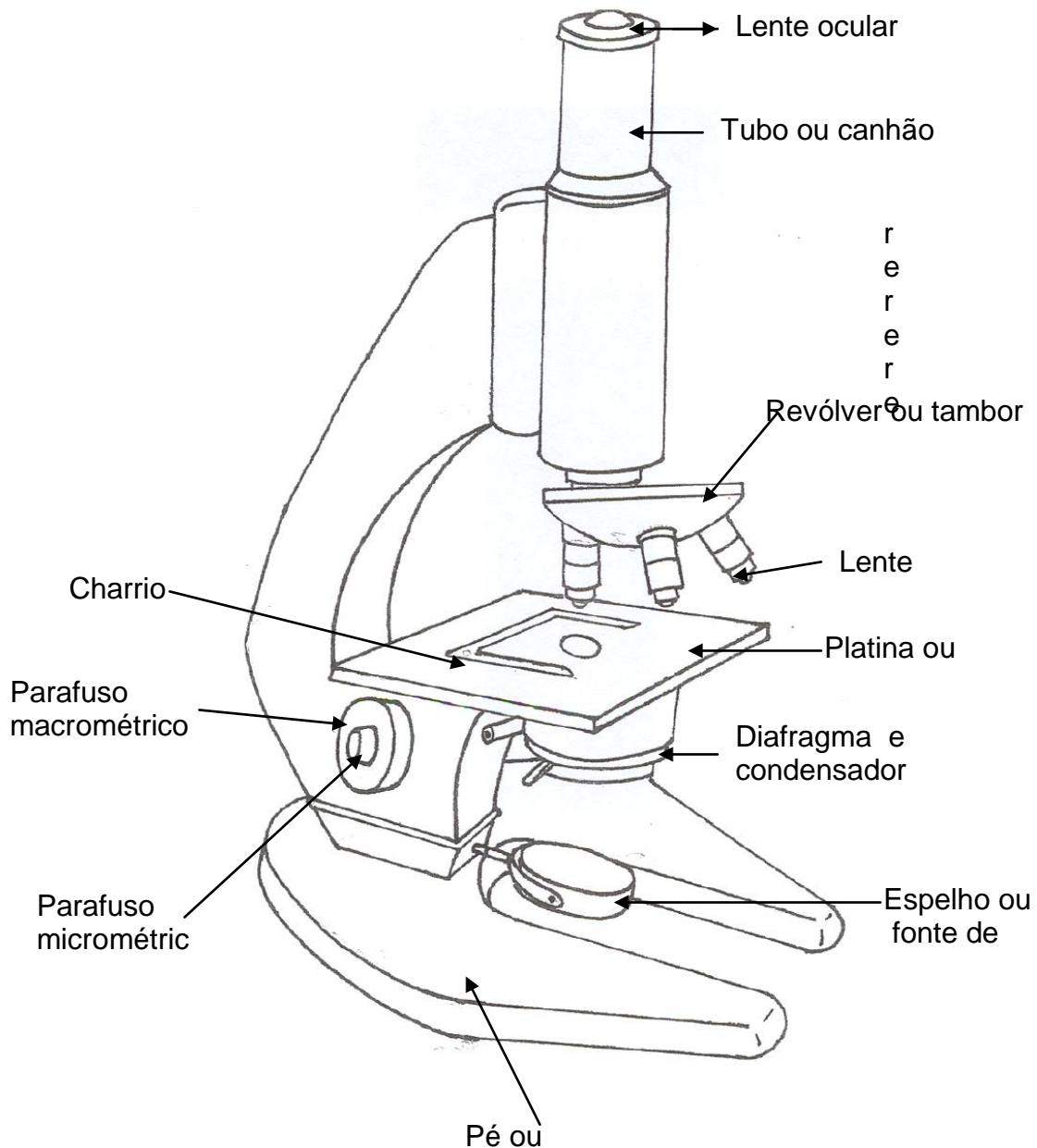
TAMANHOS MÉDIOS DE CÉLULAS E ORGANELAS CELULARES

- diâmetro célula eucariótica animal típica – 10 a 100 μm , a maioria de 10 a 30 μm . Algumas células nervosas podem ter quase 1 metro de comprimento. Os óvulos geralmente são células grandes – o humano, por exemplo, tem mais do 100 μm . (Obs. As células epiteliais geralmente tem grande diâmetro porque são células achatadas)
- diâmetro do núcleo eucariótico – 3 a 10 μm
- diâmetro de uma célula vegetal – 40 μm
- Paramecium – 200 μm
- **Menor objeto visível a olho nu – 100 μm**
- diâmetro de um fio de cabelo bem fino – 30 μm
- célula procariótica típica – 1 a 10 μm de comprimento e 1 μm de diâmetro
- mitocôndria – tamanho de uma bactéria pequena, cerca de 2 μm de comprimento e 1 μm de diâmetro
- cloroplastos – 5 μm
- **diâmetro do menor objeto visível em microscopia óptica – 0,2 μm**
- diâmetro médio do ribossomo – cerca de 20nm
- espessura média da membrana celular – 7nm
- diâmetro da molécula de DNA – 2 nm
- **menor objeto visível em microscopia eletrônica – 0,5 nm**
- átomos – 0,05 a 0,15 nm

I. Conhecendo o microscópio

(protocolo do aluno)

A vista humana não pode perceber objetos com diâmetros inferiores a um décimo do milímetro. Estão abaixo dessa medida as células dos organismos eucarióticos, as bactérias, ovos de vermes e muitas estruturas dos seres vivos. O microscópio óptico é utilizado para a observação de células vivas ou mortas (coradas e fixadas).



O microscópio óptico tem duas partes:

1. Parte mecânica

- Pé ou base - é o local de apoio do aparelho feito de ligas de metais pesados;
- Estativa, braço ou coluna – suporte pesado que sustenta os tubos, a mesa, o porta-condensador, os parafusos micro e macrométrico;
- Platina ou mesa – redonda ou quadrangular, pode ser fixa, móvel ou giratória no plano horizontal. Sobre ela fica a lâmina com o material a ser observado. Apresenta uma abertura no seu centro permitindo a passagem dos raios luminosos, coletados pelo espelho e convergindo sobre o material da lâmina pelo condensador e diafragma. Os raios chegam através da lente objetiva do tubo e da ocular até o globo ocular (retina) do observador;
- Tubo ou canhão – nos microscópios monoculares (que possuem uma só ocular), o tubo representa um cilindro metálico que pode ser reto ou oblíquo. Os microscópios binoculares (que possuem duas oculares) podem ser inclinados, com ajuste para as distâncias entre os olhos de cada observador;
- Parafusos: macrométrico – com eles pode-se fazer a focalização grosseira do material. Possui um percurso vertical com cerca de 7,5cm, e micrométrico – focalização mais limitada, permitindo o deslocamento do tubo a apenas dois milésimos de milímetro ou menos;
- Revólver ou tambor – fica acima da platina. As objetivas se encaixam numa peça rotatória e giram sempre no sentido do menor para o maior aumento;
- Charriot – peça opcional – localizada na mesa e que serve para movimentar a lâmina no campo

2. Parte óptica

- Lente ocular – encaixada na extremidade superior do tubo, sua função é aumentar a imagem formada pela objetiva. As oculares fornecem, geralmente, ampliações iguais às obtidas por lentes ou lupas manuais. O aumento fornecido pela ocular está, geralmente, gravado nela própria. Por exemplo: 5x, 8x, 10x, etc.
- Lente objetiva – fornece a imagem ampliada de um objeto qualquer. Pode também corrigir os defeitos das cores dos raios luminosos. Em todas as objetivas há sistemas secos e de imersão. Para se aproveitar a maior quantidade de luz possível, coloca-se entre a objetiva e a lamínula uma gota de óleo de cedro. Quanto maior for a ampliação, menor é a quantidade de raios luminosos que atravessa o tubo do microscópio. Com esse processo, captam-se os feixes luminosos que com as objetivas secas são desviados. O aumento fornecido por cada uma das objetivas está nelas gravado.
- Condensador ou diafragma – localizado abaixo da platina, sua função principal é fornecer bastante luz, indispensável nas grandes ampliações do material a ser observado. Fecha-se o diafragma quando se usam objetivas de pouco aumento, para eliminar os raios laterais. Abre-se o diafragma na medida em que se aumenta as ampliações.
- Espelho ou fonte de luz – é encaixado por baixo do condensador, num vão do pé do microscópio. É redondo e possui duas faces: uma plana e outra côncava. A face plana colhe e projeta os raios paralelos e divergentes. É usado nas grandes ampliações e na imersão. A face côncava colhe e projeta os raios convergentes e é usado nas pequenas ampliações.

Usando o microscópio responda:

1. Que peça se move quando giramos o parafuso macrométrico?
2. O que ocorre quando se gira o parafuso micrométrico? O movimento é tão nítido quanto o anterior? Para que serve?

3. Eleve o canhão girando o macrométrico e observe as objetivas. São todas iguais e do mesmo tamanho? Verifique os números gravados nas objetivas.
4. Qual o procedimento para se calcular o aumento que o microscópio fornece?
5. Qual a função do espelho?
6. Onde se coloca a lâmina preparada para a observação do material e qual objetiva deve ser inicialmente usada?
7. A que distância da lâmina deve focar a objetiva antes de ser focalizado o material desejado?
8. Que parafuso deve ser usado inicialmente para focalizar o material?
9. Para que serve o micrométrico?
10. Que outras partes do microscópio você deverá controlar para obter maiores aumentos?
11. Para ter certeza de que a preparação está em cima do foco de luz você observa por fora do microscópio ou diretamente através da ocular?
12. Qual o procedimento para saber de quantas vezes é o material observado tem a sua imagem aumentada?
13. Acoplado ao condensador existe um diafragma. Mova a alavanca do diafragma e verifique o que ocorre.
14. Colocar a objetiva de menor aumento, abaixar o canhão girando o macrométrico. Procurar achar uma posição do espelho que ilumine o interior do tubo. Tanto melhor será a focalização quanto mais claro estiver o círculo que você está vendo. Este círculo é o campo do microscópio. Quando você quiser mostrar qualquer coisa que estiver observando deverá coloca-la no centro geométrico do campo iluminado. Na ocular há uma pestana (que funciona como uma seta). Girando-se a ocular a pestana se move e você pode usa-la para indicar uma estrutura que esteja querendo mostrar para alguém.
15. Colocar um pedaço de jornal com aproximadamente 1cm^2 e preparar uma lâmina procedendo da seguinte maneira:
 - a. limpar bem a lâmina e, com um conta-gotas, pingar uma gota de água;
 - b. sobre a gota colocar o pedaço de jornal e esperar alguns segundos;
 - c. sobre o jornal colocar uma lamínula limpa;
 - d. se houver bolhas de ar pressionar levemente uma pinça sobre a lamínula;
 - e. levar a preparação ao microscópio;
 - f. observar em menor aumento (100x, sendo 10x da objetiva e 10x da ocular)
16. Se você precisar transportar um microscópio, qual a melhor maneira de segura-lo?

Precauções no uso do microscópio

1. Ao transporta-lo, use as duas mãos, segurando com uma delas o braço e com a outra a base do aparelho.
2. durante o trabalho seguir as seguintes instruções:
 - a. não gire indefinidamente o micrométrico para mover o canhão. Ele é usado girando-o para frente e para trás para ajustar o foco e para observações de profundidade
 - b. não passe o dedo nas lentes para limpá-las. Se elas estiverem sujas chame o professor
 - c. não molhe o microscópio quando estiver usando preparações feitas com água; se isso ocorrer chame o professor;
 - d. não usaremos** a objetiva de maior aumento (100x)
 - e. não desmonte qualquer parte do microscópio
3. Quando acabar o trabalho com o microscópio desligar a lâmpada, retirar a lâmina que você terminou de observar, colocar a objetiva de menor aumento e abaixar o canhão.

II. Observação de células vegetais

Material necessário

- Lâminas e lamínulas
- Solução de azul de metileno a 0,3% e água
- Conta gotas
- Cebola, tomate maduro, folhas de *Eloдея* e flor de *Tradescantia*
- Pinça e lâmina de barbear
- Papel de filtro
- microscópio

Procedimento para visualizar epiderme de tomate

- Preparar uma lâmina colocando, sobre ela, uma gota de água.
- Com o auxílio de uma lâmina de barbear recortar um triângulo, de cerca de 1cm de lado, na superfície de um tomate maduro.
- Com um pinça de ponta fina retirar a epiderme (1ª camada externa) do pedaço recortado e colocá-la sobre a gota de água na lâmina.
- Cobrir a epiderme com uma lamínula.
- Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.
- Colocar a preparação entre dois pedaços de papel de filtro e pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.
- Observar ao microscópio óptico. Inicialmente, focalizar o material usando a objetiva de 10x e em seguida a de 40x. Mexer vagarosamente o micrométrico do microscópio para obter o melhor foco.
- Fazer um desenho das células observadas.

Procedimento para visualizar epiderme de cebola

- Retirar a casca de uma cebola.
- Com o auxílio de um conta-gotas pingar uma gota de azul de metileno sobre uma lâmina.
- Com o auxílio de uma lâmina de barbear recortar um triângulo, de cerca de 1cm de lado, na parte inferior de uma das camadas da cebola.
- Com um pinça de ponta fina retirar a epiderme inferior do pedaço recortado e coloca-la sobre o azul de metileno na lâmina.
- Com um conta-gotas pingar uma gota de azul de metileno sobre a epiderme da cebola e em seguida cobrir a preparação com uma lamínula.
- Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.
- Colocar a preparação entre dois pedaços de papel de filtro e pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.
- Observar ao microscópio óptico. Inicialmente, focalizar o material usando a objetiva de 10x e em seguida a de 40x. Mexer vagarosamente o micrométrico do microscópio para obter o melhor foco.
- Fazer um desenho das células observadas.

Procedimento para visualizar folhas de *Elodea*

- Com um conta-gotas pingar sobre uma lâmina uma gota de água.
- Com o auxílio de uma lâmina de barbear cortar um pedaço, com cerca de 1cm, de uma folha de *Elodea*.
- Com uma pinça de ponta fina colocar o pedaço de folha sobre a lâmina contendo a gota de água.
- Cobrir a folha com uma lamínula.
- Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.
- Observar ao microscópio óptico. Inicialmente, focalizar o material usando a objetiva de 10x e em seguida a de 40x. Mexer vagarosamente o micrométrico do microscópio para obter foco.
- Após alguns minutos observe a movimentação do citoplasma (ciclose) nas células (utilize aumento de 100x)
- Fazer um desenho das células.
- Descrever, por escrito, a ciclose.

Procedimento para visualizar pêlo estaminal de *Tradescantia*

- Com o auxílio de um conta-gotas, pingar uma gota de água numa lâmina.
- Com uma pinça retirar um pêlo do estame de uma flor de manto-de-viúva e coloca-lo sobre a lâmina com uma gota de água.
- Cobrir a preparação com uma lamínula
- Observar ao microscópio.
- Fazer um desenho das células.
- Após alguns minutos observe a movimentação do citoplasma (ciclose) nas células de *Elodea* e no pêlo estaminal de *Tradescantia* (utilize aumento de 100x)
- Descrever a ciclose.

Responder as questões:

1. Porque não é necessário corar a epiderme de tomate e a folha de *Elodea* para visualizar as células ao microscópio?
2. Qual a função do azul de metileno?
3. As células observadas são do mesmo tamanho?
4. Como você faria para medir o tamanho dessas células?
5. Quais as estruturas das células possíveis de serem observadas em cada uma das preparações?
6. Sugira uma explicação para o fato de podermos ver facilmente os cloroplastos, mas não outros componentes como o complexo de Golgi, o retículo endoplasmático ou as mitocôndrias.

III. Observação de células humanas

Esfregaço de mucosa bucal (adaptado de *Atividades Experimentais e Didáticas de Biologia Molécula e Celular – Elgion L.S.Loreto e Lenira M.N.Sepel. Sociedade Brasileira de Genética, 2002.*)

Material necessário

- lâminas e lamínulas
- palitos de fósforo
- lamparina
- álcool 70%
- azul de metileno 0,5%
- papel de filtro
- frasco com capacidade de 250 mL (Becker ou outro vidro de uso doméstico)
- microscópio

Procedimento

1. Com um palito de fósforo, raspar a parte interna da bochecha e, depois, esfregar o palito sobre uma lâmina de vidro.
2. Colocar o etanol 70% no recipiente plástico para tratamento de lâminas.
3. Mergulhar a lâmina com as células no etanol 70%. Aguardar 2 minutos.
4. Colocar uma gota de azul de metileno sobre o material e aguardar 2 minutos
5. Com o auxílio de uma pisceta remover o excesso de azul de metileno jogando sobre a lâmina um jato de água.
6. Cobrir a preparação com uma lamínula. Secar a parte inferior da lâmina e observar ao microscópio com aumento de 100x e, em seguida, com 400x.
7. Desenhar as células observadas em aumento de 400x.

Responder as questões:

1. Ao raspar a bochecha com um palito de fósforo que tipo de tecido está sendo coletado?
2. Você pode pensar em uma explicação do porquê tratar as células com etanol 70%?
3. Qual a função do azul de metileno?
4. Quais são as estruturas da célula de bochecha que podem ser visualizadas?
5. Por que as células da preparação de bochecha aparecem isoladas umas das outras e não unidas como em um tecido?

IV. Observação de osmose em células vegetais

Material necessário

- Lâminas e lamínulas
- solução de azul de metileno (0,5%)
- folhas de *Elodea*
- lâmina de barbear e pinça
- Conta-gotas
- Água destilada
- Solução saturada de NaCl (cloreto de sódio = sal de cozinha)

Procedimento

- Com o auxílio de uma lâmina de barbear cortar um pedaço, com cerca de 0,5cm, de folha de *Elodea*.
- Com um pinça de ponta fina colocar o pedaço de folha sobre uma lâmina. Usando um conta-gotas pingar sobre a folha uma gota de água.
- Cobrir a folha com uma lamínula.
- Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.
- Observar ao microscópio e desenhar as células.
- Com o auxílio de um conta-gotas pingar, em um dos lados da lamínula, uma gota de uma solução saturada de NaCl. Do lado oposto ao que foi colocada a gota de cloreto de sódio, encostar um papel-filtro de forma a substituir a água pela solução de cloreto de sódio.
- Aguardar 1 minuto.
- Observar ao microscópio e desenhar novamente as células.
- Descrever o que aconteceu com as células após a colocação do cloreto de sódio.

Responder as questões

1. Quais as estruturas das células que foram observadas?
2. Por que podemos ver facilmente os cloroplastos, mas não o complexo de Golgi, o retículo endoplasmático ou as mitocôndrias?
3. Qual a evidência observável de que ocorreu perda de água do interior da célula para o meio quando a *Elodea* foi colocada em uma solução concentrada de cloreto de sódio?
4. A solução de NaCl é hipotônica ou hipertônica em relação ao meio interno da célula?
5. É possível prever o que vai ocorrer com as células da *Elodea* se elas forem retiradas da solução de cloreto de sódio e colocadas novamente em água? Explicar.
6. Se você quiser testar a sua explicação (hipótese) realize o experimento.
7. O que é osmose? Quando ela ocorre?

V. RECEITA CASEIRA PARA EXTRAÇÃO DE DNA DO TOMATE

Material necessário

- 1 tomate bem maduro
- 2 copos de vidro transparente (pode ser copo de requeijão)
- 1 colher
- sal de cozinha
- detergente de lavar louça transparente
- filtro de papel para coar café com seu suporte
- 1 peneira
- álcool Zulu 95%

Procedimento

1. Picar um tomate grande em pequenos pedaços e colocar os pedaços em um copo grande.
2. Num outro copo misturar 150 mL de água, uma colher de sopa de detergente e uma colher de chá de sal de cozinha. Mexer bem, porém cuidadosamente para não fazer muita espuma. Colocar essa mistura sobre os pedaços de tomate.
3. Colocar em banho-maria a 65°C por 30 minutos. Caso não haja um banho-maria disponível pode se usar água norma e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos. Mexer de vez em quando.
4. Resfriar a mistura colocando o recipiente em uma bacia de gelo ou em água a temperatura ambiente.
5. Coar a mistura em uma peneira para retirar os pedaços e em seguida coar a solução aquosa em um filtro para café. Colocar o líquido resultante em um copo ou outro recipiente transparente (apenas cerca de 3 dedos no fundo de um copo)
6. Despejar delicadamente sobre a solução dois volumes de álcool comum. Não misturar o álcool com a solução. Aguardar cerca de 3 minutos para o DNA começar a precipitar na interfase.
7. Passo opcional. Usar um palito de madeira (usado para comer comida chinesa) para enrolar as moléculas de DNA. Gire o palito na interface entre a solução e o álcool.

Responder as questões:

1. Por que é necessário cortar o tomate em pequenos pedaços ou então amassa-lo bem?
2. O rompimento das membranas das células do tomate ocorre em que passo do protocolo? Explique.
3. Qual a função do sal?
4. Qual o papel do álcool?
5. Por que você não pode ver a dupla hélice?
6. Considerando os procedimentos de extração do DNA genômico você espera obtê-lo sem quebras mecânicas e/ou químicas?

Observações:

O mesmo protocolo pode ser usado para a extração de DNA de uma cebola grande, descascada, ou ainda para uma banana. A banana pode ser amassada com o garfo, em vez de cortada. No caso de se desejar extrair DNA de morango, ao invés de cortar em pequenos pedaços coloque-o dentro de um saquinho zip, feche-o, e amasse o tecido do morango com os dedos. Dois morangos são suficientes. O mesmo procedimento de amassar entre os dedos pode ser usado para o tomate caso ele esteja bem maduro.

VI. RECEITA CASEIRA PARA EXTRAÇÃO DE DNA DE FÍGADO

<http://www.odnavaiaescola.com/bifedefigado.html>

Material Necessário

- Um bife de fígado de aproximadamente 300 g
- -Liquidificador doméstico
- Sal
- Detergente de lavar louça transparente
- Água morna
- Copos de vidro transparente
- Palitos
- Álcool (isopropanol)
- Um coador

Procedimento

1. Cortar o bife em pequenos pedaços e coloca-los no liquidificador
2. Adicionar água morna com sal (aproximadamente 5 pitadas)
3. Bater por uns 10 segundos
4. Despejar a mistura batida num coador de papel apoiado em um copo. Encher o copo até mais ou menos a metade.
5. Acrescentar à mistura coada, lentamente para não fazer bolhas, 2 a 3 colheres de chá de detergente.
6. Lentamente adicionar o isopropanol ao copo até encher. Não misturar o álcool com a solução, deixar o álcool permanecer como uma camada isolada no topo da solução. Esperar 5 minutos. O DNA deverá surgir na superfície da solução. Pesque o DNA com um palito!
7. Parabéns! Você extraiu DNA!

Responder as questões:

1. Qual a função do sal?
2. O que o faz o liquidificador?
3. O que acontece quando se adiciona o detergente?
4. Qual o papel do álcool?
5. Por que você não pode ver a dupla hélice?

Observação:

Este protocolo precisa ser testado antes de ser aplicado em sala de aula.

ANEXO 1

INFORMAÇÕES ADICIONAIS PARA O PROFESSOR

NOVIDADES NO SITE DO “O DNA VAI A ESCOLA”

<http://www.odnavaiaescola.com/dna>

I. MICROSCÓPIO E DE SUA UTILIZAÇÃO

Cuidados com o microscópio

A boa conservação dependerá em grande parte dos cuidados que se tiver com o microscópio que se está utilizando. É extremamente necessário que se deixe o microscópio perfeitamente limpo. Esse procedimento contribuirá para a conservação e durabilidade do aparelho. Assim:

- transporte o microscópio segurando-o pela estativa e pelo pé;
- para focalizar a preparação mova o tubo sempre de baixo para cima
- não guarde substâncias líquidas ou sólidas na mesma caixa do microscópio, exceto a sílica que serve para retirar a umidade do ar;
- não retire nenhuma das peças do aparelho;
- conserve-o sempre limpo e em ordem
- após o uso, proteja-o com uma caixa, plástico ou pano, para que não se encha de poeira.

Precauções no uso do microscópio

Ao transporta-lo, use as duas mãos, segurando com uma delas o braço e com a outra a base do aparelho.

durante o trabalho seguir as seguintes instruções:

- não gire indefinidamente o micrométrico para mover o canhão. Ele é usado girando-o para frente e para trás para ajustar o foco e para observações de profundidade
- não passe o dedo nas lentes para limpá-las. Se elas estiverem sujas chame o professor
- não molhe o microscópio quando estiver usando preparações feitas com água; se isso ocorrer chame o professor;
- não usaremos a objetiva de maior aumento (100x)
- não desmonte qualquer parte do microscópio
- Quando acabar o trabalho com o microscópio desligar a lâmpada, retirar a lâmina que você terminou de observar, colocar a objetiva de menor aumento e abaixar o canhão.

Manejo do microscópio

A intensidade luminosa é regulável: aumenta-se a intensidade luminosa subindo-se o condensador e abre-se o diafragma ou diminui-se a intensidade luminosa descendo o [condensador](#) e baixa-se o [diafragma](#).

A ampliação consiste no grau de aumento da imagem em relação ao objeto. A ampliação total obtida com o microscópio óptico consiste no produto da ampliação da objetiva pela ampliação da ocular. Esta, sem distorção, não ultrapassa as 1200x.

O fator mais significativo para a obtenção de uma boa imagem é, contudo, o [poder de resolução](#), que corresponde à distância mínima que é necessário existir entre dois pontos para que possam ser distinguidos ao microscópio. Para o microscópio óptico essa distância é de 0,2 µm devido ao comprimento de onda das radiações visíveis. Com efeito, a propriedade da ampliação só tem interesse prático se for acompanhada de um aumento do [poder de resolução](#).

Se a lâmina não está corada (exame a fresco): a observação é feita apenas com objetivas secas, do seguinte modo:

1. Desce-se o condensador e sobe-se o diafragma para que a iluminação não seja muito intensa, já que as lâminas não estão coradas.
2. Com a objetiva de 10x escolhe-se o pormenor a observar.

3. Seguidamente foca-se com a objetiva de 40x, fazendo uma primeira aproximação da objetiva à lâmina por controlo visual externo, e só depois a focagem por afastamento usando o parafuso macrométrico e posteriormente o micrométrico para focagem final.

Se a lâmina está corada a preparação pode também ser analisada com objetiva de imersão procedendo do seguinte modo.

1. Sobe-se o condensador, abre-se o diafragma e regula-se a iluminação da fonte luminosa no máximo, de modo a conseguir-se uma iluminação intensa, apropriada para a observação de lâminas coradas.
2. Coloca-se na lâmina uma gota de óleo de imersão e procede-se à focagem. Primeiro aproximando a objetiva à lâmina com controlo visual externo, seguidamente a focagem propriamente dita com o parafuso macrométrico e finalmente o aperfeiçoamento da focagem com o parafuso micrométrico.
3. Alguns microorganismos estão no limiar do poder de resolução do microscópio óptico. A sua observação pode ser facilitada com o emprego de técnicas especiais de microscopia óptica.

Para a correta observação do material citológico seguir o seguinte procedimento:

1. Ligar a fonte luminosa.
2. Colocar a preparação a observar a mesa ou platinado.
3. Com o auxílio do condensador e do diafragma obter uma boa iluminação
4. Rodando a cremalheira aproximar a objetiva de 10x o mais perto possível da preparação (cerca de 0,5 cm).
5. Rodando novamente a cremalheira, puxar a objetiva de 10x para cima até obter uma imagem nítida do espécime.
6. Depois da preparação estar focada com a objetiva de 10x focar com a objetiva de 40x. Com o auxílio do parafuso micrométrico podem-se obter diferentes planos das estruturas a observar.
7. Caso seja necessário recorrer a uma ampliação mais elevada (objetiva de 100x) proceder do seguinte modo: afastar a objetiva de 40x e, sobre a preparação, colocar uma gota de óleo de imersão. Em seguida, com o auxílio do parafuso micrométrico, focar com a objetiva de 100x. Quando se utiliza o óleo de imersão deve evitar-se o seu contacto com as objetivas de 10 e 40x.

II. OBSERVAÇÃO DE CÉLULAS VEGETAIS

A *Elodea* é uma planta ornamental usada em aquários facilmente adquirida em lojas especializadas. É uma monocotiledónea pertencente a família Hydrocharitaceae. As folhas são ótimas para observação de ciclose, uma vez que os cloroplastos são grandes e possuem apenas duas camadas de células.

A Tradescantia, conhecida como manto-de-viúva, é facilmente encontrada em jardins ou em áreas com ervas daninhas.

A **ciclose** é um movimento do hialoplasma, principalmente em estado de sol, formando uma corrente que carrega as diversas organelas e distribui substâncias ao longo do citoplasma. Nesse movimento, são arrastados os cloroplastos para um local de maior intensidade luminosa da célula. A ciclose pode ser bem observada no endoplasma de muitas células vegetais.

Vídeo com ciclose - <http://azolla.fc.ul.pt/aulas/Elodea2.mov>

Cebola – *Allium cepa*

Para observar com detalhes das células vegetais é necessário a utilização de corantes específicos como, por exemplo, verde iodo e carmim aluminado para parede celular; vermelho de Sudão III para cutícula e vermelho neutro para vacúolo.

O **azul de metileno** é um composto aromático heterocíclico solúvel em água, com fórmula molecular: $C_{16}H_{18}ClN_3S$. O azul de metileno é usado como um corante e como indicador. Tem muitas aplicações nos mais variados campos como a biologia e da química. Azul de Metileno é um remédio de cor azul, vendido em farmácias comuns, o azul de metileno é um antídoto específico e está indicado a qualquer paciente com sintomas e/ou sinais de hipóxia (mudanças mentais, taquicardia, dispnéia, dor torácica).

III. OBSERVAÇÃO DE CÉLULAS HUMANAS

Fixação é o processo de preservação dos componentes estruturais dos tecidos. A maior parte dos tecidos não pode ser observada *in vivo*. Devido a esse fato, eles devem ser submetidos a processos de fixação para que suas estruturas morfológicas se mantenham preservadas. Vários processos degenerativos de autólise celular, denominados degeneração *post-mortem*, ocorrem logo após a morte dos tecidos. A fixação é a primeira etapa para a obtenção de uma preparação citológica permanente e tem as seguintes finalidades: (i) evitar a autólise, que é a destruição da célula pelas suas próprias enzimas; (ii) impedir a atividade e a proliferação de bactérias; (iii) endurecer as células, para que possam resistir melhor às etapas seguintes da técnica citológica; (iv) aumentar a afinidade das estruturas celulares pelos corantes citológicos, tornando-as assim mais facilmente coráveis. Para evitar a autólise que se inicia logo após a morte dos tecidos e a própria digestão do material por bactérias, deve-se empregar substâncias que, ao ligarem-se aos principais componentes estruturais do tecido (geralmente proteínas), mantenham a estrutura do material a ser estudado. As substâncias que executam o processo de fixação são chamadas fixadores. Os fixadores são substâncias químicas que matam rapidamente as células, conservando a morfologia e composição. A fixação pode ser realizada por agentes físicos, como o calor, que é muito utilizado para as fixações de bactérias e leveduras. O outro método consiste na utilização de agentes químicos. Os principais fixadores são tetróxido de ósmio, bicromato de potássio, formol, álcool, ácido acético, etc. Nos diferentes métodos de fixação devemos distinguir entre fixação de material biológico para observação ao microscópio óptico e fixação para microscopia eletrônica, dado que a capacidade de resolução em microscopia óptica não vai além da estrutura celular, enquanto a microscopia eletrônica consegue mostrar imagens ao nível da ultraestrutura celular. O mecanismo de ação dos fixadores é pouco conhecido. Alguns fixadores precipitam as proteínas, como o cloreto de mercúrio e o ácido pícrico, enquanto outros apenas provocam a sua coagulação, como o aldeído fórmico, o tetróxido de ósmio e o ácido glutárico ou glutaraldeído. Substâncias como o formol e o aldeído glutárico fixam as células por se combinarem com os grupos amínicos das proteínas, estabelecendo pontes entre aminoácidos da mesma cadeia polipeptídica ou de cadeias polipeptídicas diferentes.

Coloração é a técnica que permite evidenciar as diferentes estruturas celulares e tissulares. A grande maioria de estruturas celular e tissular é transparente, incolor e com um índice de refração muito próximo, o que dificulta a sua observação. Daí a necessidade da utilização de corantes histológicos que evidenciem tais estruturas. As técnicas procuram associar o caráter básico ou ácido do corante a ser utilizado ao do material a ser evidenciado. Desta maneira cria-se o agrupamento químico responsável pela cor, ou agrupamento cromóforo. As estruturas ricas em agrupamentos básicos, como é o caso das proteínas, são acidófilas, por terem afinidade para corantes ácidos. Por seu lado, as moléculas ácidas como o DNA e o RNA, por exemplo, são estruturas basófilas por terem afinidade por corantes ácidos. Os corantes usados em histologia são substâncias químicas orgânicas que podem classificar-se de acordo com vários critérios. O mais simples baseia-se nos componentes tissulares e celulares. Os corantes podem ser de uso geral, para corar o núcleo ou o citoplasma, ou podem ser mais específicos relativamente a determinados componentes ou estruturas. Os principais corantes são: vermelho-neutro (para vacúolos); verde-janus B (para mitocôndrias); azul de metileno (para citoplasma); eosina (corante ácido) e hematoxilina (corante básico).

Deve ser referido que muitos corantes necessitam de métodos especiais de fixação e preparação dos tecidos. Considera-se que os corantes de uso geral podem ser ácidos ou bases, mas, de fato, são sais neutros que apresentam radicais ácidos ou básicos. Quando a propriedade tintorial do corante está nos radicais básicos diz-se que o corante é básico e as estruturas por ele coradas dizem-se basófilas. Os corantes básicos têm carga positiva. Na maior parte dos casos as substâncias basófilas que atraem os corantes são, elas mesmas, ácidas, como por exemplo, os ácidos nucleicos do núcleo e os componentes ácidos do citoplasma, como o ácido ribonucleico (RNA). De modo semelhante, quando a propriedade tintorial está nos radicais ácidos falamos de um corante ácido, o qual tem carga negativa. As estruturas ou componentes da célula que coram com os corantes ácidos, como é caso do citoplasma, dizem-se acidófilas. O corante básico de uso mais freqüente é a hematoxilina, cuja propriedade colorante depende da presença em solução do produto da sua oxidação, a hemateína. A hematoxilina não cora diretamente os tecidos, mas necessita de um elemento de ligação (chamado mordente) a estes. Esta tarefa é levada a cabo por um cátion metálico como o ferro, o alumínio ou o tungstênio. Existe uma grande variedade de hematoxilinas disponíveis,

as quais variam na intensidade e/ou na tonalidade de coloração, baseando-se escolha, parcialmente, no íon metálico usado. Quando se aplica este corante os núcleos aparecem corados de azul. As colorações pelas hematoxilinas podem ser "regressiva" ou "progressivas". Com uma coloração regressiva, as secções são colocadas na solução de hematoxilina durante um determinado período de tempo, após o que são colocadas numa solução ácida-alcoólica, a qual vai remover parte do corante. Este método funciona melhor em grandes tinas de coloração e os resultados devem ser avaliados dia a dia. Com as colorações progressivas o corante é colocado sobre a secção até a intensidade de coloração pretendida ser atingida. Outros corantes básicos muito utilizados são os corantes básicos de anilina, e incluem o azul de toluidina e o azul de metileno. Estes corantes são também utilizados na identificação de proteoglicanos os quais sofrem uma coloração metacromática, ou seja, apresentam uma cor diferente da do corante utilizado. Parece que as substâncias que apresentam propriedades metacromáticas conseguem concentrar o corante, por acumulação de moléculas do mesmo, cujas propriedades de absorção são diferentes das que apresentam as moléculas individuais do corante. A mucina, a matriz cartilaginosa e os grânulos das células adiposas, por exemplo, são facilmente demonstradas devido à sua coloração metacromática. Outros corantes básicos de anilina de uso freqüente são o azul brilhante de cresilo, o vermelho neutro e o verde de Janus, os quais, por não serem tóxicos podem igualmente ser usados em colorações vitais no estudo de tecidos vivos. Os corantes ácidos, usados habitualmente para corar o citoplasma, incluem a eosina, o ácido pícrico, corantes ácidos azóicos, como o cromotrope, e corantes ácidos diazóicos como o azul de trípano e o vermelho de trípano. Estes dois últimos podem também ser usados como corantes vitais. Existe igualmente uma grande quantidade de eosinas as quais variam na tonalidade de coloração. Quando se aplica a eosina, as estruturas citoplasmáticas e as substâncias intercelulares aparecem com uma coloração rosa. A maior parte dos cortes histológicos é corada pela combinação de um corante básico com um corante ácido. A combinação mais freqüente é a hematoxilina e eosina (H&E), resultando as estruturas nucleares coradas de azul ou púrpura escuro, e praticamente todas as estruturas citoplasmáticas e as substâncias intercelulares de rosa. Os métodos tricrômicos, como o de Mallory, para tecido conjuntivo, e o de Mallory-Azan, têm a vantagem de diferenciar as estruturas citoplasmáticas dos materiais intercelulares. O tricrômico de Masson é outro método muito utilizado resultando em fibras do tecido conjuntivo coradas de verde, as estruturas citoplasmáticas de vermelho e os núcleos de azul ou de púrpura. Embora não haja corantes verdadeiramente específicos para o colágeno, este se demonstra melhor com os corantes ácidos de anilina dos métodos tricrômicos. As fibras elásticas, por seu lado, apresentam uma intensa acidofilia e podem ser coradas de forma seletiva com orceína ou com resorcina. Por outro lado, as fibras reticulares podem evidenciar-se de modo específico através da precipitação de prata numa solução alcalina. Deve ainda ser referido que para evidenciar alguns constituintes das células e as fibras extracelulares são necessários métodos especiais e que um método de coloração apenas pode não ser suficiente para demonstrar tudo aquilo que se encontra num corte histológico.

IV. OBSERVAÇÃO DE OSMOSE EM CÉLULA VEGETAL

As células de qualquer organismo são envoltas pela membrana celular. Essa estrutura permite a passagem controlada de substâncias para dentro e para fora da célula.

Água, gases ou alguns íons pequenos podem passar pela membrana sem gasto de energia (transporte passivo). Uma das formas de transporte passivo é a osmose, ou seja, a passagem do solvente de uma solução menos concentrada para a solução mais concentrada, através de uma membrana semipermeável.

A observação ao microscópio do fenômeno osmótico permite uma boa discussão com os alunos sobre a organização da membrana celular sua permeabilidade e importância para a viabilidade da célula.

V. EXTRAÇÃO DE DNA

Informações adicionais na apostila no site <http://www.odnavaiaescola.com/modulo1.pdf>

É aconselhável que o professor, antes de realizar a prática com seus alunos, faça os experimentos previamente para ajustar as quantidades relativas dos tecidos a partir dos quais o DNA será extraído e a relação entre o macerado contendo tecido e o álcool utilizado na precipitação.

Antes da aula prática cuja atividade é a extração de DNA, não importa a partir de qual tecido, é importante que os alunos já tenham desenvolvido os seguintes conceitos:

- O DNA está no núcleo da célula
- As membranas celulares são formadas por uma dupla camada lipídica
- Enzimas são catalisadores que aceleram as reações químicas
- Nesta atividade as células serão lisadas, liberando todo o conteúdo celular. O DNA será separado da mistura contendo as organelas e proteínas e poderá ser observado a olho nu.

Os protocolos para extração de DNA, apesar de apresentarem pequenas diferenças dependendo do material biológico do qual ele será extraído, consistem basicamente de duas etapas. Na primeira etapa, provoca-se o rompimento das membranas celulares, o que permite a liberação do DNA. Na segunda, realiza-se um ou mais tratamentos enzimáticos ou químicos para purificar a preparação de contaminantes. Esse passo é realizado em laboratório, mas não em sala de aula para o ensino médio, pois os compostos químicos utilizados para a purificação (fenol ou clorofórmio) são de manuseio perigoso.

ANEXO 2

RESPOSTAS DOS PROTOCOLOS DE AULA PRÁTICA

I. Conhecendo o microscópio

Respostas para as questões:

1. Quando se gira o parafuso macrométrico a mesa ou platinado se movimenta.
2. Quando se gira o micrométrico a mesa de movimenta, porém muito pouco.
3. Geralmente as objetivas não são uma vez que possuem poder de ampliação diferentes. O número gravado em cada uma delas indica o número de vezes de ampliação da imagem observada.
4. Para calcular o aumento basta multiplicar o número gravado na ocular pelo número gravado na objetiva em uso. Por exemplo, 10 (da ocular) x 40 (da objetiva) = 400x
5. A face plana do espelho colhe e projeta os raios paralelos e divergentes. É usado nas grandes ampliações e na imersão. A face côncava colhe e projeta os raios convergentes e é usado nas pequenas ampliações.
6. A lamina é colocada na abertura da platina, local por onde passa a luz proveniente da fonte luminosa (lâmpada ou espelho)
7. A lâmina deve ser colocada a cerca de 0,5 cm da objetiva de menor aumento.
8. O parafuso inicialmente usado para focalizar o material é o macrométrico.
9. O micrométrico serve para o ajuste fino do foco e para observações de profundidade.
10. As objetivas e oculares.
11. Observa-se pela ocular.
12. Para se saber qual o aumento em uso basta verificar os números gravados na ocular e na objetiva em uso.
13. Movendo-se a alavanca do diafragma a intensidade luminosa que atravessa a preparação citológica aumenta ou diminui.
14. Observar o campo do microscópio
15. Fazer a preparação para praticar o manuseio da lâmina, lamínula e do microscópio.
16. A melhor maneira de segurar um microscópio para transportá-lo é usar as duas mãos. Uma no canhão e outra na base ou pé.

II. Observação de células vegetais:

Respostas para as questões:

1. Não é necessário corar, pois ambos possuem pigmentos naturais: no tomate, as células da epiderme possuem licopeno (um carotenóide) e na *Elodea*, os cloroplastos são de um verde intenso.
2. O azul de metileno é um corante que permite a visualização de algumas estruturas das células.
3. Não. Por ordem de tamanho, da menor para a maior – epiderme de tomate, epiderme de cebola, *Elodea*.
4. Uma possibilidade para estimar grosseiramente o tamanho das células é compara-la com 1mm observada ao microscópio. Para isso, pode-se colocar um pedaço de papel milimetrado numa lâmina e observá-lo ao microscópio para comparação. Lembrar que as comparações devem ser feitas usando-se o mesmo aumento.
5. Na epiderme de tomate, apenas a parede; na epiderme de cebola: parede, citoplasma, núcleo e nucléolo; na *Elodea*, parede celular, cloroplastos, citoplasma.
6. Duas hipóteses podem ser levantadas: (a) as estruturas não podem ser observadas porque são muito pequenas para serem observadas com os aumentos de 100x e 400x (o que não é o caso, pelo menos para o aumento de 400x), ou (b) porque as estruturas são transparentes e, portanto, é necessária coloração específica para serem visualizadas (que é o caso).

III. Observação de células humanas

Respostas para as questões:

1. O epitélio de revestimento, portanto, tecido epitelial.
2. O etanol 70% é um fixador de material biológico, isto é, ele preserva os componentes estruturais dos tecidos.
3. O azul de metileno cora o citoplasma em azul claro e o núcleo em azul escuro.
4. Citoplasma e núcleo.
5. As células da bochecha aparecem isoladas, pois o processo de raspagem do epitélio desfez a associação entre as células.

IV. Observação de osmose em células vegetais

Respostas para as questões

1. Podem ser observados a parede celular e os cloroplastos.
2. Os cloroplastos são verdes e, assim sendo, não necessitam serem previamente corados. As organelas membranosas como o complexo de Golgi, retículo endoplasmático e mitocôndria são incolores e parem serem visualizados é necessário que se faça coloração específica.
3. A perda de água pode ser deduzida pela “diminuição” do volume do citoplasma, visualizada pela aproximação de todos os cloroplastos.
4. Hipertônica.
5. É possível prever que haverá entrada de água na célula, uma vez que ela perdeu água quando em contato com a solução saturada de cloreto de sódio.
6. Para realizar esse experimento pingar água em uma das extremidades da lamínula e, com o auxílio de papel de filtro colocado na extremidade oposta, substituir a solução de cloreto de sódio por água.
7. Osmose é a passagem do solvente de uma solução através de membrana impermeável ao soluto. As células contêm em seu interior uma solução aquosa e, geralmente, estão imersas em outra solução aquosa. Como a membrana plasmática é permeável à água, as moléculas de água podem passar para dentro e para fora da célula. A difusão da água através da membrana celular semipermeável é um caso especial de transporte passivo denominado osmose. Ela ocorre toda vez que a célula for colocada em um meio hipertônico ou hipotônico em relação ao meio interno da célula.

V. EXTRAÇÃO DE DNA DE TOMATE

Respostas para as questões:

1. O tomate precisa ser cortado em pequenos pedaços para que os produtos químicos usados na extração (detergente e sal) cheguem até as células.
2. No passo 3. Os agentes mais empregados para a lise ou solubilização das membranas são os detergentes. Diferentes detergentes extraem diferentes tipos e quantidades de lipídeos da membrana, juntamente com proteínas. Os detergentes solubilizam ou dispersam material insolúvel em água por meio da formação de agregados microscópicos (micelas).
3. O sal proporciona um ambiente favorável para o processo de extração, pois contribui com íons positivos (Na^+) que neutralizam a carga negativa do DNA.
4. Papel do etanol - O DNA contido na fase aquosa está dissolvido em água. Na presença de concentrações relativamente altas de cátions monovalentes (Na^+), o etanol induz uma mudança estrutural transitória na molécula dos ácidos nucléicos ocasionando sua agregação e precipitação. Em outras palavras, o DNA sai de solução e precipita. Como o DNA tem também menor densidade que os outros constituintes celulares, por isso surge na superfície da solução.
5. A estrutura de dupla hélice só pode ser visualizada de modo indireto e através de aparelhos sofisticados. O que você está observando são milhares de fitas de DNA juntas.
6. Como o DNA genômico é formado por moléculas muito longas (lembre-se que cada cromossomo é formado por uma única molécula de DNA) inúmeras quebras mecânicas são originadas nos procedimentos de extração. As maiores moléculas apresentam tamanho de cerca de 30.000 pares de bases. Por outro lado, como as drogas utilizadas na extração não eram puras (detergente com corantes, por exemplo) elas ocasionam quebras adicionais nas moléculas de DNA.

