

AVENTURAS NA CIÊNCIA

O Mundo Microscópico

Eliana Maria Beluzzo Dessen
Mayana Zatz



O Mundo Microscópico



Eliana Maria Beluzzo Dessen
Mayana Zatz



A Biologia

O que é esse mundo que nos rodeia? Como surgiu a vida na terra? Existe vida em outros planetas? O que determina a longevidade? O que mantém um ser vivo? Por que é tão importante preservar o planeta e manter a biodiversidade? Como o DNA contido em uma única célula, resultante da fusão do óvulo com o espermatozoide, armazena todas as informações para originar um ser vivo como você? Tentar entender essas questões faz parte da biologia, a ciência natural que estuda os organismos vivos: sua interação, estrutura, função, crescimento, origem, evolução e distribuição.

A importância da biologia para a humanidade é enorme. Ela atinge todos os aspectos da vida humana e está intrinsecamente presente em nosso dia a dia. Além de compreendermos melhor nós mesmos e a interação de nossa espécie com os demais seres vivos e o meio ambiente, o explosivo desenvolvimento da biotecnologia impactou, entre outras áreas, a medicina (diagnóstico de doenças, produção de medicamentos, terapia com células-tronco), a agricultura (desenvolvimento de linhagens geneticamente mais produtivas ou resistentes a condições adversas do meio ambiente), a engenharia biológica (concepção, desenvolvimento e operação de instalações ou instrumentos que permitem a utilização de organismos vivos para a produção biotecnológica) e a biorremediação (utilização de seres vivos ou de seus componentes na recuperação de áreas contaminadas).

Você não precisa ser cientista para se interessar por essas questões. Basta ter curiosidade. E o melhor de tudo é que a cada resposta abre-se um leque de novas questões, um quebra-cabeças que não termina nunca e que pode proporcionar diversão durante toda a vida.

Este *kit* vai permitir que você comece a sua aventura explorando esse mundo microscópico que não vemos a olho nu.

Bom divertimento!



Índice

O MUNDO MICROSCÓPICO	1
Todos os seres vivos são formados por células	1
Do uso do microscópio para a observação de seres vivos à teoria celular	1
As descobertas que você pode fazer com o microscópio do <i>kit</i>	6
O KIT O MUNDO MICROSCÓPICO	11
O material do <i>kit</i>	11
Informações gerais	12
O microscópio do <i>kit</i>	13
MANUAL DE USO DO MICROSCÓPIO	14
Procedimento para manusear a fonte de luz do microscópio.....	15
PROCEDIMENTOS BÁSICOS PARA A CORRETA OBSERVAÇÃO DE UMA PREPARAÇÃO	16
Preparação e observação de letras ao microscópio.....	16
PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA OBSERVAÇÃO EM MICROSCÓPIOS	19
Preparação e observação de células vegetais	20
1. Epiderme de tomate.....	20
2. Epiderme de cebola	21
3. Pelo estaminal de <i>Tradescantia</i>	23
Preparação e observação de células humanas.....	24
Preparação e observação de células eucariotos microscópicos.....	26
Como coletar, cultivar e analisar eucariotos microscópicos.....	26
Organismos que vivem em lagos podem ser observados	30
Organismos marinhos podem ser observados.....	30
Bríofitas também podem ser coletadas e observadas ao microscópio.....	31
Fungos também podem ser coletados e observados ao microscópio	31
O que este microscópio não permite visualizar	32

O Mundo Microscópico

Todos os seres vivos são formados por células

Nos últimos 3,7 bilhões de anos, os seres vivos da Terra se diversificaram e se adaptaram a praticamente todos os ambientes imagináveis. Além das formas de vida que estamos acostumados a ver, há uma variedade muitíssimo maior de seres microscópicos, invisíveis a olho nu. Os seres microscópicos compõem mais da metade da biomassa da Terra e dominam amplamente a biodiversidade do planeta. Todo esse mundo só foi descoberto depois que a invenção do microscópio tornou possível observá-lo.

Embora a diversidade de vida seja realmente surpreendente, todos os seres vivos compartilham semelhanças, e a mais fundamental delas é a de serem constituídos por células, a unidade estrutural e funcional de todos os organismos.

Do uso do microscópio para a observação de seres vivos à teoria celular

As células foram vistas pela primeira vez por pesquisadores do século XVII, dentre eles o físico inglês Robert Hooke (1635–1703), em 1663. Interessado em estudar as características que conferiam fluidez e flexibilidade à cortiça, ele analisou finas fatias da casca do sobreiro (*Quercus suber*), árvore que fornece a matéria-prima para a cortiça utilizada comercialmente. Nessa análise, Hooke utilizou diferentes tipos de microscópio que ele mesmo fabricou, como o microscópio composto, assim denominado por ter em sua estrutura duas lentes, as quais podiam ser trocadas conforme a conveniência de aumento desejado. (A capacidade de aumento desse microscópio era menor do que 300 vezes). Hooke usou o termo “célula” (do latim *cella* = pequeno cômodo), assim como “buraco”, “balão”, “caixa” e “poro” para designar os espaços diminutos e regulares que visualizou. Impressionado com as minúsculas dimensões das estruturas observadas, estimou a quantidade de 1.259.712.000 células presentes em uma polegada cúbica.¹ Ele ainda sugeriu que os sucos naturais dos vegetais seriam conduzidos pelos poros (ou células) observados e que estes poderiam corresponder às veias, artérias e a outros vasos dos animais. Apesar de não ter conseguido observar a passagem entre uma célula e outra, supôs que ela deveria existir, numa clara alusão a sua preocupação em relacionar estrutura e função. Seus relatos e ilustrações das observações microscópicas foram publicadas em 1665 no livro *Micrographia*.

¹ Polegada é uma medida de comprimento inglesa equivalente a 2,54 centímetros ou 25,40 milímetros.



<http://www.sspiprints.com/image/100215/richardson-claire-hooke-microscope-c-1675>

<http://www.parrswood.manchester.sch.uk/faculties/science/hooke.html>

O microscópio de Hooke e sua representação da estrutura da cortiça. O que de fato Hooke observou foi a parede celular das células mortas do súber do sobreiro.

Embora esteja entre os primeiros a observar as células, ele não “enxergou” a célula tal como a entendemos atualmente. Exatos 176 anos se passaram entre a primeira observação de células e a proposição da teoria² celular por Matthias Schleiden (1804–1881) e Theodor Schwann (1810–1882), em 1839.

A teoria celular pode ser atribuída à pesquisa de muitos cientistas, cujos estudos foram desenvolvidos entre o século XVII e meados do século XIX. Anton van Leeuwenhoek (1632–1723) observou e registrou por meio de desenhos os organismos formados por uma única célula, por ele designados como “animáculos” (1674). Observou também bactérias, algumas raspadas de seus dentes (1676), espermatozoides (1677), fibras musculares (1682), tecidos vegetais e sangue. Foi o primeiro a observar ao microscópio uma gota de água tirada de uma lagoa.

“Fiquei maravilhado com o movimento tão rápido deles em todas as direções... alguns são tão pequenos que poderia haver milhões de milhões numa só gota de água”. As suas primeiras comunicações à Real Sociedade de Londres³ foram acolhidas com tanta desconfiança que Robert Hooke foi solicitado a confirmá-las. Após a confirmação, Leeuwenhoek ganhou fama mundial.

Assim como Hooke e Leeuwenhoek, Marcelo Malpighi (1628–1694) e Nehemiah Grew (1641–1712) também desenharam células com precisão. Entretanto, o que hoje sabemos ser células eram designadas por esses pesquisadores como “sáculos”, “bolhas”, “bexigas”, “glóbulos” ou “poros microscópicos”. Nesses primeiros desenhos das estruturas de seres vivos, os espaços microscópicos podiam ou não corresponder a células, e as células não eram vistas como a estrutura básica que formava os seres vivos.

² Teoria, em ciência, é uma coleção de hipóteses, muitas delas testadas empiricamente, interligadas de modo lógico e que constituem uma explicação coerente de algum aspecto da realidade.

³ Instituição inglesa, fundada oficialmente em 28 de novembro de 1660, destinada à promoção do conhecimento.



<http://recuerdosdeparador.com/ciencia/biologia/las-lentes-que-mostraron-a-leeuwenhoek-un-nuevo-mundo/>



<http://micro.magnet.fsu.edu/primer/museum/leeuwenhoek.html>

Anton van Leeuwenhoek, nascido em Delft, Holanda, em 1632, foi comerciante de tecidos, cientista e construtor de microscópios. O microscópio utilizado por Leeuwenhoek era constituído por uma lente biconvexa que tinha a capacidade de aumentar a imagem em cerca de 270 vezes. Este primitivo microscópio (acima à direita) foi construído em 1674 e, com ele, conseguiram-se observar bactérias de 1 a 2 micrômetros (medida equivalente a um milésimo de milímetro). Leeuwenhoek foi o primeiro a observar e descrever fibras musculares, bactérias, protozoários e o fluxo de sangue nos capilares sanguíneos de peixes.

Durante o século XVIII, a preocupação dos investigadores estava voltada ao estudo da natureza da matéria encontrada nos seres vivos, suas propriedades físicas e químicas. Entre os botânicos havia consenso de que os vegetais possuíam células em sua estrutura, mas entre os que estudavam a estrutura dos animais em geral e do corpo humano em particular discutia-se que a “fibra” era a estrutura básica que mais se repetia nos organismos.

Os estudos que precederam a síntese realizada por Schleiden e Schwann não haviam evidenciado que todos os tipos de corpúsculos observados em vegetais e animais tinham realmente características em comum, que permitissem a inclusão de todos eles numa mesma categoria, a de célula. Duas características foram reconhecidas como sendo típicas de todos os corpúsculos: a presença de um núcleo e de uma substância de preenchimento, denominada protoplasma.

O núcleo teve um papel central na formulação da teoria celular. Embora ele já tivesse sido observado por muitos dos pesquisadores que precedem os formuladores da teoria celular, nenhum desses estudiosos havia considerado o núcleo como uma evidência de homologia entre as células animal e vegetal. Schleiden e Schwann foram além ao identificarem o núcleo como um componente relacionado à formação de células novas e afirmarem que essa origem comum (e não a estrutura) é que unifica todas as células existentes, seja a dos microrganismos, vegetais ou animais. Além disso, a teoria celular localizou na célula a origem das atividades vitais dos seres vivos.



http://lh5.ggpht.com/_OuhBPQkjTFM/TSyIAZB3Wsl/AAAAAAAAAGI/shI7J5jdz-04/Matthias_Jacob_Schleiden_thumb%5B1%5D.jpg?imgmax=800

(B) Theodor Schwann, alemão nascido em 1810, estudou medicina e especializou-se em fisiologia. Foi o pioneiro em isolar de um tecido animal a pepsina, uma enzima digestiva. Estudou a fermentação do açúcar e do amido enquanto processos biológicos e as propriedades e o funcionamento das células musculares. Realizou importantes contribuições na área da embriologia ao estudar o desenvolvimento da primeira célula resultante da fecundação – o zigoto – até a formação de um organismo completo. Ele desempenhou um papel vital no desenvolvimento da teoria celular e definiu a célula como a unidade fundamental da estrutura animal.



http://www.merke.ch/biografien/biologen_en/schwann.php

Foram três os dogmas da Teoria Celular enunciados por Schleiden e Schwann: (1) todos os organismos são compostos por uma ou mais células; (2) a célula é a unidade estrutural da vida; e (3) células apenas podem ser formadas a partir de células preexistentes. Porém, esses cientistas não reconheceram a divisão celular como a fonte de novas células. Eles achavam que as células eram formadas por deposição de materiais.

Posteriormente, dois outros dogmas foram anexados à Teoria Celular: (4) as células contêm informação genética e esta é transmitida durante a divisão celular; e (5) as células de todos os seres vivos possuem mais semelhanças do que diferenças. Em outras palavras, todas as células são semelhantes quanto à composição química e atividades metabólicas.

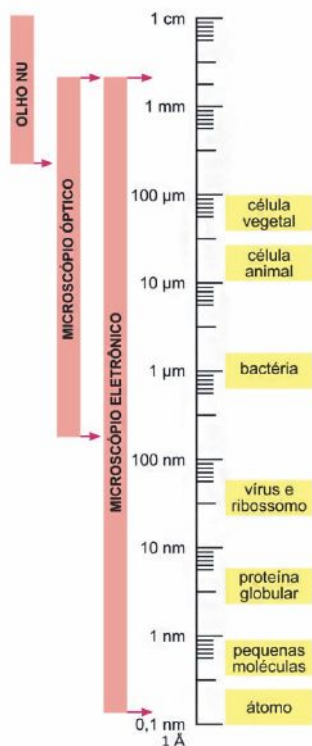
O item 3 veio contradizer a doutrina da geração espontânea, segundo a qual a vida poderia surgir espontaneamente. Aristóteles, na Grécia antiga, já havia afirmado que isso ocorreria num punhado de terra ou a partir de material em putrefação. Experimentos controlados, num recipiente fechado contendo um caldo de cultura fervido, foram realizados em 1745 por John Needham (1713–1781), aparentemente confirmando a geração espontânea. Foram contestados, porém, em 1768 por Lazzaro Spallanzani (1729–1799), que procurou remover o ar do recipiente.

As descobertas que você pode fazer com o microscópio do kit

O olho humano tem um limite de resolução de 0,2 milímetros (mm) ou 200 micrômetros (μm). Isso significa que podemos distinguir dois pontos separados um do outro por 200 μm . Por exemplo, nós podemos distinguir muito bem quatro linhas que são desenhadas dentro de 1 milímetro, ou seja, podemos ver objetos com $\frac{1}{4}$ de milímetro, que corresponde a 250 micrômetros (μm). Abaixo de 200 μm , é impossível distinguir um ponto do outro. A partir daqui, portanto, se quisermos observar algum objeto com mais acuidade, dependemos de instrumentos ópticos, como o microscópio e o telescópio, que têm poder de resolução maior que o olho humano, ou da microscopia eletrônica.

Você já percebeu que objetos muito pequenos, como as células, têm que ser mensurados por unidades especiais. As unidades de tamanho mais comumente empregadas em microscopia são o micrômetro (μm), um milionésimo do metro (10^{-6} m), e o nanômetro (nm), um bilionésimo do metro (10^{-9} m). Uma célula animal típica tem entre 10 e 30 μm de diâmetro, o que corresponde a $\frac{1}{5}$ do tamanho da menor partícula visível a olho nu. A figura ao lado mostra a variação de tamanhos discernidos pelo olho humano, pelo microscópio óptico e pelo microscópio eletrônico. Note que os tamanhos das células e seus componentes estão representados em escala logarítmica.

A maioria das células animais não são apenas pequenas, mas também incolores e translúcidas. Consequentemente, a descoberta de suas principais estruturas internas dependeu do desenvolvimento, na parte final do século XIX, de uma variedade de corantes que forneceram contraste suficiente para tornar visíveis as estruturas celulares.

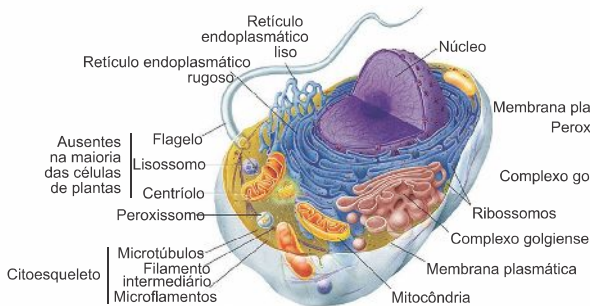


Neste *kit*, você terá à disposição um microscópio óptico que amplia em até 400 vezes o tamanho aparente das células. Além disso, você encontrará mais informações sobre como proceder para manuseá-lo e obter a ampliação desejada. Com o microscópio você poderá visualizar com facilidade células da epiderme de cebola, do tomate, de folhas de plantas aquáticas e também da epiderme humana, como as células que revestem internamente sua bochecha. Estes são apenas alguns exemplos de organismos dos quais você poderá observar a estrutura microscópica.

O *kit* apresenta instruções de como preparar alguns organismos vivos para observação, mas você deverá dar asas à sua curiosidade e imaginação e explorar com seu microscópio outros seres vivos do meio ambiente.

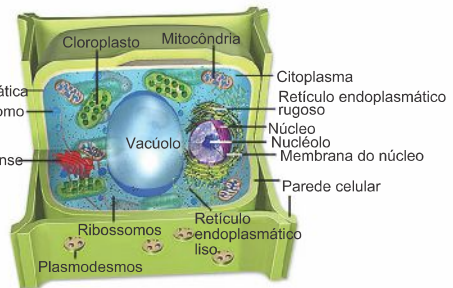
Estruturas típicas de uma célula animal e de uma célula vegetal estão esquematizadas na figura abaixo.

Célula Animal



<http://www.cs.miami.edu/~tptp/Seminars/DKRC/Contents.html>

Célula Vegetal

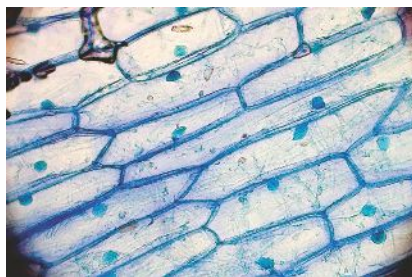


<http://micro.magnet.fsu.edu/cells/plantcell.html>

As principais características estruturais que diferenciam as células vegetais das células animais são a presença de parede celular, vacúolo e plastídios. A célula vegetal é revestida por uma parede celular cujo principal componente é a celulose, ausente nas células animais. A parede determina em grande parte o tamanho e a forma da célula. Considerada anteriormente como uma estrutura externa e inativa, sabe-se atualmente que ela contém uma variedade de enzimas que desempe-

nham importantes papéis na absorção, no transporte e na secreção de substâncias nas plantas. Diferentemente das células animais, as células vegetais apresentam uma ou mais cavidades cheias de líquido, chamadas vacúolos, dentro do citoplasma. Na célula madura, o vacúolo pode ocupar até 90% do volume celular, e o restante de seu conteúdo é ocupado pelo citoplasma, que se dispõe como um filme periférico comprimido contra a parede celular. Uma das principais funções do vacúolo é a manutenção da rigidez do tecido. Os plastídios são relacionados com os processos de fotossíntese e armazenagem. O principal tipo de plastídio é o cloroplasto, que contém clorofila e é o sítio da fotossíntese. Os cloroplastos também fornecem espaço para o armazenamento temporário de amido.

A foto abaixo mostra as células do tecido epidérmico de uma cebola (*Allium cepa*) coradas com azul de metileno: uma imagem muito semelhante ao que você deverá observar após fazer a preparação de cebola. Observe que as células são alongadas e que a proporção entre comprimento e largura pode variar. Cada célula é delimitada por uma parede celular e um tipo de “cimento” (pectina) une as paredes de células vizinhas. O conteúdo vivo da célula está rodeado pela membrana celular, logo abaixo da parede, porém a membrana não pode ser visualizada em microscopia óptica, pois possui apenas 4 nanômetros de espessura. Porém, a existência da membrana celular pode ser demonstrada se as células forem transferidas para um meio com alto teor de sal ou uma solução concentrada de açúcar. Como resultado, o citoplasma encolhe e se desprende da parede. O processo é reversível e é denominado plasmólise. A plasmólise ocorre como consequência da saída de água da célula quando colocada em um meio com concentração iônica maior do que aquela de seu interior. O núcleo, de forma redonda ou levemente elíptica, pode ser observado corado em azul escuro. O grande vacúolo que toma boa parte da célula vegetal não é facilmente observado com este tipo de coloração.



<https://moodle.kent.ac.uk/external/course/view.php?id=172>

A cebola é um catáfilo, ou folha modificada, e por isso não possui cloroplastos e não faz fotossíntese. Você poderá observar cloroplastos, por exemplo, em folhas de plantas aquáticas (submersas) que geralmente possuem poucas camadas de

células. Por isso, pequenos pedaços das folhas podem ser coletados e preparados, juntamente com uma gota de água, entre lâmina e lamínula. A figura abaixo mostra as células cheias de cloroplastos da planta aquática *Egeria densa* (com frequência, erroneamente denominada Elódea), que é comumente encontrada em lagos (onde pode ser facilmente coletada por você) ou mesmo em lojas que

vendem produtos para aquários.

Na célula vegetal viva, o citoplasma está sempre em movimento.

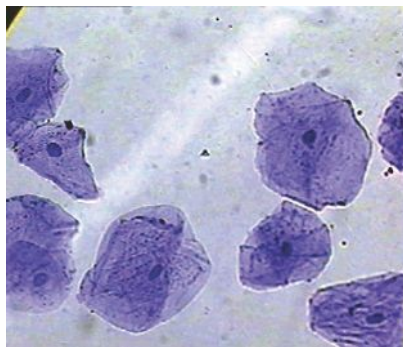
As organelas podem ser observadas deslizando de maneira ordenada no movimento em curso. Este movimento é conhecido como corrente citoplasmática ou ciclose. Ele facilita a troca de substâncias dentro da célula e entre a célula e seu ambiente. Você pode observar a ciclose nas plantas aquáticas ou nos pelos estaminais de *Tradescantia*.



<http://www.photomacrography.net/forum/viewtopic.php?p=103275&sid=491d1d64e73d6da6f3d74d90fc76f4f9>

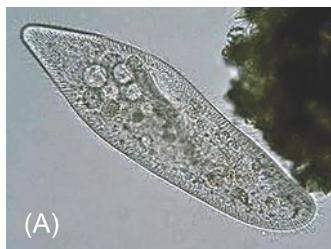
Lembre-se de que a membrana celular é formada por uma bicamada lipídica muito fina, que mede apenas cerca de 4 nm. Assim, todas as organelas membranosas como, por exemplo, os retículos endoplasmáticos liso e rugoso, o complexo golgiense e as mitocôndrias não poderão ser observadas, mesmo com a ampliação máxima de seu microscópio, 400 vezes.

O tecido epitelial de sua bochecha terá um aspecto semelhante ao da figura abaixo. Note que a estrutura tecidual foi desfeita pelo método de preparação (as células foram raspadas com um palito de fósforo e esfregadas sobre uma lâmina de vidro), por isso, elas estão separadas e muitas vezes sobrepostas ou dobradas. Além disso, as células animais não possuem parede celular como as células dos vegetais. O núcleo é bem evidente. Lembre-se de que o núcleo é o centro de controle da célula, pois dentro dele está seu material genético, o DNA. Assim sendo, é a célula o veículo da informação genética que define as espécies.



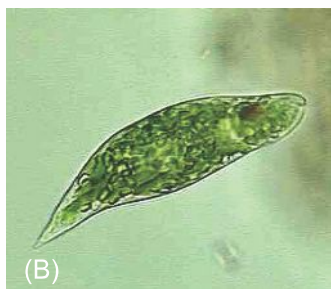
<http://quizlet.com/8338169/bio-143-brammer-dcc-part-2-images-flash-cards/>

A análise de água proveniente de lagos, poças ou de culturas que você pode preparar sem dificuldades (veja instruções no *kit*) mostrará uma enorme variedade de microrganismos unicelulares, como ciliados, microalgas e euglenas, ou pluricelulares, como por exemplo, os rotíferos.



http://en.wikipedia.org/wiki/Paramecium_caudatum

(A) *Paramecium* é o nome genérico destes protozoários ciliados muito comuns em mananciais de água como açudes e riachos. De fácil cultivo, alimentam-se principalmente de bactérias, pequenas algas e outros protozoários. São organismos unicelulares em forma de sola de sapato, com dimensões entre 50 e 300 μm , dependendo da espécie. O corpo dos paramécios é coberto por cílios simples que ajudam na locomoção e no encaminhamento de alimento até sua "boca". Possuem um vacúolo pulsátil que atua na eliminação do excesso de água em seu interior. Com calma, você poderá identificar o movimento desse vacúolo.



<http://alg-aktiv.de/euglena.htm>

(B) Euglenas podem ser encontradas em água doce ou salgada. Possuem cloroplastos (daí sua coloração verde), o que permite que façam fotossíntese e produzam seu próprio alimento – características dos vegetais (autótrofos). Entretanto, as euglenas também podem se alimentar de modo heterotrófico, por meio de fagocitose. Possuem, assim, características de células vegetais e células animais. Elas são bem menores do que os paramécios, variando de 30 a 100 μm de comprimento. *Euglena gracilis*, uma espécie comum desse gênero, varia de 26 a 36 μm de comprimento e de 5 a 7 μm de largura.



<http://www.ucmp.berkeley.edu/phylo/rotifera/liverotifer.jpg>

(C) Rotífero é um animal de tamanho muito pequeno – entre os menores do reino animal. Os indivíduos da maioria das espécies variam de 100 a 500 μm . A principal característica deste grupo, e que lhe dá o nome, é a coroa de cílios na cabeça, que quando está em movimento dá a impressão de estar em rotação. Essa rotação carrega alimentos para dentro de sua boca. Possui sistema digestivo completo e algumas de suas etapas, como o movimento da faringe triturando alimentos, podem ser observadas facilmente no microscópio. São frequentes em todos os biomas terrestres, desde poças de água até lagos e também em grãos de areia ou terra. Poucas espécies são de água salgada. Servem de alimento para outros animais aquáticos, como peixes, por exemplo.

O kit

“O Mundo Microscópico”



O material do kit

- um microscópio monocular que permite observações com aumentos de 70, 150 e 400 vezes. O microscópio possui uma lente ocular de 10x e três lentes objetivas de 7x, 15x e 40x. Mais adiante você encontrará instruções para o manuseio deste instrumento;
- 2 pilhas AA embutidas na base do microscópio;
- 6 lâminas de vidro;
- 10 lamínulas de vidro;
- 1 pinça de ponta fina;
- 1 lâmina de corte;
- 1 pipeta de plástico;
- 1 recipiente plástico em forma de placa com tampa;
- 1 frasco conta-gotas contendo água;
- 1 frasco conta-gotas contendo azul de metileno, 1%;
- pedaço de papel de filtro;
- 1 pedaço de papel vegetal milimetrado (1 cm² dividido em milímetros).

Informações gerais

Este *kit* funciona como uma janela através da qual você entrará em contato com o mundo microscópico das células. Ele contém um instrumento óptico, o microscópio, que possibilita a visualização de diversos tipos de células e instruções de como realizar observações desse mundo microscópico. Leia atentamente as instruções de manuseio do microscópio antes de começar a usá-lo. As lâminas e lamínulas podem ser usadas muitas vezes, bastando, para isso, que sejam lavadas em água com algumas gotas de detergente e enxaguadas em água corrente.

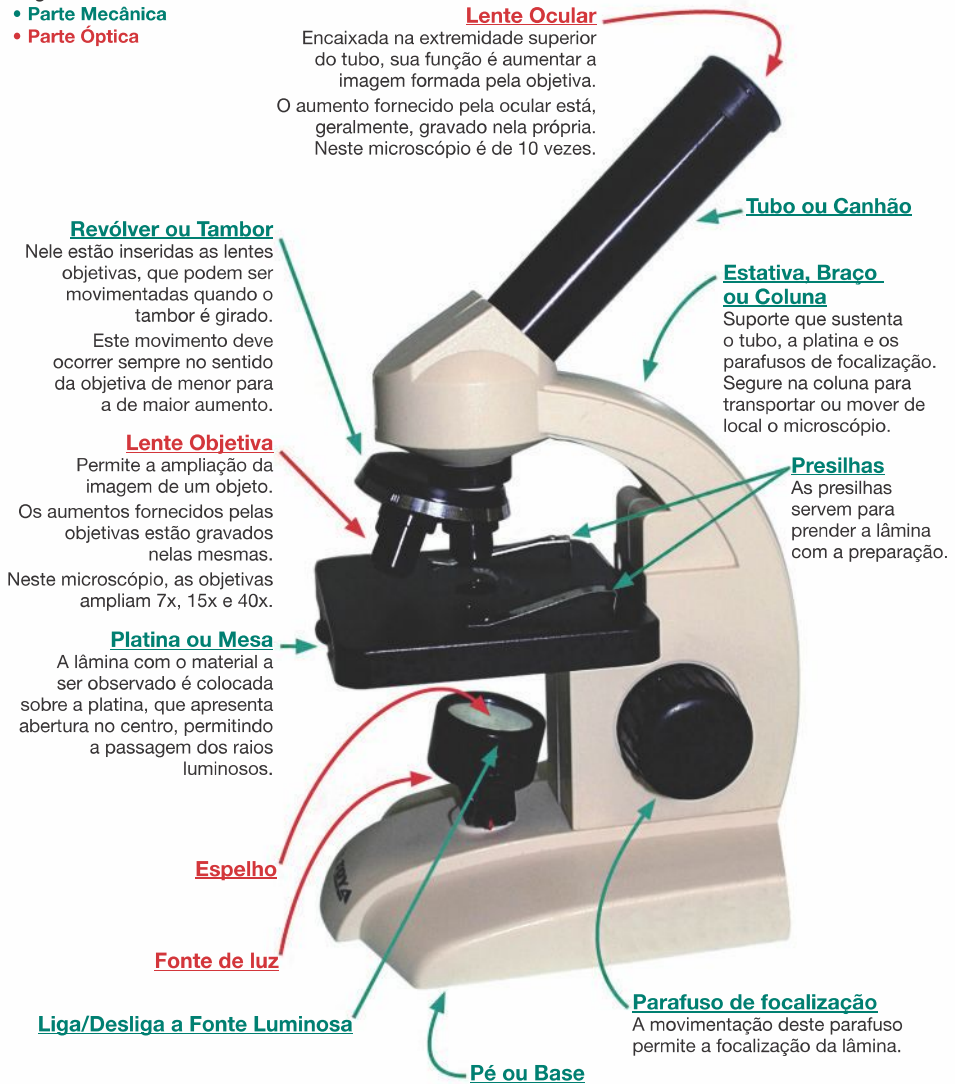
O *kit* contém instruções para observações microscópicas de vários seres vivos, uni e multicelulares. Usando os mesmos procedimentos aqui apresentados para realizar preparações citológicas, você pode observar muitos outros organismos. Seja um investigador da natureza!

Após cada experimento, tente responder às perguntas apresentadas. Elas ajudarão você a tirar conclusões. As respostas, assim como informações complementares, podem ser obtidas no site: <http://www.aventurasnaciencia.com.br>

O microscópio do kit

Legenda:

- **Parte Mecânica**
- **Parte Óptica**



Manual de uso do microscópio

Independentemente do tipo de microscópio que estiver sendo considerado, três elementos são sempre necessários para formar a imagem do objeto que se quer visualizar: uma fonte de iluminação, o objeto a ser observado e um sistema de lentes para concentrar a iluminação no objeto e para ampliar a imagem.

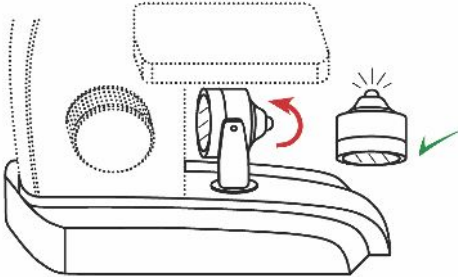
A fonte de luz geralmente é uma lâmpada localizada na base do instrumento. Os raios de luz seguem o seguinte caminho: (1) passam por um condensador, lente que concentra e direciona a iluminação para o objeto ou preparação citológica; (2) atravessam o objeto a ser analisado, preparado em uma lâmina de vidro; (3) atingem a lente objetiva, responsável por formar a imagem primária; e, por fim, (4) atingem a lente ocular, responsável por ampliar a imagem primária. Os princípios ópticos de formação de imagem e as propriedades das lentes esféricas podem ser mais bem compreendidos no *kit* “Aventuras com raios luminosos”.

A característica mais importante de qualquer lente é sua **resolução**, isto é, a capacidade de distinguir dois objetos vizinhos como entidades distintas. O microscópio óptico não pode resolver detalhes menores do que 0,2 micrômetros (μm), mais ou menos o tamanho de uma bactéria pequena. Vale lembrar que 1 micrômetro (μm) = 1/1000 milímetro.

A ampliação consiste no grau de aumento da imagem em relação ao objeto. A ampliação final do material é obtida multiplicando-se a ampliação produzida pela objetiva (7x, 15x ou 40x) pela ampliação obtida pela ocular (10x).

Procedimento para manusear a fonte de luz do microscópio

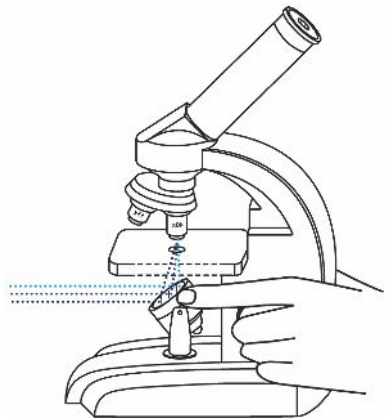
1. Colocar as pilhas na base do microscópio: com o auxílio de uma chave de fenda ou faca sem ponta, abrir a parte inferior da base do microscópio. Inserir as duas pilhas AA com os polos positivo e negativo nas posições indicadas. Recolocar a parte inferior do pé do microscópio.



2. Para acender o *led*, girar cuidadosamente a “fonte de luz” posicionando o *led* para cima. Nessa posição, o *led* acenderá. Quando não estiver em uso, girar a “fonte de luz” ao contrário, isto é, com o *led* virado para a parte inferior e o espelho para a superior.

3. É possível utilizar a luz do dia para iluminar suas preparações citológicas. Isso, porém, demanda um pouco de paciência.

- O microscópio deve ser colocado próximo a uma janela ou a uma fonte de luz como uma luminária, por exemplo.
- O espelho deve ser posicionado com um ângulo próximo a 45° , para coletar os raios luminosos e direcioná-los ao orifício que existe na “platina” ou “mesa”. Procurar a melhor posição do espelho, isto é, aquela que produzir a iluminação mais favorável à análise.



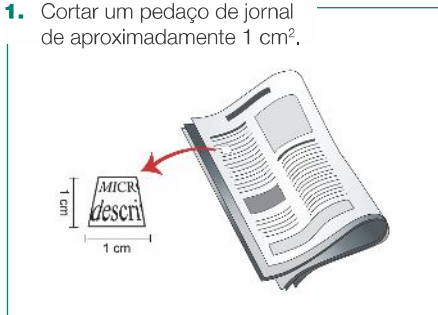
4. Caso o microscópio permaneça sem uso por um longo período de tempo (isto é, vários dias), as pilhas devem ser retiradas de sua base.

Procedimentos básicos para a correta observação de uma preparação

1. Ligar a fonte luminosa ou posicionar o espelho de modo a obter iluminação suficiente.
2. Colocar a lâmina com a preparação sobre a platina.
3. Olhando pelo lado externo, girar com cuidado o parafuso de focalização de forma a aproximar a objetiva de 7x o mais perto possível da preparação. *(Atenção: Não forçar o parafuso de focalização)*
4. Olhando pela ocular, girar vagarosamente o parafuso de focalização no sentido inverso até obter uma imagem nítida do material que foi preparado.
5. A seguir, girar o tambor posicionando a objetiva de 15x sobre a preparação e focalizar o material girando MUITO lentamente o parafuso de focalização, pois o material deverá estar quase em foco. *(Atenção para não aproximar demais a objetiva da lâmina)*
6. Para uma ampliação maior (objetiva de 40x), girar o canhão e posicionar a objetiva de 40x sobre a preparação. Girar o parafuso de focalização (MUITO DEVAGAR) até que o material esteja em foco. *(Atenção para não forçar a objetiva sobre a lâmina, pois ela pode quebrar)*

Preparação e observação de letras ao microscópio

1. Cortar um pedaço de jornal de aproximadamente 1 cm².



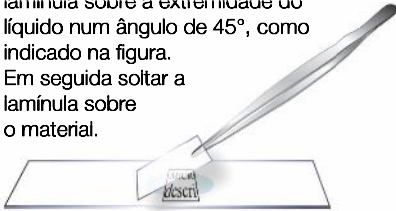
2. Limpar bem uma lâmina de vidro e, com o frasco conta-gotas pingar sobre ela uma gota de água.



3. Sobre a gota, colocar o pedaço de jornal e esperar alguns segundos.



4. Cobrir a gota de água e o pedaço de papel com uma laminula limpa. Com o auxílio da pinça, colocar a laminula sobre a extremidade do líquido num ângulo de 45° , como indicado na figura. Em seguida soltar a laminula sobre o material.



5. Se houver bolhas de ar, pressionar levemente a laminula com a pinça.



6. Colocar a lâmina com a preparação dentro de um pedaço de papel de filtro dobrado. Pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.



7. Observar a preparação no microscópio.



8. Observar inicialmente no menor aumento (objetiva 7x).



9. Praticar a focalização do material.



10. Girar o tambor das objetivas e observar a preparação com a objetiva de 15x. Girar sempre no sentido horário.



11. Girar o tambor das objetivas e observar a preparação com a objetiva de 40x.



12. Anotar as diferenças observadas em cada um dos aumentos.



13. Proceder da mesma maneira para preparar e observar o papel vegetal milimetrado, de 1 cm de lado, fornecido no kit.



Atenção: lâminas e lamínulas podem ser usadas várias vezes. Para lavá-las, basta deixá-las de molho em água com algumas gotas de detergente por alguns minutos e enxaguar várias vezes. Secar com guardanapo de papel ou um pano macio. Cuidado para não quebrar as lamínulas.

Perguntas:

1. Qual a ampliação final da imagem obtida com cada uma das objetivas?
2. Qual a porcentagem da área de visão ocupada por 1 mm² em cada um dos aumentos do microscópio?
3. Pense em uma maneira de usar o papel milimetrado fornecido no *kit* para estimar o tamanho e o número de células de vegetais e animais que você irá observar.

Preparação de amostras biológicas para observação em microscópios

Preparar uma amostra para ser observada num microscópio e colocá-la, imersa num líquido apropriado, em uma lâmina de vidro coberta por uma lamínula também de vidro. As amostras precisam ser muito finas, para que permitam a passagem da luz, e refringentes, para que haja resolução e contraste adequados. Você certamente compreenderá melhor o que foi dito se pesquisar o significado dos termos refringente e resolução.

A maioria das células são incolores e seus constituintes possuem densidades não muito diferentes. Por isso, corantes geralmente ajudam em sua visualização, pois coram de modo não uniforme seus componentes.

A maioria dos corantes mata as células e suas organelas se decompõem rapidamente após a morte. Neste caso, é necessário fixar ou preservar as células antes de elas serem coradas.

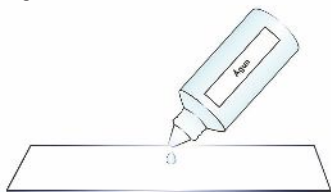
As preparações sugeridas para serem observadas neste *kit* são todas *in vivo*.

As células são medidas em micrômetros – um milionésimo de milímetro. As células dos procariotos, como a *Escherichia coli* que vive em nossos intestinos, possuem poucos micrômetros (um cilindro de 2 μm de comprimento e 0,5 μm de diâmetro), enquanto as células eucarióticas, bem maiores, variam de alguns micrômetros, como nossos glóbulos vermelhos (6 a 8 μm de diâmetro e 2 μm de espessura), a 2,5 milímetros de diâmetro, como o óvulo de sapo.

Preparação e observação de células vegetais

1. Epiderme de tomate

1. Usar o frasco conta-gotas para pingar, sobre a região central da lâmina, uma gota de água.



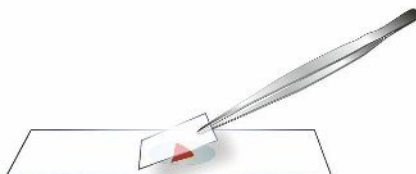
2. Como auxílio de uma lâmina de barbear, fazer cortes superficiais na epiderme de um tomate maduro que tenham a forma de um triângulo com cerca de 1 cm de lado.



3. Com uma pinça de ponta fina, retirar a epiderme do pedaço recortado (primeira camada externa) e colocá-la sobre a gota de água na lâmina. Atenção, pois apenas películas muito fininhas poderão ser **visualizadas ao microscópio**.



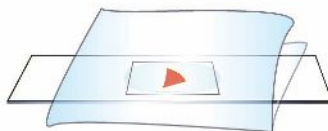
4. Cobrir a preparação com a lamínula.



5. Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.



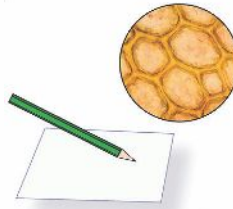
6. Colocar a lâmina com a preparação dentro de um pedaço de papel de filtro dobrado. Pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.



7. Observar ao microscópio: focalizar usando a objetiva de 7x e, em seguida, as de 15x e 40x. Girar vagarosamente o micrométrico para obter o melhor foco.



8. Fazer um desenho das células observadas.



Perguntas:

- Quais estruturas das células da epiderme de tomate você conseguiu visualizar?
 - membrana celular
 - núcleo
 - citoplasma
 - parede celular
- Por que não foi necessário corar as células do tomate?
- Faça uma estimativa de quantas células do epitélio de tomate estão presentes numa superfície de 1 mm^2 . Utilize o papel milimetrado preparado anteriormente para fazer seus cálculos.

2. Epiderme de cebola

1. Com o frasco conta-gotas, pingar, na região central de uma lâmina, uma gota de azul de metileno.



2. Com o auxílio de uma lâmina de barbear, fazer cortes superficiais na epiderme de um catáfilo de cebola, que tenham a forma de um triângulo com cerca de 1 cm de lado. (**Cebolas roxas são mais favoráveis para preparar e analisar.*)



3. Com a pinça de ponta fina, retirar a epiderme inferior do pedaço recortado e colocá-la sobre a gota de azul de metileno. Atenção, pois apenas pedaços bem finos da epiderme poderão ser visualizados no microscópio.



4. Com o frasco conta-gotas, pingar uma gota de azul de metileno sobre a epiderme da cebola. Cobrir a preparação com uma lamínula.



5. Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.



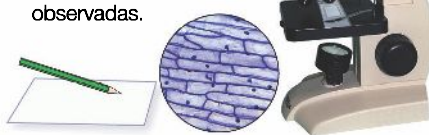
6. Aguardar 2 minutos.



7. Colocar a lâmina com a preparação dentro de um pedaço de papel de filtro dobrado. Pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.



8. Observar ao microscópio: focalizar usando a objetiva de 7x e, em seguida, as de 15X e 40x. Girar vagarosamente o micrométrico para obter o melhor foco. Fazer um desenho das células observadas.



Perguntas:

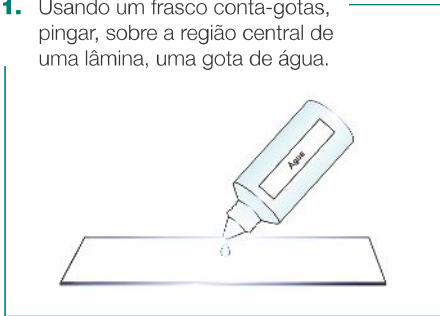
- Quais estruturas das células da epiderme de cebola você conseguiu visualizar?
 - membrana celular
 - núcleo
 - citoplasma
 - parede celular
- Qual a função do azul de metileno?
- Apresente uma hipótese para a não visualização do retículo endoplasmático, das mitocôndrias e do complexo golgiense.
- Compare as células da epiderme de cebola com as do tomate quanto ao tamanho e à forma.
- É possível fazer uma estimativa de quantas células do epitélio de cebola estão presentes numa superfície de 1 mm^2 . Utilize o papel milimetrado preparado anteriormente para fazer seus cálculos.
- Faça uma estimativa do número de células de cebola presentes em 1 mm^3 .

3. Pelo estaminal de Tradescantia

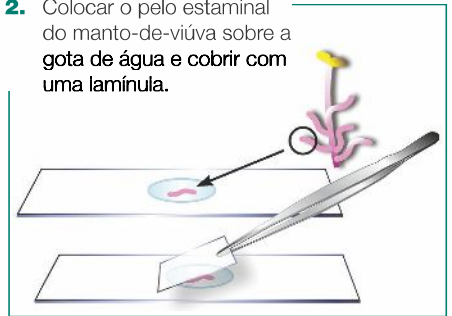
A *Tradescantia*, conhecida como manto-de-viúva, pode ser encontrada facilmente em jardins ou áreas com ervas daninhas.



- Usando um frasco conta-gotas, pingar, sobre a região central de uma lâmina, uma gota de água.



- Colocar o pelo estaminal do manto-de-viúva sobre a gota de água e cobrir com uma laminula.



- Observar ao microscópio: focalizar o material usando a objetiva de 7x e, em seguida, as de 15x e 40x. Desenhar as células.



- Aguardar um minuto. Observar novamente o movimento do citoplasma (ciclose).



Pergunta: Foi possível observar ciclose?

Preparação e observação de células humanas

1. Com um palito de fósforo, raspar a parte interna da bochecha.



2. Fazer um esfregaço espalhando sobre uma lâmina de vidro o material raspado da bochecha.
Atenção: passe o palito contendo células apenas UMA vez sobre a lâmina.



3. Colocar a lâmina sobre a bancada e pingar, sobre a região do esfregaço, uma gota de azul de metileno. Aguardar 2 minutos.



4. Remover o excesso de corante com água de torneira utilizando a pipeta de plástico.



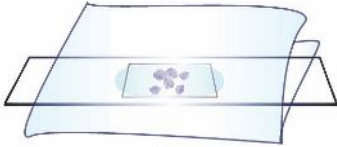
5. Com o auxílio do frasco conta-gotas, pingar uma gota de água sobre a região central da lâmina. Cobrir a preparação com uma lamínula.



6. Retirar as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com a pinça.



- 7.** Colocar a lâmina com a preparação dentro de um pedaço de papel de filtro dobrado. Pressionar levemente para retirar o excesso de líquido.



- 8.** Observar ao microscópio o material usando a objetiva de 7x e, em seguida, as de 15x e 40x. Girar vagarosamente o micrométrico para obter o melhor foco. Fazer um desenho das células observadas.



Perguntas:

- Quais estruturas das células da bochecha você conseguiu visualizar?
 - membrana celular
 - núcleo
 - citoplasma
 - parede celular
- Ao raspar a parte interna de sua bochecha, que tipo de tecido foi coletado?
- Apresente uma hipótese para explicar por que as células da bochecha aparecem isoladas umas das outras e não unidas como nos tecidos anteriormente observados.
- Compare o tamanho das células da bochecha com o das demais células observadas.
- Compare a estrutura de células vegetais e animais.

Preparação e observação de células de eucariotos microscópicos

Para observar eucariotos microscópicos você terá que, inicialmente, preparar uma cultura destes organismos.

Como coletar, cultivar e analisar eucariotos microscópicos

- 1.** Com uma colher, coletar um pouco de terra em um local onde há algum acúmulo de folhas no solo.



- 2.** Folhas caídas sobre o solo podem também ser coletadas. Colocar o material coletado em um vidro limpo do tipo usado para palmitos, molho de tomate, geleia, etc..



- 3.** Cobrir com água mineral o material coletado. Não ultrapassar o limite de 3 cm de água acima do material colocado.



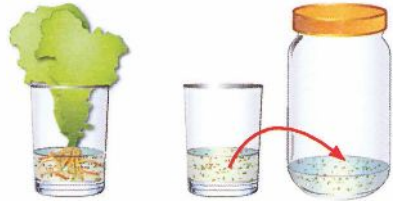
- 4.** Tampar o vidro e aguardar cerca de 3 dias.



5. A coleta **também** pode ser **feita a** partir de **raízes** de hortaliças hidropônicas. Colocar **as raízes** em um **copo** contendo um pouco de **água** mineral.



6. Após aguardar algumas horas, retirar a hortaliça e transferir a água para um vidro com tampa para ser analisada.



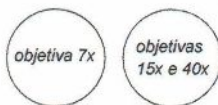
7. Com o auxílio do conta-gotas, coletar uma gota de água contendo eucariotos microscópios preparados como descrito nos itens anteriores. Colocar a gota com organismos microscópicos no centro de uma lâmina de vidro.



8. Cobrir a gota com uma laminula.



9. Observar a preparação inicialmente no aumento de 70 vezes (objetiva 7x). Em seguida, observar cada um dos organismos nos aumentos de 150 (objetiva 15x) e 400 vezes (objetiva 40x).



10. Desenhar todos os organismos observados.



Perguntas:

1. Quantos tipos diferentes de organismos você conseguiu visualizar?
2. Compare os organismos esquematizados na Tabela 1 com os seus desenhos. Você consegue identificar alguns dos organismos que você observou?
3. Dependendo do local onde a coleta de terra e matéria orgânica foi feita, você obterá resultados diferentes. Compare os seus desenhos com os organismos representados na tabela abaixo e tente reconhecê-los. Observe as relações de tamanho entre eles para facilitar as identificações. Busque na internet fotos de organismos semelhantes aos que você observou.

ATENÇÃO: na tabela abaixo, os microrganismos estão esquematizados com cores apenas para facilitar a visualização das diferentes partes. Nas preparações que você fizer haverá predominância de tons de cinza e marrom, pois os organismos estarão vivos e não serão corados. Algumas exceções poderão estar presentes, como, por exemplo, a *Euglena*, que possui cloroplastos verdes em seu interior.

Organismo	Aspecto	Tamanho, variável com a espécie
Paramécio	 Unicelular	100 a 350 µm
<i>Stylonychia</i> (ciliado)	 Unicelular	100 a 300 µm
Ameba	 Unicelular	10 a 200 µm

Rotífero (<i>Philodina</i> sp.)		100 a 500 μm
Pulga-d'água (<i>Daphnia pulex</i>)		0,2 a 5 mm
Euglena		20 μm
Nematódeo		Superior a 500 μm
Tardígrado		0,05 a 1,5 mm

Organismos que vivem em lagos podem ser observados

Veja como coletar água de lagos no vídeo:

http://wms.emm.usp.br:7070/ib/Cultivando_Microorganismos_multi.wmv

Depois de coletada, a água de lagos pode ser colocada em um vidro limpo de palmito ou geleia. Acrescente pequenos pedaços de alface e uma pequena pitada de leite em pó. Aguarde 2 dias. Coloque uma gota da água (de preferência do fundo do vidro) entre lâmina e lamínula. Observe ao microscópio.

Organismos marinhos podem ser observados

Se você mora próximo do litoral, pode também coletar organismos na água do mar. As algas podem ser facilmente observadas ao microscópio. Para coletar algas, proceda como indicado a seguir.

1. O ideal é coletar algas na maré baixa (isto é, com altura inferior a 0,3 m). Consulte no site da Marinha do Brasil <http://www.mar.mil.br/dhn/chm/tabuas/index.htm> a tábua das marés e obtenha a informação do dia e horário mais adequados para a sua coleta de algas. Escolha um dos 53 portos cadastrados, dependendo do local onde você pretende fazer a coleta. Informe mês e ano para obter informações corretas.
2. Para conhecer um pouco mais sobre as algas, acesse o endereço <http://www.botanicaonline.com.br/geral/arquivos/bmaterial4.pdf>, que apresenta as algas mais comuns do costa sudeste do Brasil, embora muitas delas estejam presentes nas demais regiões de nossa costa. Colete as algas de aspecto mais filamentosas, pois as células que as formam podem ser facilmente observadas. *Ulva*, *Enteromorpha* e *Caulerpa* são particularmente fáceis de serem coletadas e observadas. Se a alga for filamentosa, faça a preparação citológica de um filamento colocando-o, juntamente com uma gota de água, entre lâmina e lamínula. Se a alga não for filamentosa, coloque um pequeno pedaço sobre a lâmina, junto com uma gota de água, e cubra com a lamínula.
3. Briozoários coloniais quase microscópicos também podem ser observados crescendo na superfície da alga marrom *Sargassum*, comum em águas rasas e também com *habitat* flutuante. Coloque os briozoários em uma lâmina contendo uma gota de água do mar e cubra com uma lamínula.



<http://en.wikipedia.org/wiki/Thallus>

Briófitas também podem ser coletadas e observadas ao microscópio

1. Briófitas podem ser facilmente coletadas em locais úmidos, revestindo pedras, calçadas, paredes, troncos de árvores, etc. São vegetais terrestres de morfologia simples, popularmente conhecidas como “musgos”, “antóceros” ou “hepáticas”. Não possuem vasos condutores. São sensíveis à poluição e funcionam como bioindicadores.
2. Colete os filóides que são formados apenas por uma única camada de células, com exceção da nervura central, um pouco mais espessa. Coloque um filóide sobre uma lâmina contendo uma gota de água. Cubra com a lamínula e observe ao microscópio.



<http://terceiroanobiologia.blogspot.com.br/2010/06/briofitas.html>



<http://www.plantasony.com.br/reino-vegetal/briofitas-2.html>

Fungos também podem ser observados ao microscópio

Podem ser facilmente observados os fungos filamentosos, mais conhecidos como bolor ou mofo e que não formam cogumelos. Crescem sobre matéria orgânica como frutas, pães, geleias etc. A maioria dos fungos cresce na forma de estruturas filamentosas, cilíndricas, com 2 a 10 μm de diâmetro e comprimento variado, mas que pode ultrapassar vários centímetros.

1. Colete uma pequena porção do fungo, da parte composta por finos filamentos, coloque sobre uma gota de água numa lâmina, cubra com uma lamínula e retire as bolhas de ar pressionando levemente a lamínula com uma pinça.



<http://www.microbiologyonline.org.uk/about-microbiology/introducing-microbes/fungi>

Deixe-se contaminar pela curiosidade e pesquise a estrutura microscópica de outros seres vivos!

O que este microscópio **não** permite visualizar

As células procarióticas, com média de tamanho entre 2 a 5 μm , necessitam de aumentos de 1000 vezes para serem observadas, condição que está acima das possibilidades do microscópio do *kit*. Na preparação de mucosa bucal, aglomerados de bactérias podem ser observados como pontos escuros sobre as células da epiderme humana. As mitocôndrias também não podem ser visualizadas em detalhes, pois apresentam as dimensões de uma bactéria.

A membrana plasmática das células, que limita o conteúdo celular do meio externo, não pode ser observada em microscopia óptica, pois apresenta espessura inferior a 10 nm. (Vale lembrar que $1\text{ nm} = 10^{-3}\text{ }\mu\text{m}$.) Pelo mesmo motivo, também não podem ser observados detalhes de organelas membranosas como o retículo endoplasmático, o complexo golgiense e os lisossomos.

As atividades propostas neste manual estão contempladas na temática “A organização celular da vida”, primeira das unidades pertencentes a “Unidade dos seres vivos”, que é o terceiro dos temas estruturadores do ensino de Biologia estabelecidos nos Parâmetros Curriculares Nacionais para o Ensino Médio (PCNEM). Tais atividades promovem o hábito de observar, coletar, investigar, medir, comparar, relacionar e, assim, avaliar a realidade concreta do mundo.

Eliana Maria Beluzzo Dessen

Departamento de Genética e Biologia Evolutiva – Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo



Projeto dos Kits “AVENTURAS NA CIÊNCIA”

Este projeto foi desenvolvido por uma equipe de cientistas como contribuição para o aperfeiçoamento da educação em Ciências no Brasil. Foi projetado com foco em jovens acima de 12 anos. Ele visa a suprir a carência de equipamentos de laboratório e práticas experimentais em nossas escolas. Tem como objetivos recuperar a curiosidade inata dos jovens, seu interesse pela compreensão da natureza e do mundo em que vivemos, estimulando a criatividade e a paixão pela descoberta e promovendo uma iniciação na grande aventura da ciência.

É absolutamente essencial que você possa levar o kit para sua casa a fim de realizar os experimentos propostos – por gosto, não por obrigação. Tome para isso o tempo que for necessário, que variará conforme o experimento. Como acontece com um cientista em seu laboratório, nem sempre o experimento dará certo. Persista e teime em descobrir sozinho e consertar o que falhou – é assim que mais se aprende.

Você poderá compartilhar suas experiências com sua família e com seus amigos. Também poderá levar os *kits* para a escola e discuti-los com colegas e com professores. Se tiver acesso à internet, encontrará muitos materiais suplementares, inclusive vídeos de experimentos, no portal www.educarecompanhia.com

Boas-vindas ao mundo da ciência!

Equipe de cientistas responsáveis por este projeto



Moysés Nussenzweig
Físico – UFRJ



Beatriz Barbuy
Física – USP



Mayana Zatz
Bióloga – USP



Eliana Dessen
Bióloga – USP



Vanderlei Bagnato
Físico – USP



Henrique Toma
Químico – USP



Eduardo Colli
Matemático – USP



Carlos H. de Brito Cruz
Físico – Unicamp

Apoio:



Produção:



© Todos os direitos reservados a EDUCAR & CIA desde 2013.