



O microscópio de luz: um aliado do professor?

Rosângela Martins de Oliveira¹, Vanderlúcia Batista Almeida da Silva², Aline Correia Silva²

¹Professora Doutora de Biologia - IFTO – Araguatins – characid@yahoo.com.br

²Aluno do curso de Licenciatura em Ciências Biológicas – IFTO - Araguatins

Resumo: Na busca pelo aprendizado significativo, o docente é impelido a planejar adequadamente suas aulas. As atividades práticas são uma excelente estratégia de ensino, e no contexto das Ciências Biológicas, aulas que utilizem o microscópio de luz possibilitam um incremento substancial à teoria. A falta do equipamento não é o único motivo para que um professor não utilize esta estratégia, o desconhecimento prático de protocolos e técnicas são empecilhos igualmente relevantes. O presente trabalho teve como objetivo expor alguns protocolos que preparassem células para serem observadas ao microscópio de luz. Os métodos apresentados foram parte de um curso de pequena duração ministrado no IFTO – campus Araguatins à estudantes do curso de licenciatura em Ciências Biológicas. Os resultados das preparações mostraram que é possível avaliar diferentes tipos de células, animal e vegetal e diferentes organizações do DNA, ou seja, no núcleo interfásico, em mitose ou como cromossomos politênicos. Além disso, os resultados também permitiram mostrar que uma substância terapêutica, como a Violeta de Genciana comprada em farmácias, poderia ser usada como um corante para DNA. Aos futuros docentes, o conhecimento adquirido pode ainda ter diversas maneiras de aplicação, ou seja, as aulas com tais protocolos podem ser organizadas de maneira diferenciada, possibilitando aos alunos do ensino médio, por exemplo, o exercício do método científico.

Palavras-chave: célula, cebola, cromossomos, mitose

1- INTRODUÇÃO

Atividades experimentais têm sido consideradas como estratégias relevantes para o ensino de Biologia (OLIVEIRA et al., 2005; FEITOSA et al., 2011). Entre os diferentes benefícios elencados por Krasilchik (2008) promovidos por aulas práticas, ressalta-se, no contexto deste artigo, a possibilidade do aluno do ensino médio manipular equipamentos e amostras biológicas, assim como observar estas amostras de forma inusitada.

Os professores não desejam trabalhar somente com a idéia do aprendizado mecânico (RONCA, 1994), simplesmente memorístico. Os educadores anseiam pelo aprendizado significativo (RONCA, 1994), mesmo que em alguns momentos ou para alguns alunos o aprendizado mecânico seja efetivo no processo de ensino e aprendizagem. Segundo Valadares (2011), a aprendizagem significativa é um processo dinâmico, o qual obriga o docente a planejar aulas que permitam aos alunos aprofundar, modificar e aumentar os seus subsunçores (cognitivo relacionado à aprendizagem de conceitos relevantes).

Assim, as atividades experimentais, como parte do planejamento das aulas, seriam uma excelente estratégia para que o aprendizado significativo seja uma realidade para os alunos do ensino médio ou de qualquer nível escolar.

Aulas práticas que envolvam a microscopia de luz são uma ótima possibilidade de incremento às aulas teóricas. Contudo, a falta do equipamento e/ou de capacitação do docente para utilizá-los são impedimentos comuns ao uso deste tipo de estratégia. Aulas de microscopia exigem os saberes relacionados a escolha e ao preparo do material para a observação além da mecânica do equipamento.

O presente artigo tem como objetivo mostrar quatro metodologias simples para o preparo de células animal e vegetal para a microscopia de luz. Os dados apresentados foram parte de um curso de curta duração ofertado aos discentes de licenciatura em Ciências Biológicas do IFTO- campus



Araguatins, que teve como meta capacitá-los para o uso do microscópio de luz, permitindo que estes futuros docentes possam incluir esta estratégia ao seu cotidiano de trabalho.

2- MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Preparação de epitélio de cebola - *Allium cepa*

Objetivo: Observar a organização celular do epitélio da cebola e, quando corada, a presença de núcleos interfásicos.

Material: Lâminas de vidro, lamínulas, pipeta, água, cebola, Violeta de Genciana (solução comercial 1%-UNIPHAR), papel filtro ou toalha.

Metodologia:

- Retirar uma camada do epitélio interno da cebola;
- Colocar sobre a lâmina;
- Pingar uma gota de água;
- Cobrir com lamínula e observar ao microscópio;
- Para corar os núcleos celulares é só retirar a lamínula;
- Acrescentar uma gota de Violeta de Genciana;
- Deixar atuando por 30 segundos;
- Cobrir com lamínula e se estiver extravasando muito líquido, deve-se comprimir a lamínula contra a lâmina com o auxílio de papel absorvente (tipo papel filtro ou toalha);
- Observar ao microscópio.

2.2. Preparação de cromossomos mitóticos da região meristemática da raiz de cebola – *Allium cepa*

Objetivo: Mostrar as diferentes fases da divisão mitótica.

Material: Lâminas de vidro, lamínulas, pipeta, lâminas cortantes, pinças, placa de petri, etanol P.A., ácido acético P.A., bulbos de cebola, Violeta de Genciana (solução comercial 1%-UNIPHAR), agulhas de seringa.

Metodologia

- Cortar as raízes velhas do bulbo da cebola e retirar a camada mais externa do epitélio;
- Submergir somente a parte da raiz da cebola em água;
- Deixar as raízes crescendo até no máximo 2 cm;
- Cortar a raiz, lavar em água destilada e colocar no fixador 3:1 (3 partes de etanol: 1 parte de ácido acético); Deixar no fixador por 24 horas;
- Retirar uma raiz, lavar em água destilada e em seguida colocá-la em uma solução de Ácido Clorídrico 1N (hidrólise) por 20 minutos;
- Em seguida colocar a raiz sobre a lâmina com uma gota de ácido acético 60%;
- Cortar a ponta meristemática da raiz e descartar o restante;
- Cortar o tecido meristemático com o auxílio de agulhas em fragmentos bem pequenos; não deixe os fragmentos secarem;
- Acrescentar uma gota de Violeta de Genciana; deixar o corante atuando por 10 segundos;
- Cobrir com lamínula e pressionar com o auxílio de papel toalha ou papel filtro;
- Observar ao microscópio.

As raízes podem utilizadas com a etapa de fixação reduzida para uma hora. Assim, após uma hora de fixação as raízes devem ser lavadas em água (preferencialmente água destilada) e transferidas para a hidrólise. As etapas subsequentes serão idênticas àquelas já descritas, com exceção da solução de ácido acético que poderá ser de 45%.

Neste caso, pode-se passar esmalte nas bordas da lamínula evitando a secagem do material. As lâminas podem ser guardadas na geladeira e permanecerem viáveis para observação por até 30 dias.

2.3. Preparação de epitélio bucal



Objetivo: Observar células eucarióticas pavimentosas do epitélio bucal.

Material: Lâminas de vidro, lamínulas, pipeta, água, palito de dente ou de sorvete, Violeta de Genciana (solução comercial 1%-UNIPHAR), papel filtro ou toalha.

Metodologia:

- Pingar uma gota de água sobre a lâmina;
- Raspar a lateral interna da boca com um palito;
- Tocar a ponta do palito na gota de água que está sobre a lâmina;
- Cobrir com lamínula e observar ao microscópio;
- Para corar os núcleos celulares é só retirar a lamínula;
- Acrescentar uma gota de Violeta de Genciana;
- Deixar atuando por 20 segundos;
- Cobrir com lamínula e se estiver extravasando muito líquido, deve-se comprimir a lamínula contra a lâmina com o auxílio de papel absorvente (tipo papel toalha);
- Observar ao microscópio;

Ainda existe a possibilidade de secar a lâmina com o epitélio em uma placa quente e depois cobri-la com Violeta de Genciana por 40 segundos. Lavá-la com água e secar ao ar. Após estar seca é só observar ao microscópio.

2.4. Preparação de cromossomos Politênicos da mosca da fruta – *Drosophila* sp.

Objetivo: Mostrar os cromossomos politênicos da glândula salivar de *Drosophila* sp., ressaltando que a célula está na intérfase e que estes elementos são visíveis porque os cromossomos homólogos se emparelham e cada um deles se replica diversas vezes.

Material: Lâminas de vidro, lamínulas, pipeta, pinças, etanol P.A., ácido acético P.A., banana, frascos de vidro, estereoscópio (lupas), Violeta de Genciana (solução comercial 1%-UNIPHAR), solução fisiológica para humanos (solução comercial), agulhas.

Metodologia

- Amassar bananas e colocar porções em frascos de vidro (sem tampa), deixando-os em ambiente externo para atrair as drosófilas;
- Após cinco ou seis dias, selecionar as larvas maiores. Coloque cada larva em uma lâmina limpa e seca, acrescente uma gota de solução fisiológica;
- Com o auxílio de uma pinça (ou agulhas), segurar a porção posterior do corpo da larva e, com um uma agulha, firmar a cabeça de encontro com a lâmina. Um movimento firme deverá romper a parte anterior do corpo e expor as glândulas salivares.
- Retirar o excesso de solução fisiológica com papel filtro (ou papel toalha) e acrescentar sucessivas gotas de fixador (etanol-ácido:acético-3:1) durante 30 segundos. Retirar o excesso de fixador com o auxílio de papel absorvente, evitando que a solução se espalhe por toda lâmina. Não deixar a glândula secar sobre a lâmina;
- Decorrido o tempo de fixação, sem deixar o material secar, colocar uma gota de ácido acético 45%, e deixar atuando por 1 minuto;
- Retirar o excesso de ácido acético, usando uma tira de papel de filtro, não deixar as glândulas secarem;
- Colocar uma gota de Violeta de Genciana a 0,5% (em água destilada) e cobrir o material com uma lamínula. O tempo de coloração deve ser acompanhado ao microscópio;
- Quando os cromossomos estiverem corados, fazer a ruptura das células comprimindo a lamínula contra a lâmina, com o auxílio de papel absorvente. As lâminas ricas em células politênicas devem ser lutadas (vedadas com esmalte para unhas) para evitar a evaporação do meio;
- Observar ao microscópio.

Todos os protocolos expostos foram baseados em Guerra e Souza (2002), com modificações. O modelo XS20T da Nanjing Kozo Optical and Eletronical Instrument Ltda, foi o microscópio utilizado para as observações. Este modelo estava acoplado a uma câmera digital Microscope Eyepiece Camera – 1.3MP Aptina e as fotomicrografias realizadas com o auxílio do *software* Toup Tek Toupview, versão x86 3.2.1476.

3- RESULTADOS E DISCUSSÃO

As preparações de células do epitélio de cebola (*Allium cepa*), coradas com Violeta de Genciana, permitiram a observação das delimitações entre as células, as quais correspondem a evidências da parede celular e da membrana plasmática, e os núcleos celulares (Figs. 1a, 1b). Com aumento de 1000X foi possível verificar até mesmo o nucléolo (Fig. 1b). Os diferentes padrões de coloração são decorrentes da interação entre o corante e a luz oriunda do microscópio.

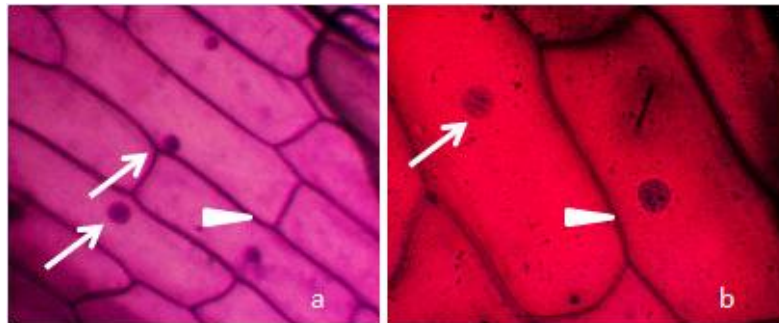


Figura 1- Células do epitélio de cebola-*Allium cepa*, coradas com Violeta de Genciana. Em *a*, com aumento de 400X, é possível verificar diversas células, os núcleos (setas) e a delimitação de cada célula (cabeça de seta = parede celular e membrana plasmática). *b*, as mesmas estruturas vistas em *a* com aumento de 1000X.

As preparações meristemáticas da cebola mostraram todas as fases da mitose (Fig. 2). Foi possível observar as diferenças quanto ao grau de condensação do DNA, entre a interfase e a prófase (Fig. 2a). As análises das metáfases permitiram a visualização da organização e orientação dos cromossomos na região mediana da célula (Fig. 2b). Esta orientação pode ser confirmada quando foram observadas as células em anáfases (Fig. 2b). Nas anáfases não foram verificadas a presença de nenhum elemento cromossômico com segregação precoce ou tardia. O material estudado foi viável para se diferenciar telófases iniciais (Fig. 2c) e tardias.

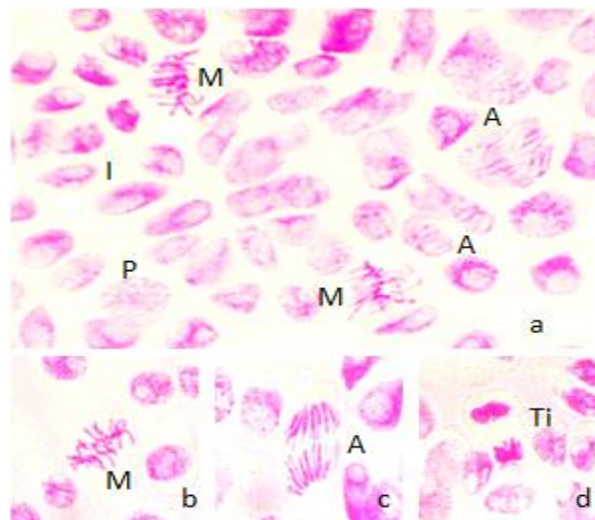


Figura 2- Células do meristema da raiz de cebola (*Allium cepa*) coradas com Violeta de Genciana. Em *a*, um fragmento do tecido em que possível ver diferentes fases da mitose e muitos núcleos

interfásicos (400X). *b*, *c* e *d* mostra em destaque três diferentes fases da mitose (1000X). I, intérfase; P, prófase; M, metáfase; A, anáfase, Ti, telófase inicial.

Nas células do epitélio bucal humano, características tais como a forma irregular da célula e a presença do núcleo foram observadas mais nitidamente após coloração com Violeta de Genciana (Fig. 3a). As análises das células da glândula salivar de *Drosophila* sp., utilizando o mesmo corante já descrito, antes do esmagamento, mostraram que estas são estruturas globosas, contendo no seu interior os cromossomos politênicos (dados não fotografados). Após o esmagamento, foram visualizados cromossomos politênicos isolados, permitindo a observação de bandas e interbandas (Fig. 3b).

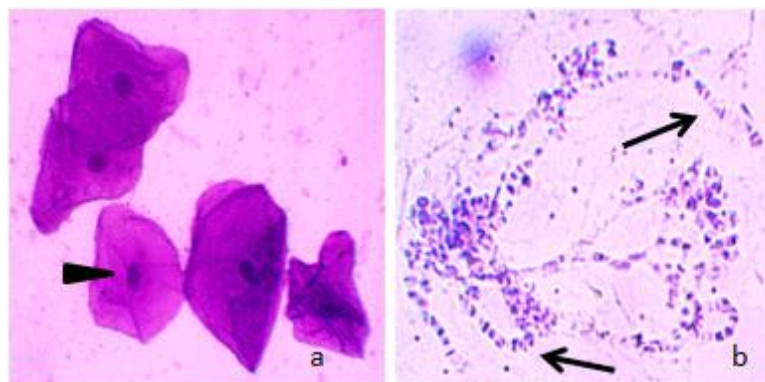


Figura 3- Células eucarióticas animal coradas com Violeta de Genciana. *a*, células do epitélio bucal humano, é possível ver os núcleos celulares (cabeça de seta). *b*, célula da glândula salivar de *Drosophila* sp., mostrando os cromossomos politênicos com suas bandas e interbandas (setas) (1000X).

A importância das aulas práticas foi intensamente discutida durante todo o século XX. Krasilchik abordou a questão das aulas práticas em um texto de 1988. No referido artigo a autora expõe a trajetória deste tipo de aula, e mostra duas situações: a primeira delas seria a de que as aulas experimentais seriam meios passivos para se adquirir conhecimento; em contrapartida, a segunda situação, em termos de evolução dos objetivos e metodologias, seria a de que as práticas teriam potencial educativo, pois seriam realizadas com base na metodologia científica.

A metodologia científica permite ao aluno ser agente atuante no aprendizado e não um mero espectador passivo daquilo que o professor deseja ensinar. Assim, sendo o aluno um participante ativo, o ideal da aprendizagem significativa fica mais próximo de algo real, saindo do campo meramente linguístico.

O professor precisa estar capacitado para planejar aulas práticas que sejam guiadas pela metodologia científica. Logo, os graduandos necessitam da vivência científica para que futuramente eles possam acrescentar ao seu planejamento esta possibilidade de ensino, e que não tenham nenhum tipo de impedimento intelectual para tal incorporação.

A práticas com células do epitélio de *A. cepa* (cebola) possibilitam ao professor de Biologia do ensino médio mostrar a morfologia e a organização das células do tecido vegetal. Permite ainda mostrar como é um núcleo celular na interfase, e aproveitar o contexto para trabalhar com a ideia das fases que envolvem a interfase (G1, S e G2), sendo está abordagem útil para se desmistificar a ideia de que o núcleo interfásico não está em atividade. É viável também utilizar o nucléolo, visível na figura 1b, como exemplo de observação indireta da organização e da atividade do DNA (*Deoxyribonucleic acid*) no núcleo interfásico.



A cebola ainda pode ser fornecer dados sobre as diferentes fases da divisão mitótica. A análise da região meristemática da raiz da cebola, permite ao professor mostrar todas as fases da mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase) e ainda conduz o aluno para algo concreto, que está além das figuras expostas nos livros didáticos. Esta prática fornecerá imagens que permitirão ao discente compará-las com esquemas já publicados, e perceber que estruturas que participam da mitose, tais como as fibras do fuso requerem técnicas e/ou equipamentos mais específicos para a sua visualização. Dessa forma, o aluno se deparará com uma ciência mais sofisticada a qual possibilitou a descoberta de toda a maquinaria celular necessária para a completa divisão da célula. Adicionalmente, o professor poderá fazer uma comparação das células de cebola em mitose com aquelas em interfase, no tocante a atividade transcricional do DNA, utilizando como exemplo a estrutura do nucléolo.

As possibilidades de incrementos às aulas são maximizadas com a prática para visualização do epitélio bucal humano e dos cromossomos politênicos. As preparações de lâminas que envolvem material humano aguçam muito a curiosidade do aluno, pois permitem o conhecimento de uma parte do seu próprio organismo. A prática com o epitélio bucal além de simples, é bastante segura quando comparada às práticas que envolvem células do sangue. As discussões sobre estes dois tipos de células animal, podem estar baseadas, por exemplo, no fato destas duas células possuírem diferenças tão marcantes quanto a organização do DNA mesmo estando, ambas, em interfase. É obvio que o esclarecimento sobre o padrão longitudinal de bandas dos cromossomos politênicos e a formação de *puffs*, acrescentará muitas informações sobre a organização e o funcionamento do DNA

A adequação de protocolos exige mais do estudante de graduação, que o aprendizado de como usar o microscópio de luz. O conhecimento do material, seja ele biológico ou não, é imprescindível para se criar alternativas e adaptações metodológicas de protocolos preexistentes. No caso de material biológico, o conhecimento sobre a composição química deste e de técnicas de coloração, são aliados importantes para se buscar meios eficientes de observação com o microscópio de luz. Nas práticas apresentadas no presente trabalho e durante o curso ministrado, os graduandos puderam aprender que uma substância comprada em farmácias poderia ser usada como um corante para laboratório. Dessa forma, as práticas se tornaram, além de simples, baratas e viáveis.

Os resultados obtidos com quatro práticas apresentadas neste trabalho e propostas para o curso de curta duração anteriormente citado, estão consoantes com o objetivo de treinar o aluno de licenciatura para o uso do microscópio, para a compreensão e execução de protocolos e ainda para que ele exercite seu potencial científico. O exercício do potencial científico, neste caso, foi a utilização de Violeta de Genciana comercial, ou seja, aquela disponível em farmácias. Ao usar a Violeta na forma terapêutica para corar núcleos celulares, esperou-se despertar o aluno para a ideia de que as práticas são possíveis, desde que ele tenha uma boa formação teórica que permita a adequação de protocolos para a realidade onde ele estará atuando.

No livro “Prática de ensino de Biologia” (KRASILCHIK, 2008), a autora mostra exemplos de como organizar alguns temas de biologia, transformando-os em interessantes através de aulas diferenciadas. Assim, o aluno de graduação, quando adquiri conhecimento teórico de forma consistente, poderá ser um professor bastante criativo ao usar protocolos previamente publicados, incluindo aqueles expostos no presente trabalho.

4. CONCLUSÕES

O uso do microscópio de luz não depende somente de sua existência nas escolas, mas do conhecimento do professor para utilizá-lo. Cursos podem complementar a formação dos alunos de licenciatura em Ciências Biológicas, capacitando-os para a elaboração de aulas práticas, por exemplo, aquelas que usem o microscópio de luz. A apropriação do conhecimento pelo professor pode ser convertida em aulas práticas interessantes que motivem o uso do método científico e transforme o ideal de aprendizado significativo em realidade.



5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CASTANON, G. A. **Construtivismo e terapia cognitiva: questões epistemológicas**. Revista Brasileira de Terapias Cognitivas, v. 1, n. 2, p.31-42, 2005.
- FEITOSA, R.A.; LEITE, R.C.M.; FREITAS, A.L.P. **“Projeto Aprendiz”:** interação universidade escola para realização de atividades experimentais no ensino médio. Ciência e Educação, v. 17, n. 2, 2011.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas**. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002, 127p.
- KRASILCHIK, M. **Prática de ensino de biologia**. 4ª ed. ver. e amp. São Paulo: EDUSP, 2008.
- OLIVEIRA, P.S.; NASCIMENTO, M.C.; BIANCONI, M.L. **Mudanças conceituais ou comportamentais?** Ciência e Cultura, v. 57, n. 4, p. 46-47, 2005.
- RONCA, A.C.C. **Teorias de ensino: a contribuição de David Ausubel**. Temas em Psicologia, n. 3, p. 91-95, 1994.
- VALADARES, J. **A teoria do aprendizado significativo como teoria construtivista**. Aprendizado Significativo em Revista, v.1, n.1, p. 36-57, 2011.