

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS
DEPARTAMENTO DE HIDRÁULICA E SANEAMENTO
SHS0377 - Biologia Geral e Aplicada I



APOSTILA DE AULAS PRÁTICAS

Professora: Maria Bernadete A. Varesche (varesche@sc.usp.br)

Técnica Responsável: Juliana Gonçalves dos Santos Custódio (jucust@sc.usp.br)

Monitores PAE:

Camila A. de Menezes (camilaapmenezes@outlook.com)

Caroline F. Granatto (carol_granatto@hotmail.com)

Danilo H. D. Rocha (danilorochassp21@hotmail.com)

Francisco R.S. Freitas (freitas.sousa@gmail.com)

Marina M. Gomes (marina_mgomes@hotmail.com)

Vitor A. Lourenço (vitor.a.lourenco@gmail.com)

2020

Sumário

| | |
|--|----|
| Manual de Biossegurança dos Laboratórios Didáticos de Biologia, Poluição Ambiental e Processos e Operações Unitárias da Engenharia Ambiental | 1 |
| Regras Básicas | 1 |
| Recomendações Gerais | 2 |
| Recomendações de Ordem Pessoal..... | 2 |
| Aula Prática 1: Comparação de Células Procarióticas e Eucarióticas e Coloração de Gram | 4 |
| Introdução | 4 |
| Material necessário | 4 |
| Procedimento | 5 |
| Observações | 7 |
| Anotações da aula prática 1 | 9 |
| Aula Prática 2: Visualização Microscópica de Organismos: Algas, Zooplâncton e Protozoários | 10 |
| Introdução | 10 |
| Material necessário | 16 |
| Procedimento | 16 |
| Anotações da aula prática 2 | 19 |
| Aula prática 3: Osmose, ciclose e cloroplastos | 20 |
| Introdução | 20 |
| Material necessário | 24 |
| Procedimento | 25 |
| Anotações da aula prática 3 | 26 |

Manual de Biossegurança dos Laboratórios Didáticos de Biologia, Poluição Ambiental e Processos e Operações Unitárias da Engenharia Ambiental

Este manual tem por objetivo descrever as orientações apropriadas sobre as normas de segurança e administração do ambiente de trabalho na Engenharia Ambiental dos Laboratórios Didáticos, de forma a diminuir a exposição desnecessária a risco de saúde e acidentes coletivos e pessoais.

A segurança no laboratório é uma preocupação de todo o pessoal. Uma boa prática laboratorial é fundamental para a segurança e não pode ser substituída por equipamento especial. A postura de cada colaborador, estagiário ou aluno no laboratório frente ao risco é que determinará uma prática laboratorial segura ou um acidente de trabalho. Em laboratórios químicos o acidente de trabalho raramente é restrito a quem o causou, mas as atitudes seguras de cada colaborador, aluno ou estagiário são extensivas aos demais e para a preservação da estrutura física do laboratório.

Cada laboratório deve assumir a responsabilidade em desenvolver planos para a proteção dos colaboradores antes da exposição a agentes químicos e biológicos. Quando trabalhamos com amostras de potencial de risco biológico (potencialmente infecciosas), cabe tratarmos todas como tal e toda manipulação de produto químico deve seguir as orientações do fabricante contidas no rótulo e FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico).

Regras Básicas

Cada aluno deverá ter seu próprio “kit de Segurança” que incluirá:

- Óculos de segurança;
- Jaleco com as seguintes características:
 - 1.comprimento: até a altura dos joelhos;
 - 2.mangas compridas com fechamento, preferivelmente velcro;
 - 3.confecionado em algodão.
- Luvas (látex) para procedimentos.

Quanto a este material de segurança o único que não encontra-se disponível no laboratório é o jaleco. Este é de uso pessoal e a aquisição é de responsabilidade do aluno. Os óculos e as luvas encontram-se no laboratório e estarão disponíveis sempre que se faça necessário seu uso.

Recomendações Gerais

O trabalho em laboratório exige concentração. Não converse desnecessariamente e não distraia seus colegas.

Recomendações de Ordem Pessoal

- No laboratório devem ser usados SEMPRE OS EPI's:

1. Jaleco: enquanto permanecerem no laboratório, os colaboradores, alunos e estagiários das áreas técnicas devem usar um avental de mangas compridas fechado na frente. É EXPRESSAMENTE PROIBIDA a entrada de pessoas no laboratório com trajes inadequados para qualquer finalidade. O vestuário de proteção (jaleco) deve ser lavado em intervalos apropriados a fim de assegurar a sua limpeza (contaminações em geral) e deve ser trocado imediatamente quando for visivelmente contaminado por materiais ou produtos. O vestuário deve ser colocado e transportado em sacos plásticos devidamente fechados.

2. Sapatos fechados e preferivelmente sem salto: os sapatos devem ser confortáveis, cobrir os pés por inteiro e ter preferencialmente solado antiderrapante ou de borracha. É expressamente proibido o uso de sandálias, chinelos ou qualquer tipo de calçado que não cubra os pés em sua totalidade. É aconselhável não utilizar sapatos com salto alto no laboratório.

3. Calças compridas, preferivelmente jeans;

4. Cabelo compridos devem ficar presos;

Outros tipos de EPI como máscaras, luvas para alta temperatura, aventais e escudos de segurança, podem ser necessários em algumas situações e para tanto solicitar ao professor ou a técnica do laboratório com antecedência. O não cumprimento de qualquer um desses itens impossibilitará o aluno de assistir e participar da aula prática que estará sendo ministrada.

- Use sempre que recomendado óculos de segurança quando estiver no laboratório. Quando se manuseia materiais cáusticos ou tóxicos e materiais potencialmente infectantes é obrigatório o uso de óculos de proteção, escudos faciais ou outros equipamentos que protegem os olhos e a face. As lentes de contato, especialmente as gelatinosas, absorvem solventes e vapores. Portanto, representam um risco em caso de respingos e derrame. As lentes de contato não protegem contra respingos, e podem ainda concentrar substâncias cáusticas de encontro à córnea ou dificultar a lavagem natural da córnea por parte das lágrimas. Quando se trabalha com agentes que podem causar infecção através das mucosas ou da pele, ou quando existe o risco de respingos, deve-se usar máscaras combinadas com proteção dos olhos, tais como: óculos de proteção ou óculos com escudos laterais sólidos. Para os usuários de óculos ou lentes de contato torna-se obrigatório, portanto o uso de óculos de segurança;

- Certifique-se da localização dos equipamentos de segurança coletivos: extintores de incêndio, lava-olhos e chuveiros de emergência;
- Certifique-se da localização das saídas de emergência;
- Não pipete nenhum tipo de produto com a boca;
- Não misture material do laboratório com seus pertences pessoais;
- Não leve as mãos a boca ou aos seus olhos quando estiver manuseando amostras ou produtos químicos;
- Lave cuidadosamente as mãos com bastante água e sabão antes de sair do laboratório. Caso vá ao banheiro durante as aulas práticas lave as mãos antes e depois do uso de toalete. Caso saia para se alimentar ou fumar, as mãos também devem ser lavadas. As mãos ainda devem ser lavadas imediatamente após o contato acidental com esgoto, lodo ou quaisquer tipos de materiais contaminados.
- Nunca consuma ou coloque nenhum tipo de alimento nas bancadas, armários, geladeiras e estufas do laboratório. Comidas, bebidas e outros artigos que geram contato potencial entre as mãos e a boca são proibidos nas áreas técnicas. Amostras como esgoto, lodo entre outras que contém uma variedade de organismos patogênicos, são manuseadas diariamente nas áreas técnicas e armazenadas nas geladeiras. São fonte potencial de contaminação de comidas e bebidas. Não se permite armazenar comida ou bebidas nos refrigeradores dos setores técnicos, pois nestes são armazenadas amostras para análise.
- Nunca utilize vidraria de laboratório como utensílio doméstico;
- Nunca fume nas dependências do laboratório. Materiais em combustão são uma causa potencial de ignição de solventes inflamáveis.
- Nunca aplique cosmético no laboratório.
- Objetos perfurocortantes: deve-se usar extrema cautela no manuseio de objetos contundentes, como tesouras, facas, estiletes e cacos de vidro. Dirija-se ao professor ou a técnica caso ocorra algum acidente desta natureza e busque sempre orientação de como se deve proceder.
- No laboratório não se deve correr a fim de evitar choques, derramamento de material e acidentes.

Pedimos a compreensão e colaboração de todos para que possamos conviver num ambiente mais seguro. Acidentes acontecem sempre e normalmente quando menos esperamos. Por este motivo, precisamos nos prevenir. Estas recomendações não anulam a possibilidade de acontecer algum acidente, mas a não aplicação delas pode causar acidentes de dimensões que variam de pequenas a às vezes irreparável. Seja consciente, tenha uma conduta segura!

Aula Prática 1: Comparação de Células Procarióticas e Eucarióticas e Coloração de Gram

Introdução

Os seres vivos podem ser classificados em dois grandes grupos, procariontes e eucariontes, em função da organização celular. O objetivo desta prática é comparar células procarióticas e eucarióticas, estabelecendo semelhanças e diferenças.

Ao microscópio óptico, o que mais chama atenção é a grande diferença de tamanho entre as células procarióticas e eucarióticas. É claro que algumas células procarióticas, por exemplo, semelhantes a cianofíceas possuem tamanho próximo ou maior que algumas células eucarióticas. Entretanto, a regra é que os procarióticos, geralmente, têm células menores que os eucarióticos.

Outra diferença bem marcante é a presença do núcleo nos eucarióticos e sua ausência nos procarióticos. Internamente, não só a presença do núcleo difere entre as duas células, mas também, a intensa compartimentalização das diversas funções celulares em organelas envoltas por membranas – o sistema de endomembranas – característico das células eucarióticas.

Infelizmente, o sistema de endomembranas é de difícil visualização ao microscópio óptico, sendo observado adequadamente em microscopia eletrônica de transmissão. Isso restringe o elenco de atividades práticas possíveis com o uso de microscópio comum. A observação da característica mais notável para diferenciar os dois tipos de organização celular fica, geralmente, limitada à observação da presença e ausência de núcleo. Como exceção a esta generalização, pode-se citar a visualização de vacúolos contráteis e digestivos em ciliados e em preparações de lâminas permanentes com colorações especiais para visualizar retículo endoplasmático, complexo de Golgi ou mitocôndrias. Uma forma bem didática de evidenciar as diferenças em relação às células é colocar lado a lado células de bactérias (procarióticas) e células da mucosa da bochecha (eucarióticas).

Material necessário

Visualização de células eucarióticas e procarióticas

- Lâminas e lamínulas;
- Suabe estéril;
- Amostra de bactérias (cultura em suspensão);
- Alça de platina;
- Lamparina;
- Álcool 70%;
- Corante azul de metileno 0,5%;
- Microscópio.

Coloração de Gram

- Solução de violeta cristal: misturar a solução A com a B. A mistura é estável e pode ser estocada por meses à temperatura ambiente

Solução A:

2 g de violeta cristal,
20 mL de etanol (95%).

Solução B:

0,8 g de oxalato de amônia,
80 mL de água destilada.

- Solução de iodo: dissolver o iodo e o iodeto de potássio em aproximadamente 25 mL de água destilada. Adicionar o restante da água à mistura. A solução é instável e deve ser estocada à temperatura menor que 200°C, em frasco escuro e não por mais de 3 meses.

1 g de iodo,
2 g de iodeto de potássio,
100 mL de água destilada.

- Solução de safranina: misturar a safranina e o etanol na água destilada.

0,25 g de safranina,
10 mL de etanol,
100 mL de água destilada.

Procedimento

Visualização de células eucarióticas

1. Faça uma suave raspagem da bochecha (mucosa bucal) com um suabe estéril.
2. Espalhar bem o material coletado sobre uma lâmina limpa apenas uma única vez e direção.
3. Pingar uma gota de azul de metileno 0,5% sobre o material e cobrir com uma lamínula.
4. Retirar o excesso de corante com o auxílio de um papel higiênico.
5. Levar ao microscópio para focalizar e observar com as objetivas de 4x, 10x e 40x..
6. Fazer um desenho esquemático.

Visualização de células procarióticas

1. Com uma alça de platina estéril retirar amostra de cultura bacteriana em suspensão. Esfregar a alça na lâmina até espalhar bem a amostra coletada.
2. Fixar as células pelo calor, colocando a lâmina sobre a chama da lamparina, com auxílio de pinça, em distância razoável para não aquecer demais o material.
3. Gotejar sobre o esfregão álcool 70% para fixar as células. Deixar evaporar o álcool em temperatura ambiente.
4. Colocar uma gota de corante (azul de metileno 0,5%) sobre o material e aguardar 1 min.
5. Retirar o excesso de corante com o auxílio de um papel higiênico.
6. Levar ao microscópio para focalizar e observar com as objetivas 4x, 10x, 40x e 100X. Fazer um desenho esquemático. Para usar a objetiva de 100X deve-se utilizar óleo de imersão para que os raios luminosos não se dispersem ao atravessarem o conjunto lâmina-óleo.

Método de coloração de Gram (DSM, 1991)

1. Fazer um esfregão com uma gota de amostra a ser analisada.
2. Deixar secar.
3. Cobrir a lâmina com metanol e deixar evaporar a temperatura ambiente.
4. Cobrir a amostra, por 1 minuto, com a solução de violeta cristal.
5. Lavar por 5 segundos a lâmina em água corrente.
6. Lavar o excesso da água com a solução de iodo.
7. Cobrir a amostra, por 1 minuto, com a solução de iodo recente.
8. Lavar por 5 segundos a lâmina em água corrente.
9. Descolorir a lâmina úmida com a aplicação por 1 minuto, de *n*-propanol.
10. Lavar por 5 segundos a lâmina em água corrente.
11. Lavar o excesso de água com a solução de safranina.
12. Mergulhar por 1 minuto a lâmina em solução de safranina recente.
13. Lavar por 5 segundos em água corrente.
14. Secar a lâmina ao ar.
15. Observar a lâmina ao microscópio óptico de luz comum com objetiva de 100X (usar óleo de imersão).

Observações

Fixação por Calor

Fixar as bactérias pelo calor significa, aqui, torná-las aderidas à lâmina. As bactérias são muito pequenas e possuem uma espessa parede celular de peptidoglicano. Ao aquecer a lâmina, a parede de peptidoglicano ficará firmemente aderida ao vidro. O mesmo procedimento não poderia ser aplicado as células da bochecha, uma vez que estas possuem como revestimento apenas uma fina membrana lipoprotéica. Se aquecermos as células da bochecha elas iriam estourar.

Fixação em Álcool 70%

Fixar as células em álcool 70% tem um significado diferente, não é exatamente aderir as células à lâmina. Em citologia, denomina-se fixação ao procedimento que visa manter de modo definitivo as estruturas citológicas e histológicas dos vários tecidos. Em outras palavras essa fixação tem por objetivo evitar a deterioração dos tecidos durante o processo de preparação da lâmina.

Azul de Metileno

É um corante acidófilo, com forte interação com os ácidos nucleicos (DNA e RNA) presentes em grande quantidade no núcleo. Por isso, esse corante marca de modo notável o núcleo. O azul de metileno também irá corar o peptidoglicano da parede das bactérias, por sua natureza ácida.

Diferenças observáveis entre as células das bactérias e da bochecha

As células da bochecha, como toda célula eucariótica, possui núcleo facilmente observável, o que não existe na célula bacteriana. Mas o que mais chama atenção é sem dúvida a grande diferença de tamanho. Em geral, as bactérias são bem menores em relação as células eucarióticas, e isso fica muito evidente quando são colocadas lado a lado.

Diferenças Internas que não podem ser observadas em Microscópio Óptico

As células eucarióticas possuem o citoplasma todo compartimentalizado por um sistema de endomembranas, formando várias organelas com funções específicas, como o retículo endoplasmático, complexo de Golgi, núcleo, lisossomo, mitocôndrias. Esse sistema de endomembranas está ausente nos procariontes. A segunda diferença importante é a ausência de uma rede de proteínas envolvidas em dar motilidade à célula eucariótica. Essa rede de proteínas, chamada citoesqueleto, está ausente na célula procariótica.

Bibliografia

DSM - Scientific Services of Culture Collections. Curso Ministrado na Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia "André Tosello", Campinas, 1991.

Élgion L S Loreto e Lenira M N Sepel – Cadernos de Biologia Molecular e Celular – Atividades Experimentais e Didáticas de Biologia Molecular e Celular – Segunda Edição, 2003, 82p.

Anotações da aula prática 1

Aula Prática 2: Visualização Microscópica de Organismos: Fitoplâncton, Zooplâncton e Protozoários

Introdução

Em todos os corpos d'água células fotossintetizantes e animais microscópicos ocorrem como plâncton. As algas planctônicas e cianobactérias juntas constituem o fitoplâncton, e são o início da cadeia alimentar para os organismos heterotróficos de vida aquática. O plâncton heterotrófico ou zooplâncton consiste principalmente de micro-crustáceos, larvas de animais, protistas e bactérias.

Algas

As algas são organismos unicelulares microscópicos, entretanto algumas das espécies marinhas são organismos grandes. Ao contrário das bactérias, as algas têm núcleo celular definido e numerosas estruturas intracelulares envolvidas por membrana. A maioria delas contém clorofila e são capazes de realizar fotossíntese, sendo dessa maneira uma importante fonte de alimentos para outros organismos. Os taxonomistas discordam sobre a classificação destes microrganismos. As algas eucariotas não devem ser confundidas com as algas verde-azuladas (cianobactérias), que são seres procariontes. Podem ser encontradas em diversos ambientes, crescendo em água doce, salobras ou salgadas. Desenvolvem-se em locais úmidos e bem iluminados. Apresentam grandes variedades de forma e dimensão. Muitas espécies ocorrem como células simples que podem ser esféricas, em bastonete, em forma de clava ou fusiformes. Outras formam colônias multicelulares que podem ser membranosas, filamentos isolados ou agrupados, cadeias individuais que podem ser ramificadas ou não. Algumas colônias são simples agregados de células idênticas, que se mantêm unidas após a divisão, outras são formadas de diferentes células especializadas em funções particulares. As algas apresentam órgãos reprodutores simples e podem reproduzir-se por via sexuada ou assexuada. Podem estabelecer associações simbióticas com fungos, para formar os líquens e com animais (protozoários). As algas endófitas vivem no interior de outras algas ou mesmo plantas vasculares.

- **Importância:**
 - Ecológica: As algas têm função no ciclo da vida em ambientes de água doce e marinho. Em todos esses ambientes se destacam pela produção de oxigênio. Além disso, fazem parte do primeiro nível da cadeia alimentar, sendo chamados de organismos produtores, pois produzem tecidos vivos a partir da fotossíntese;
 - Sanitária: As principais ocorrências de importância sanitária relacionam-se com o fato das algas conferirem sabor e odor a água; obstruir de filtros de areia; serem indicadoras de poluição e de águas limpas (bioindicadores). Em alguns casos, como os de eutrofização, as algas cobrem a superfície de lagoas e reservatórios dificultando a

penetração da luz, causando déficit de oxigênio no corpo d'água. Quando entram em decomposição, as algas que se fixam às paredes dos reservatórios causam prejuízos econômicos e de saúde pública devido à formação de lodo, produção de cor na água, corrosão de estruturas de ferro e concreto, produção e liberação de substâncias tóxicas no corpo d'água;

- Industrial: Extratos de determinadas espécies de algas têm usos comerciais importantes tais como espessantes e emulsificantes de alimentos, como sorvete; como drogas antiinflamatórias para o tratamento de úlceras e como fonte de ágar, o qual é utilizado para solidificar soluções nutritivas sobre as quais os microrganismos crescem.

- Grupos de algas

As algas pertencem ao Reino Protista, que compreende 12 filos. Nove destes filos agrupam as algas, sejam elas vermelhas (Filo Rhodophyta) verdes (Filo Chlorophyta), pardas (Filo Phaeophyta), diatomáceas (Filo Bacillariophyta), etc.

Algas verdes ou clorófitas: unicelulares ou multicelulares, com clorofila a e b e carotenóides. Acumulam amido como reserva glicídica no interior de plastídeos. Crescem principalmente em ambientes de água doce e em sua maioria são microscópicas. Aproximadamente 10% das algas verdes são encontradas em águas salgadas, como por exemplo, a conhecida alface-do-mar;

Algas douradas ou crisófitas: possuem clorofila a e c, carotenóides e ficobilinas –ficocianina ou ficoeritrina.;

Algas pardas ou feófitas: são algas marinhas, multicelulares, embora não apresentem diferenciação em raízes, folhas e caules, possuem clorofila a e c e fucoxantina. Vivem nas costas rochosas e regiões frias.

Algas vermelhas ou rodófitas: possuem clorofila a e ficobilinas. Costumam existir em regiões tropicais. Sua parede celular é composta de celulose e pectina e carbonato de cálcio. Vivem em grandes profundidades associando-se aos pólipos para formar os recifes de coral. Não apresentam células móveis em qualquer estágio do ciclo de vida.

Cianobactérias

Os organismos desse grupo foram, durante muito tempo, classificados como algas verde-azuladas ou cianófitas, embora o termo cianobactérias seja mais adequado. Sabe-se que estes organismos não têm relação filogenética com qualquer grupo de algas, a não ser como prováveis antepassados dos cloroplastos, e encontram-se classificados como um filo (ou divisão, para os botânicos) no domínio Bacteria.

São organismos fotossintéticos unicelulares ou coloniais. As colônias podem ter forma laminar, filamentosa ou até mesmo de esferas ocas, sendo algumas vezes, envolvidas por envoltório mucilaginoso.

Apresentam distribuição cosmopolita. Seus habitats vão desde fontes termais a 85°C (*Synechococcus p. ex.*) a lagos antárticos. Algumas formas são terrestres, vivendo sobre rochas ou solo úmido. Outras vivem em associações com fungos, como nos líquens *Cora* e *Leptogium*, entre outros. Ainda existem algumas que se associam a vegetais (*Anthoceros*, briófitas; *Azolla*, pteridófitas; *Cycas*, gimnospermas) ou a protozoários. Em ambientes anaeróbios frequentemente servem como fonte de alimentos para espécies heterotróficas.

Sendo autotróficas, as cianobactérias não invadem outros organismos, e então não representam problemas para a saúde dos seres humanos, exceto em relação à liberação de toxinas nas águas de abastecimento. No que diz respeito aos pigmentos fotossintéticos, pode-se distinguir dois padrões nas cianobactérias: (1) a maioria das espécies possui clorofila a juntamente com as ficobilinas; (2) alguns gêneros, entretanto não possuem ficobilinas e têm clorofila b, o que lhes confere uma coloração verde brilhante. As cianobactérias são capazes de realizar fotossíntese em ambientes pouco adequados às células eucarióticas, característica que as distingue das algas e lhes confere maior vantagem adaptativa para explorar outros nichos.

Algumas delas podem fixar o nitrogênio, convertendo-o em compostos nitrogenados, que podem ser utilizados por elas mesmas. A fixação deste elemento ocorre em células diferenciadas, denominadas heterocistos, nas quais a enzima nitrogenase realiza a catálise da reação de fixação. Os heterocistos são células com parede mais espessa, do que as outras células, característica que possibilita manter o ambiente intracelular livre de oxigênio, que é um inibidor da enzima que realiza o processo de fixação do nitrogênio. As cianobactérias são os únicos organismos capazes de fixar nitrogênio em ambientes aeróbios e essa característica lhes confere importância ecológica notável.

Esporos resistentes, denominados acinetos, é outro tipo de especialização celular. São células de resistência, com paredes grossas, que acumulam reservas protéicas (grânulos de cianoficina). Os acinetos são resistentes à dessecação e permanecem nos sedimentos por muitos anos, garantindo a sobrevivência dessas espécies em períodos desfavoráveis.

As cianobactérias têm a estrutura padrão de uma bactéria. Exibem parede celular desprovida de celulose, membrana plasmática, cápsula ou bainha mucilaginosa, nucleóide, ribossomos, inclusões de fosfato, proteínas e lipídeos, citoplasma e lamelas fotossintéticas (membranas tilacóides), nas quais estão presos os pigmentos fotossintetizantes.

A parede celular das cianobactérias cora-se como as de bactérias Gram-negativas, entretanto as cianobactérias não possuem organelas celulares, como complexo de Golgi, retículo endoplasmático, mitocôndrias e vacúolos, características essas comuns às bactérias. Também não possuem flagelos, entretanto algumas podem mover-se com a ajuda de fibras espiraladas na parede celular.

Reproduzem-se de maneira assexuada. Como nas demais bactérias, a divisão celular ocorre por crescimento e invaginação da parede celular. A reprodução acontece por processos denominados fissão binária, quando uma célula dá origem a duas células-filhas, ou fissão múltipla, quando uma célula-mãe divide-se em mais de duas células-filhas. Os conteúdos celulares e o nucleóide também são multiplicados, não se dividindo por mitose, a exemplo de protistas e outros organismos eucariontes. Brotamento e fragmentação também são formas de reprodução encontradas em cianobactérias. Em espécies filamentosas, quando a bainha espessa se fragmenta, há formação de hormogônios, conjunto de 3-5 células que crescem e dão origem a novas colônias filamentosas.

- Importância

- Ecológica:

As cianobactérias são consideradas fonte rica de metabólitos secundários biologicamente ativos, muitos dos quais com possível potencial farmacológico. Em corpos d'água, alguns desses compostos (cianotoxinas) têm papel importante na dinâmica ecológica de toda a comunidade. Ainda, essas toxinas podem constituir sério problema de saúde pública e suas concentrações são preocupação constante em estações de tratamento de água (ETA).

Outro caso de importância ecológica das cianobactérias é a fixação de nitrogênio que ocorre em plantações de arroz, as quais podem ser cultivadas no mesmo solo continuamente sem adição de fertilizantes devido à presença de *Anabaena azollae*, que se desenvolve nos tecidos de *Azolla* (que cresce conjuntamente ao arroz), fixando nitrogênio, contribuindo na produtividade primária dos lagos, sendo responsável por cerca de aproximadamente 50% do nitrogênio total fixado.

- Eutrofização de corpos d'água:

O aporte excessivo de nutrientes geralmente desencadeia crescimento intenso de cianobactérias e microalgas em corpos d'água, o que traduz-se em alterações drásticas nas relações ecológicas, com conseqüente deterioração da qualidade da água.

É comum em caso de crescimento excessivo de cianobactérias a produção de cianotoxinas. Em alguns casos o crescimento é tão elevado que podem formar-se massas visíveis flutuantes na linha d'água, as florações. Essas florações podem impedir a passagem de luz solar às camadas mais profundas, impedindo o desenvolvimento e sobrevivência de outras espécies dependentes da luz. O Mar Vermelho aparentemente recebeu este nome graças às florações de *Trichodesmium*.

- Toxicidade:

O estudo de casos de intoxicação por substâncias produzidas por cianobactérias é recente. Ganhou as manchetes dos jornais em fevereiro de 1996, quando cerca de 50 pessoas morreram vítimas da intoxicação, numa Clínica de Hemodiálise em Caruaru. Os

sintomas apresentados pelos pacientes da clínica foram relacionados aos sintomas ocasionados pela microcistina em estudos experimentais com camundongos. A partir daí, as análises comprovaram a intoxicação dos pacientes pela microcistina. Em dezembro de 2000, uma nova portaria foi aprovada, exigindo o controle da microcistina, a toxina mais conhecida produzida por cianobactérias, cujo valor máximo permitido na água foi fixado em 1 g/L. Portanto, não será mais permitindo o uso de algicidas, produto que mata as algas e cianobactérias, liberando as toxinas que se dissolvem na água. As algas e cianobactérias deverão ser retiradas vivas, através do processo de floculação, que as aglomera em pequenos flocos.

As toxinas produzidas pelas cianobactérias podem ser classificadas em dois grupos. As hepatoxinas, com sintomas como diarreia e fígado aumentado por hemorragia e as neurotoxinas, que se manifestam na forma de tontura, perda da coordenação motora, podendo ocasionar até a paralisação dos músculos da respiração. As mais comuns são as hepatoxinas, toxinas que atacam o fígado, entre elas a microcistina. A intoxicação por hepatoxina apresenta sintomas iniciais semelhantes a uma gastroenterite, inflamação do estômago e intestinos dificultando sua identificação. Todavia, para essas causa existe tratamento.

Zooplâncton

Os organismos zooplânctônicos constituem importante grupo na cadeia alimentar dos ecossistemas aquáticos. Representam o elo entre os produtores (fitoplâncton) e os consumidores maiores da cadeia alimentar. Nos ecossistemas aquáticos continentais, o zooplâncton está representado principalmente pelos protozoários, rotíferos, e crustáceos (principalmente cladóceros e copépodos) com papel decisivo na dinâmica destes ambientes, especialmente na ciclagem de nutrientes e fluxo de energia.

- Grupos de zooplâncton:

Protozoa: são seres unicelulares, na maioria heterótrofos, mas com formas autotróficas e com mobilidade especializada. A maioria deles é muito pequena, medindo de 0,01 a 0,05 mm, mas há exceções (0,5 mm). São encontrados em mares, rios, lagos e ambientes terrestres, com hábitos de vida livre ou parasita, saprófitos, e em simbiose com animais vertebrados ou invertebrados. Sua forma de nutrição é muito diferenciada, pois podem ser predadores ou filtradores, herbívoros ou carnívoros, parasitas ou mutualistas. A digestão é intracelular, por meio de vacúolos digestivos, sendo que o alimento é ingerido ou entra na célula por meio de uma "boca", o citóstoma. A célula é muito especializada, e cada organela tem uma função vital. Há um sistema hidrostático, constituído de vacúolos pulsáteis que eliminam o excesso de água que entra na célula por osmose nos protozoários dulcícolas, para estabelecer o equilíbrio osmótico. Alimentam-se de bactérias e, por isso, ambientes com grande quantidade de matéria orgânica e oxigênio livre, são locais preferenciais para eles. Podem ser divididos em quatro grupos distintos: flagelados, amebóides, formadores de esporos e ciliados. A forma de locomoção é a principal característica taxonômica para diferenciar espécies.

São muito usados como indicadores de qualidade do ambiente, sendo que águas poluídas normalmente têm protozoários característicos em abundância.

Os protozoários reproduzem-se por processos sexuado (conjugação), assexuado (fissão binária) ou por ambos. Podem se apresentar na forma ativa, como trofozoítos ou forma encistada, como cistos, em condições ambientais desfavoráveis resistindo a dessecação e baixas temperaturas.

Rotífera: são encontrados em poças de água de chuva até lagos de água fresca e poucos em água salgada. A maioria das espécies é planctônica. Apresentam comprimento entre 0,1 e 1 mm, embora algumas espécies possam alcançar até 3 mm. Têm o corpo segmentado em três partes: cabeça, tronco e pé. A extremidade anterior ou “cabeça” possui um órgão ciliado chamado coroa, que pode estar modificado na forma de cerdas ou cirros. As funções da coroa são locomoção e obtenção de alimento. Possuem glândulas podais que secretam uma substância adesiva, que serve para fixação temporária com o substrato. O corpo pode ser dotado de espinhos, cerdas e esporões que servem para proteção contra predadores. Outra estrutura característica do grupo é o mástax, que constitui a faringe muscular e é composto por sete peças duras, as quais são modificadas conforme o tipo de nutrição do animal. A função do mástax é a de triturar os alimentos para posterior digestão. Os rotíferos são em sua maioria dióicos, reproduzem-se tanto sexualmente quanto assexualmente (por partenogênese). São uma fonte altamente rica em energia na cadeia alimentar, pois mesmo sendo pequenos, sua carga calórica é alta, e por apresentarem taxa reprodutiva muito rápida, disponibilizam permanentemente grande quantidade de alimento para os consumidores. Além disso, a função detritívora de muitas de suas espécies tem papel depurador fundamental em ambientes submetidos à poluição orgânica. Seus principais alimentos são bactérias, ciliados e algas, também existem espécies parasitas e comensais. Sua principal função na cadeia alimentar de lagos é a de ser alimento de larvas de peixes, pois é o grupo dominante da população zooplanctônica. Outro importante campo de pesquisa que envolve o grupo é o da ecotoxicologia, pois estes organismos demonstram a possibilidade de serem utilizados como bioindicadores.

Cladocera: constituem grupo essencialmente de água doce, com grande representatividade nos corpos de água lênticos. Nadam por meio de antenas e seu movimento é predominantemente vertical. A maioria das espécies mede entre 0,5 e 3 mm. A maioria dos cladóceros apresenta hábito rastejador ou bentônico, movendo-se entre os detritos, mas há famílias de hábito predominantemente planctônico. Com relação aos hábitos alimentares, a maioria das espécies bentônicas alimenta-se raspando matéria orgânica da superfície de plantas, sedimentos ou outros materiais, enquanto as espécies planctônicas são filtradoras e alimentam-se de algas, bactérias e outras partículas em suspensão.

O ciclo de vida dos cladóceros abrange tanto reprodução assexuada por partenogênese quanto sexuada. Muitos sofrem mudanças sazonais na morfologia do corpo através de sucessivas gerações produzidas partenogeneticamente, fenômeno este

denominado ciclomorfose, e que é comum entre algumas espécies do gênero *Daphnia*. Os indivíduos gradualmente mudam a forma da cabeça de uma geração para outra, de arredondada para um capacete pontudo. Os fatores associados a esta variação morfológica são vários, principalmente por efeitos da temperatura e da predação.

Copepoda: é um grupo de crustáceos importante na composição da fauna de invertebrados aquáticos. Esses microcrustáceos habitam os diversos ambientes aquáticos, marinhos e de água-doce, incluindo terras úmidas. Existem espécies planctônicas, epibentônicas e outras parasitárias. Os copépodos podem alimentar-se de partículas suspensas, enquanto outros são filtradores e ainda existem os predadores. A maioria deles possui de 1 a 5 mm de comprimento. Seu corpo é composto de cabeça, tórax e abdômen. A cabeça está fundida com o primeiro e às vezes o segundo segmento torácico. O tórax possui seis segmentos. O primeiro par de apêndices é modificado formando maxilípedes para alimentação. Os outros cinco pares de apêndices são semelhantes, entretanto, em algumas espécies os apêndices do último par, conhecido como P5, podem vir modificados para a cópula. O abdômen possui cinco segmentos que são mais estreitos que o do tórax e não possui apêndices.

Material necessário

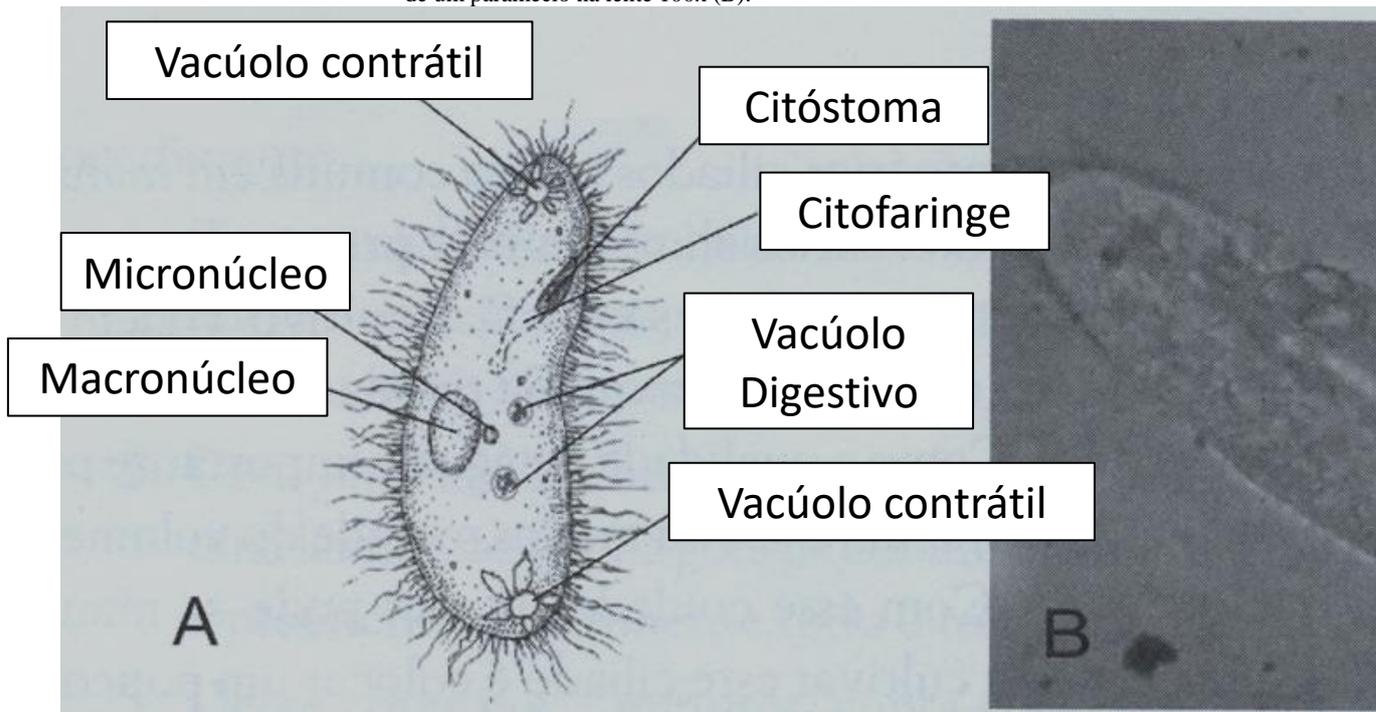
- Cultura de paramécios;
- Lâminas e lamínulas;
- Levedura (fermento biológico de pão);
- Corante Vermelho Congo;
- Microscópio.

Procedimento

Observando os cílios e vacúolos em Paramecium sp.

1. Colocar uma gota da cultura sobre uma lâmina;
2. Observar ao microscópio o batimento dos cílios, e a movimentação dos vacúolos digestivos e contráteis.

Figura 1: Desenho esquemático de um paramecio em que são mostradas as suas principais estruturas (A). Fotografia de um paramecio na lente 100x (B).



Observando a Digestão Intracelular

1. Faça uma suspensão de leveduras coradas, adicionando 0,3 g de fermento de pão e 10 mg do corante Vermelho Congo em 30 ml de água destilada. Misture bem e deixe em banho-maria (em fervura) de 5 a 10 min.
2. Na lâmina, coloque uma gota da cultura e uma gota da suspensão de levedura. Cobrir com lamínula. Observar em microscópio de luz comum.
3. O corante Vermelho Congo, além de tornar os vacúolos digestivos facilmente identificáveis, é um indicador de pH. Assim, pode-se observar a modificação na coloração dos vacúolos na medida em que o processo ocorre. No início da digestão os vacúolos terão a coloração vermelha (pH 7), que passará a ser púrpura (pH 5) e posteriormente azul (pH 3).

Bibliografia

BARNES, R.D; RUPPERT, E.E. (1996). Zoologia dos Invertebrados. 6a ed. Editora Roca. São Paulo.

BLACK, J.G. Microbiologia: fundamentos e perspectivas. 4ª ed., Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 829p. 2002.

BICUDO, C.E.M.; BICUDO, R.M.T. (1970). Algas de Águas Continentais Brasileiras: Chave ilustrada para identificação de gêneros. São Paulo.

BRANCO, S.M. (1986). Hidrobiologia Aplicada à Engenharia Sanitária. 3a ed. São Paulo.

CALIJURI, M.C., ADRIANI, A.M.S., DOS SANTOS, A.C.A. (2006) Cianobactérias e Cianotoxinas em Águas Continentais. Editora Rima. São Carlos.

CARMICHAEL, W.W. (1992) Cyanobacteria secondary metabolites – The cyanotoxins. J. Appl. Bact., v. 72. p. 445-459.

DI BERNARDO, L. (1995). Algas e suas Influências na Qualidade das Águas e nas Tecnologias de Tratamento. Associação Brasileira de Engenharia Sanitária (ABES). Rio de Janeiro.

MENDONÇA, S.R. (2000). Sistemas de Lagunas de Estabilización. Mc Graw Hill. Colômbia.

MORETTO, E.M. (2001). Diversidade Zooplancônica e Variáveis Limnológicas das Regiões Limnéticas e Litorânea de Cinco Lagoas do Vale do Rio Doce – MG e suas Relações com o Entorno. Dissertação de Mestrado. Centro de Recursos Hídricos e Engenharia Ambiental (CRHEA-USP).

PALMER, M. (1958). Algae in Water Supplies – A manual for water works operators and others concerned with algae in relation to water quality department of health, education and welfare. Robert A. Taft Sanitary Engineering Center, Cincinnati. EUA.

PELCZAR, M.J. (1997). Microbiologia, Conceitos e Aplicações. 2a ed. v.1. Brasil.

Consulte os sites:

<http://personal.telefonica.terra.es/web/ayma/atlas.html>;

<http://www.biol.lu.se/limnologi/Limnology/GertrudC/GChome.html>;

<http://www.agecom.ufsc.br/index.php?secao=arq&id=1170>.

Anotações da aula prática 2

Aula prática 3: Osmose, ciclose e cloroplastos

Introdução

A célula vegetal possui parede celular mais ou menos rígida e um protoplasto (Tabela 1).

Tabela 1: Componentes da célula vegetal

| | | |
|--------------------|--|--|
| Parede celular | Lamela mediana | |
| | Parede primária | |
| | Parede secundária | |
| Protoplasto | Núcleo | Envoltório nuclear Nucleoplasma Cromatina Nucléolo |
| | | Membrana plasmática (limitando externamente o citoplasma) Citossol |
| | Organelas circundadas por duas membranas: | Plastídios e Mitocôndrias |
| | Organelas circundadas por uma membrana: | Peroxisomos, Vacúolos (circundados pelo tonoplasto) |
| Citoplasma | Sistema de endomembranas: | Retículo endoplasmático Complexo de Golgi Vesículas Citoesqueleto Microtúbulos Filamentos de actina Ribossomos |
| | | Corpos oleaginosos |

O termo “**protoplasto**” é derivado da palavra protoplasma, a qual é usada para definir o conteúdo das células. O protoplasto é a unidade de protoplasma contida pela parede celular e consiste em citoplasma e núcleo. O citoplasma, limitado externamente pela membrana plasmática, contém organelas, sistemas de membranas e estruturas não membranosas, tais como, ribossomos. O restante do citoplasma, chamado “sopa celular” ou matriz citoplasmática, na qual vários corpos e sistemas de membranas estão imersos, é chamado de citossol.

Ao contrário da maioria das células animais, as células vegetais apresentam no citossol uma ou mais cavidades cheias de líquido, chamadas de vacúolos, que são circundados por uma única membrana lipoprotéica chamada tonoplasto.

Na célula vegetal viva, o citoplasma está freqüentemente em movimento. As organelas, bem como as várias substâncias suspensas no citossol, podem ser observadas deslizando de maneira ordenada no movimento em curso. Esse movimento é conhecido como corrente citoplasmática ou ciclose, o qual é contínuo enquanto a célula está viva. A corrente citoplasmática facilita a troca de substâncias dentro da célula e entre a célula e seu ambiente. Entretanto, não é conhecido se esta é a função primária da corrente citoplasmática.

Todas as células eucarióticas possuem citoesqueleto, ou seja, uma rede complexa de filamentos protéicos que percorre todo o citossol. O citoesqueleto está intimamente envolvido em muitos processos; incluindo a divisão celular, crescimento e diferenciação e movimento de organelas de um local para outro dentro da célula. O citoesqueleto das células vegetais apresenta dois principais filamentos protéicos: microtúbulos e filamentos de actina.

Muito da compreensão sobre a corrente citoplasmática deve-se ao trabalho realizado com as células gigantes de algas verdes como Chara e Nitella. Nessas células, que têm de 2 a 5 cm de comprimento, a camada de citoplasma adjacente à parede e contendo os cloroplastos não apresenta movimento. Feixes de filamentos de actina dispostos em espiral se estendem por vários centímetros ao longo das células e formam diferentes “trilhas”, estando firmemente unidos aos cloroplastos imóveis. A camada de citoplasma que se movimenta fica entre os filamentos de actina e o tonoplasto, contendo o núcleo, mitocôndrias e outros componentes citoplasmáticos.

A força geradora necessária para que ocorra o movimento citoplasmático vem de uma interação entre actina e miosina, uma molécula de proteína com uma “cabeça” contendo ATPase que é ativada pela actina. A ATPase é uma enzima que hidrolisa ATP, liberando energia. Aparentemente, as organelas na corrente citoplasmática estão indiretamente unidas aos filamentos de actina por moléculas de miosina, que usam a energia liberada pela hidrólise do ATP para “caminhar” ao longo dos filamentos de actina puxando com elas as organelas. A corrente sempre ocorre das terminações negativas para as terminações positivas dos filamentos de actina, os quais estão todos igualmente orientados dentro de um feixe.

Osmose: caso especial de difusão

Diz-se que uma membrana que permite a passagem de uma substância, ao mesmo tempo em que bloqueia a passagem de outras, é seletivamente permeável. O movimento das moléculas de água através de uma membrana é um caso especial de difusão, conhecido como osmose. A osmose resulta num saldo de água transferida de uma solução que tem alto potencial hídrico (menor concentração de soluto) para uma solução que tem potencial hídrico mais baixo (concentração de soluto mais alto).

A difusão da água não é afetada pelo que está dissolvido na água, apenas por quanto está dissolvido - ou seja, a concentração das partículas de soluto (moléculas ou

íons) na água. Uma partícula de soluto pequena, tal como um íon sódio, influi tanto, quanto, uma partícula de soluto grande, como uma molécula de açúcar.

Diz-se que duas ou mais soluções que tenham iguais números de partículas dissolvidas por unidade de volume – e, portanto o mesmo potencial hídrico – é definido como isotônicas (do grego isos, que quer dizer “igual”, e tonos, “tensão”). Não há um saldo de transferência de água através de uma membrana que separa duas soluções que sejam isotônicas uma em relação à outra, a não ser que, obviamente, exerça-se pressão em um dos lados.

Ao compararem-se soluções com diferentes concentrações, aquela que tiver menos soluto (e, portanto potencial hídrico mais alto) é conhecida como hipotônica, e aquela que tiver mais soluto (um potencial hídrico mais baixo) é conhecida como hipertônica. (Observe que hyper significa “mais” – neste caso, mais partículas de soluto; hypo significa “menos”, neste caso, menos partículas de soluto). Na osmose, as moléculas de água difundem-se de uma solução hipotônica (ou da água pura), através de uma membrana seletivamente permeável, para uma solução hipertônica.

A osmose resulta no desenvolvimento de pressão à medida que as moléculas de água continuam a se difundir através da membrana para uma região de maior concentração. Se a água é separada da solução por uma membrana que permite livremente a passagem de água, mas não do soluto, a água se moveria através da membrana e faria com que a solução se elevasse no tubo até que um equilíbrio fosse alcançado – ou seja, até que os potenciais hídricos se tornassem iguais em ambos os lados da membrana. Se pressão suficiente for aplicada sobre a solução no tubo por um êmbolo, é possível evitar a ascensão da solução dentro do tubo.

A pressão que teria que ser aplicada à solução para interromper a entrada de água é chamada pressão osmótica. A tendência da água de mover-se através da membrana, devido ao efeito dos solutos sobre o potencial hídrico, é chamada potencial osmótico (ou potencial dos solutos, que é negativo).

A Pressão de Turgor Contribui para a Rigidez das Células Vegetais

Se uma célula vegetal for colocada numa solução hipotônica com potencial hídrico relativamente elevado, o protoplasto se expande e a membrana plasmática estira-se e exerce uma pressão contra a parede celular. Contudo, a célula vegetal não se rompe, porque ela é contida pela parede celular relativamente rígida.

As células vegetais tendem a concentrar soluções salinas relativamente fortes dentro de seus vacúolos e podem também acumular açúcares, ácidos orgânicos e aminoácidos. Como resultado, as células vegetais absorvem água por osmose e aumentam a sua pressão hidrostática interna. Essa pressão contra a parede celular mantém a célula túrgida, ou rígida. Conseqüentemente, a pressão hidrostática nas células vegetais é comumente referida como pressão de turgor.

Pressão de turgor é a pressão que se desenvolve numa célula vegetal como resultado da osmose. Igual em intensidade e oposta à pressão de turgor a qualquer momento existe a pressão mecânica da parede celular, dirigida para dentro e chamada pressão de parede.

A maior parte do crescimento das células vegetais é o resultado direto da absorção de água, com a maior parte do aumento no tamanho celular resultando da expansão dos vacúolos. Contudo, antes que a célula possa aumentar em tamanho, deve haver um afrouxamento da estrutura da parede, a fim de reduzir a sua resistência à pressão de turgor.

O turgor é mantido na maioria das células vegetais porque elas geralmente vivem num meio hipotônico. No entanto, se uma amostra de tecido vegetal com células túrgidas for colocada numa solução hipertônica (por exemplo, uma solução de açúcar e sal), a água irá abandonar a célula por osmose. Como resultado, o vacúolo e o restante do protoplasto irão retrair-se, fazendo assim com que a membrana plasmática se afaste da parede celular. Esse fenômeno é conhecido como plasmólise. O processo pode ser revertido se a célula for depois transferida para água pura. Embora a membrana plasmática e o tonoplasto, ou membrana vacuolar, sejam, com poucas exceções, permeáveis apenas à água, as paredes celulares permitem a passagem livre tanto de água quanto de solutos através delas. A perda de turgor pelas células vegetais pode resultar em murcha de caules, folhas ou da salada de seu jantar.

Estudando a Passagem de Solutos e Solventes pela Membrana Plasmática

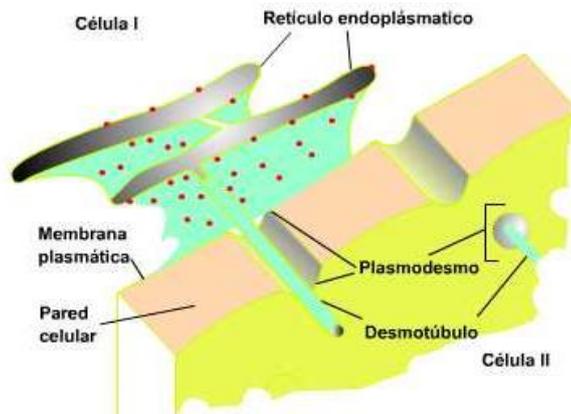
As células de qualquer organismo estão cobertas pela membrana celular. A constituição dessa membrana promove a passagem controlada de substâncias e o consequente equilíbrio dinâmico no interior do organismo. A água e outros íons pequenos podem passar sem gasto de energia (transporte passivo) pelas membranas biológicas. Uma das formas de transporte passivo é a osmose, que vem a ser a passagem do solvente de uma solução menos concentrada para a solução mais concentrada, através de uma membrana semipermeável.

Os protoplastos de células vegetais adjacentes estão unidos entre si pelos plasmodesmos. Os plasmodesmos, estreitos filamentos de citoplasma que interconectam os protoplastos de células vegetais contíguas, são importantes vias de comunicação célula a célula. Essas estruturas fornecem uma via para o transporte de certas substâncias entre as células.

Estes podem ocorrer por toda a parede celular. Sob microscopia eletrônica, os plasmodesmos aparecem como canais estreitos (cerca de 30 a 60 nanômetros), revestidos pela membrana plasmática e atravessados por um túbulo de retículo endoplasmático modificado, que é conhecido como desmotúbulo. Muitos plasmodesmos são formados durante a divisão celular como cordões de RE tubulares que ficaram presos durante a formação da placa celular. Os plasmodesmos são também formados nas paredes de células que não estão se dividindo.

Os plasmodesmos aparentemente fornecem uma via mais eficiente entre células vizinhas do que a rota alternativa menos direta da membrana plasmática e parede celular. As células e tecidos que estão muito mais afastados das fontes diretas de nutrientes podem ser supridos por difusão simples ou pelo fluxo em massa através de plasmodesmos. Além disso, acredita-se que algumas substâncias são transportadas via plasmodesmos para dentro e para fora do xilema e do floema, tecidos esses relacionados com o transporte a longas distâncias no corpo da planta.

Figura 2: Esquema representativo dos plasmodesmos



Material necessário

Ciclose nas células vegetais

- Elodea;
- Lâminas e lamínulas;
- Pinça;
- Conta-gotas;
- Microscópio.

Osmose nas células vegetais

- Lâminas e lamínulas;
- Conta-gotas;
- Lâmina de barbear;
- Solução de azul de metileno 0,5%;
- Cebola;
- Água destilada;
- Solução hipertônica;
- Papel-filtro.

Procedimento

Ciclose nas células vegetais

1. Com o auxílio de uma pinça retire uma folha de Elodea.
2. Coloque sobre a lâmina uma gota de água e uma folha de Elodea.
3. Cubra com lamínula e leve ao microscópio para observação.
4. Observe o tamanho e a forma dos cloroplastos e descreva a ciclose.

Figura 3: Elodea (A). Observação da ciclose em Elodea (B)



Osmose nas células vegetais

1. Retire a epiderme de uma escama de cebola e coloque sobre uma lâmina com uma gota de azul de metileno, cubra com uma lamínula e observe ao microscópio.
2. Desenhe as células de epiderme de cebola, indicando a parede celular, o núcleo e o nucléolo.
3. Coloque em um dos lados da lamínula uma gota de uma solução saturada hipertônica. Com um papel-filtro absorva a solução que está entre a lâmina e a lamínula de forma tal que a solução hipertônica entre em contato com a epiderme da cebola. Algumas vezes é mais eficiente retirar a lamínula, e com o papel-filtro retirar a solução que está em volta da epiderme e substituí-la por solução hipertônica.
4. Descreva e desenhe o que aconteceu.

Bibliografia

Biologia Vegetal. Peter H. Raven, Ray F. Evert & Susan E. Eichhorn. Guanabara Koogan, Sexta Edição.

Anotações da aula prática 3