CCM0221 – Biologia IV
Grupo 3

Regeneração em planarias:

A regeneração inclui todos os processos que permitem ao organismo substituir tecidos ou partes do corpo. A regeneração tem sido observada na maioria dos filos animais e em diferentes níveis biológicos: (a) regeneração de estruturas celulares, como fibras musculares; (b) tecidos, como a pele; (c) órgãos internos, como o fígado; (d) extremidades, como pernas ou caudas em salamandras; e (e) regeneração de corpo completo a partir de um grupo de tecidos e células, como nas planárias (Bely & Nyberg, 2010).

Em cada nível de regeneração diferentes estratégias são usadas para repor as partes danificadas. A primeira estratégia da regeneração se origina a partir da reorganização de células pré-existentes. A segunda estratégia envolve a aparição de novas células, que podem implicar processos de-diferenciação ou trans-diferenciação a partir de células diferenciadas, ou processos de proliferação a partir de células tronco preexistentes. Em alguns casos, as novas células geram uma estrutura especializada conhecida como o blastema que aparece após o fechamento da lesão. O blastema está composto por um epitélio externo e uma matriz extracelular com células de origem mesenquimal. As células mesenquimais proliferam e dirigem a regeneração (Alvarado, 2000).

As planarias de água doce têm sido estudadas pela capacidade de regeneração do corpo completo. Elas podem regenerar um indivíduo com todos os órgãos e estruturas a partir de um único pequeno pedaço do corpo. Por meio de células pluripotentes no blastema, também conhecidas como neoblastos, os pedaços regeneram o corpo completo. Os neoblastos são células indiferenciadas que proliferam ao longo do corpo da planária que migram e proliferam no blastema, e se diferenciam durante a regeneração (Rink, 2013).

Nesta prática vamos estudar os processo da regeneração em planarias por meio de um ensaios de recuperação comportamental: a recuperação da fototaxia negativa.

Bibliografia

- Alexandra E. Bely, Kevin G. Nyberg, Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field, Trends in Ecology & Evolution, Volume 25, Issue 3, March 2010, Pages 161-170, ISSN 0169-5347, http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.08.005.
- Alvarado, A. S. (2000). Regeneration in the metazoans: why does it happen? Bioessays 22 (6):578-590.
- Bely, A.B and Nyberg, K.G. (2009). Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field, Trends in Ecology & Evolution, Volume 25, Issue 3, March 2010, Pages 161-170, ISSN 0169-5347, http://dx.doi.org/10.1016/j.tree.2009.08.005.
- Rink, J. C. (2013). Stem cell systems and regeneration in planaria.*Development Genes and Evolution*, *223*(1-2), 67–84. http://doi.org/10.1007/s00427-012-0426-4

Instruções iniciais:

1. O grupo deve receber 3 planárias controle e 9 planárias já cortadas (3 réplicas para cada dia/tempo após corte), seguindo o esquema da tabela abaixo:

Data do corte	16/06/22	19/06/22	21/06/22
Nº Planárias cortadas	3	3	3
Nº Planárias controle	3		
Dia/Tempo do Experimento	7 (t3)	4 (t2)	2 (t1)

OBS: Os grupos só receberão a parte posterior (as caudas) das planárias cortadas.

2. Mantenha todas as placas de petri cobertas para evitar o contato das planárias com a luz.
3. Os 3 controles serão os mesmos para todos os experimentos.
4. Você realizará 12 medições no total (3 medições com planárias controle e 9 com planárias cortadas em distintos tempos). A quarta planária “corte” e “controle” são apenas uma garantia, caso alguma morra, ou precise realizar uma medição adicional com outro individuo.

Materiais

- Planárias
- Placa de Petri com planárias
- Placa de Petri
- Placa de Petri com areia
- Papel milimetrado
- Água destilada
- Estereoscópio
- Cronômetros
- Pincel
- Papel toalha
- Pipetas de plástico
- Luminária
- Canetas retroprojetor
- Álcool para apagar caneta permanente

Experimento 1 - Recuperação da fototaxia durante a regeneração:

Metodologia

1. Pegue uma planária e coloque-a no centro de uma placa de Petri com água destilada e que esteja sob a luminária ligada.
2. Imediatamente fechar a placa e desenhar o percurso da planária com a caneta retroprojetora sobre a tampa da placa de Petri por 2 minuto (120 seg.). Por conta da fototaxia negativa, o verme fugirá da luz até chegar à parede da placa de Petri. Anote o tempo em segundos que o verme levou para chegar até a parede da placa.
3. Desenhe o percurso da planária no papel milimetrado e faça o cálculo da distância percorrida, contando o número de quadrados obtidos no papel milimetrado seguindo-se o percurso que você desenhou no papel. Calcule a velocidade da planária.
4. Apague o percurso da tampa da placa de Petri com álcool, e repita o procedimento mais 2 vezes com as outras planárias.
5. Repita os passos 1-4 nas planárias cortadas (n=12) durante três tempos de regeneração (t0 = após o corte que realizará no mesmo dia; t1=2 dias; t2=4 dias; t3=7 dias), assim como com as planárias controle (sem corte, n=3).
6. Complete a tabela:

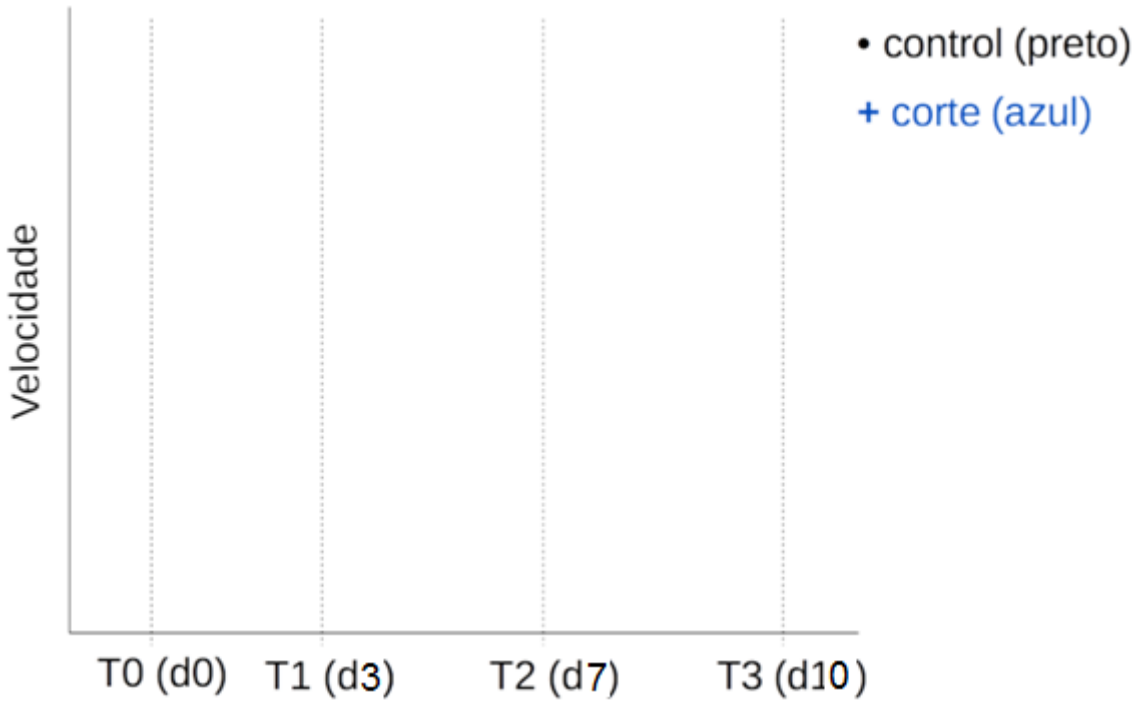
Tratamento: FOTOTAXIA	Vel* Verme 1	Vel* Verme 2	Vel* Verme 3	Vel* Média
Controle (sem corte)				
Tempo 0 (0 dias, após o corte) = 23/06				
Vermes cortados (caudas apenas): - Presença olhos (sim/não/em formação) - Outras observações morfológicas				
Tempo 1 (2 dias, após o corte) = 21/06				
Vermes cortados (caudas apenas): - Presença olhos (sim/não/em formação) - Outras observações morfológicas				
Tempo 2 (4 dias, após o corte) = 19/06				
Vermes cortados (caudas apenas): - Presença olhos (sim/não/em formação)				

- Outras observações morfológicas				
Tempo 3 (7 dias, após o corte) = 16/06				
Vermes cortados (caudas apenas): - Presença olhos (sim/não/em formação) - Outras observações morfológicas				
Control (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas): - Presença olhos (sim/não/em formação) - Outras observações morfológicas				

*Vel = velocidade

OBS: os dados de "presença de olhos" e "outras observações morfológicas" devem ser colocadas na tabela abaixo do dado da velocidade.

7. Complete a figura:



8. Usando a Figura a continuação com a anatomia do sistema nervoso de uma planaria, analise as linhas dos percursos das planárias no papel milimetrado e discuta-os com os resultados das velocidades médias dos tratamentos. Quais são as conclusões? Quais são as razões para a variabilidade?

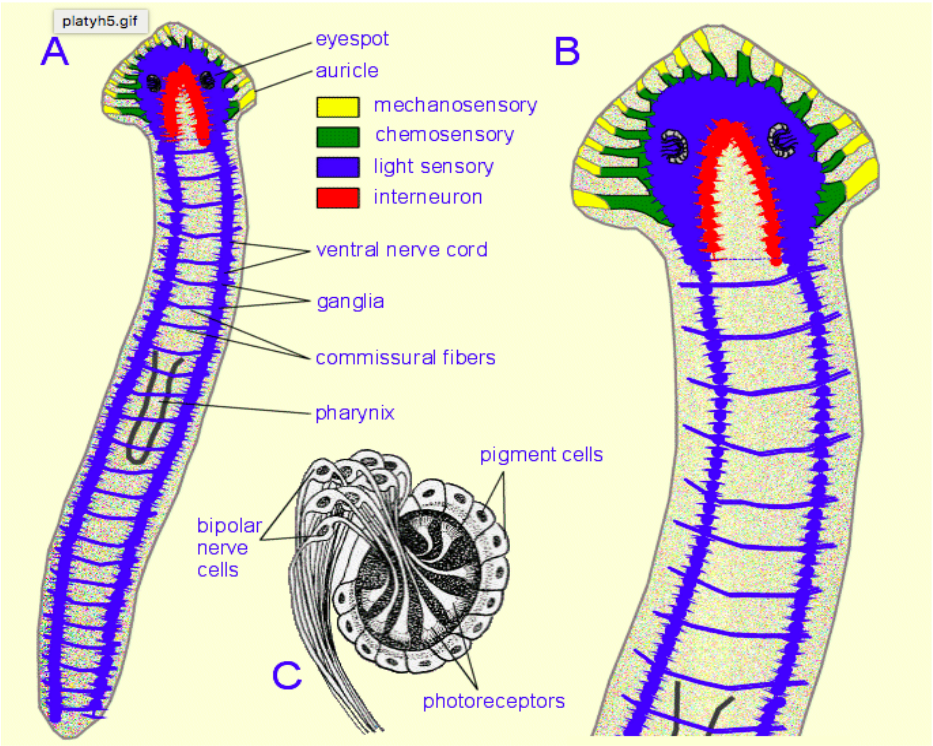


Imagem retirada de: http://sharon-taxonomy2010-p2.wikispaces.com/Platyhelminthes

CONSTRUYA UM MODELO DA REGENERAÇAO DO SISTEMA NERVOSO: desenhe aos animais durante a regeneração (deve incluir a morfologia externa e cenário hipotético da regeneração do sistema nervoso):

Controle: **Corte t1=3 dias**

Corte t2=7 dias **Corte t3=10 dias**

Para terminar em casa: Usando um tema que foi abordado na disciplina de Biologia IV, elabore uma proposta de pesquisa experimental com pergunta, hipótese, metodologia e resultados esperados que use planárias como modelo animal de laboratório (no máximo 1 página em total).