

0410113

DIVERSIDADE BIOLÓGICA E FILOGENIA

Instituto de Biociências
Universidade de São Paulo

AULAS PRÁTICAS

MATERIAL DE LABORATÓRIO

Como requisito indispensável para a participação nas aulas práticas cada aluno deve providenciar:

- Pinça histológica de ponta fina (1).
- Estiletes (ou seringa para insulina, descartáveis) (2).
- Pincel de cerdas finas (1).
- Caixa de lâminas para microscopia (1).
- Caixa de lamínulas 22 x 22 mm (1).
- Lenços de papel absorvente ou papel higiênico macio.
- Lâminas de barbear (giletes novas).

TÉCNICAS DE DOCUMENTAÇÃO E CONFECÇÃO DE CORTES

(Edison José de Paula)

A microscopia óptica só permite a observação de objetos transparentes ou translúcidos. Isto significa que material espesso deve ser cortado em secções finas para permitir a transmissão da luz.

Os cortes podem ser feitos com lâminas de barbear novas. Materiais resistentes podem ser segurados com os dedos polegar e indicador e materiais delicados podem ser presos com a pinça ou em um suporte macio e homogêneo, como isopor, medula de guapuruvú ou embaúba, etc. Em todos os casos, deve-se posicionar a gilete em um ângulo aproximado de 90 graus em relação ao material, fazendo-se movimentos contínuos e suaves com a mesma.

Os cortes selecionados podem ser removidos com um pincel e colocados sobre a lâmina com água ou álcool 70%. Normalmente, para se obter um bom corte é necessário fazer-se vários, selecionando apenas os melhores.

MONTAGEM EM LÂMINAS

O material para exame deve ser montado em lâminas de vidro especiais para microscopia e recoberto com lamínula, também de vidro. A lâmina deve estar limpa, sendo um bom critério para avaliar sua limpeza a colocação de uma gota de água sobre a mesma. Se a gota se espalhar, tendendo a ocupar ampla superfície, a lâmina pode ser considerada limpa, caso contrário deve ser novamente lavada. As lâminas podem ser lavadas com detergente e guardadas em álcool 70%.

A preparação deve ser feita colocando uma gota do meio de montagem sobre a lâmina, com auxílio de um conta-gotas e a seguir, o material a ser examinado, com um estilete, pinça ou pincel. Se necessário, dissocia-se o material com dois estiletes, observando-se à lupa. Cobre-se a preparação com a lamínula, tomando cuidado para evitar bolhas de ar. O excesso de líquido de montagem, que extravasa pelos bordos da lamínula deve ser retirado com papel absorvente, evitando-se que a platina do microscópio se molhe.

A substituição de um líquido de montagem por outro, por exemplo, um corante, pode ser feita sem a remoção da lamínula. Para isso, coloca-se uma gota do novo líquido sobre a

lâmina, junto ao bordo da lamínula. Do outro lado da lamínula encosta-se um pedaço de papel de filtro que por capilaridade promoverá a substituição. Uma preparação em lâmina pode ser mantida, ainda, por curtos períodos em uma câmara úmida feita com placa de Petri.

PREPARAÇÃO DE LÂMINAS

Uma lâmina corretamente preparada deve apresentar as seguintes características para permitir uma boa observação:

- Isenta de bolhas de ar.
- Conter pequena quantidade de material, pois as preparações muito densas impedem a passagem de luz.
- Ter líquido em toda extensão entre lâmina e lamínula.
- A lamínula não deve estar flutuando (o excesso de líquido pode ser retirado com papel absorvente).
- Nunca deve haver líquido sob a lâmina. A platina do microscópio não deve ser molhada.

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA

Selecionar as partes e estruturas para documentar o estudo, iniciando pelo aspecto geral, em observação macroscópica, depois em lupa e finalmente ao microscópio. Neste último, inicia-se com a objetiva de menor aumento, passando-se para aumentos maiores conforme o que se pretende observar.

Em nossas aulas práticas, não será empregada a objetiva de maior aumento (de imersão) porque ela requer o uso de óleo de imersão e oferece uma resolução não muito superior à objetiva de aumento médio.

As legendas nunca devem faltar e devem ser indicadas por meio de traços bem visíveis e cuja extremidade se localize sobre a estrutura correspondente.

No final das aulas, verifique se os aparelhos ópticos e as bancadas estão em ordem e limpos.