



ESALQ

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA "LUIZ DE QUEIROZ"

DEPARTAMENTO DE GENÉTICA



Jennifer Doudna e Emmanuelle Charpentier, ganhadoras do prêmio Nobel de Química em 2020 pelo desenvolvimento d técnica de edição gênica utilizando o sistema CRISPR-Cas9

PUBLICAÇÃO DIDÁTICA

BIOLOGIA CELULAR - AULAS PRÁTICAS

Nome do aluno: _____ Turma: _____
Microscópio Nº _____

PIRACICABA, SP

2023



Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Departamento de Genética
Disciplina de Biologia Celular



CALENDÁRIO DAS AULAS - 2023

1a. semana – 13 a 17 de Março

Semana de recepção dos calouros. Não haverá aulas.

2a. semana - 20 a 24 de Março

Aula Teórica 1: Apresentação da disciplina aos alunos e comentários sobre a sua importância para o Curso. Introdução às células e mecanismos comuns à vida.

Aula Prática 1: Descobrimos as células: introdução aos métodos de estudo das células por meio da microscopia.

3a. semana – 27 a 31 de Março

Aula Teórica 2: Arquitetura celular: organização da célula dos organismos procarióticos e eucarióticos (plantas e animais).

Aula Prática 2: Métodos de estudo da célula e diferenças na arquitetura celular.

4a. semana – 03 a 07 de Abril

Semana Santa. Não haverá aulas.

5a. semana - 10 a 14 de Abril

Aula Teórica 3: Os componentes químicos celulares: carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos.

Aula Prática 3: Apresentação das normas do trabalho prático sobre estruturas celulares.

6a. semana – 17 a 21 de Abril

Feriado Tiradentes. Não haverá aulas.

7a. semana – 24 a 28 de Abril

Aula Teórica 4: Estrutura e função dos ácidos nucleicos: do DNA ao RNA.

Aula Prática 4: Estrutura dos ácidos nucleicos.

8a. semana – 1 a 5 de Maio

Feriado Dia do Trabalho. Não haverá aulas.

9a. semana – 8 a 12 de Maio

Aula Teórica 5: Conservando a informação da vida: a replicação do DNA.

Aula Prática 5: Extração de ácidos nucleicos de plantas.

10a. semana – 15 a 19 de Maio

Aula Teórica 6: O fluxo da informação genética: transcrição e tradução.

Aula Prática 6: Interpretando a informação genética: do DNA às proteínas.

11a. semana – 22 a 26 de Maio

PRIMEIRA PROVA TEÓRICA (no horário da aula teórica).

APRESENTAÇÃO DOS TRABALHOS PRÁTICOS (no horário da aula prática).

12a. semana – 29 de Maio a 2 de Junho

Aula Teórica 7: Sistema de endomembranas. Secreção e tráfego celular.

Aula Prática 7: Membrana plasmática e parede celular.

13a. semana - 05 a 09 de Junho

Feriado Corpus Christis. Não haverá aulas.

14a. semana: 12 a 16 de Junho

Aula Teórica 8: As organelas responsáveis pela geração de energia: cloroplastos e mitocôndrias.

Aula Prática 8: Cloroplastos e Mitocôndrias: estrutura e função.

15a. semana: 19 a 23 de Junho

Aula Teórica 9: Núcleo, organização da cromatina, cromossomos.

Aula Prática 9: Cromossomos de plantas e de animais e análise de cariótipos.

16a. semana: 26 a 30 de Junho

Aula Teórica 10: Ciclo celular. Mitose.

Aula Prática 10: Mitose.

17a. semana: 03 a 07 de Julho

Aula Teórica 11: Meiose e gametogênese

Aula Prática 11: Meiose e gametogênese

18a. semana: 10 a 14 de Julho

SEGUNDA PROVA TEÓRICA (no horário da aula teórica)

PROVA PRÁTICA (no horário da aula prática)

REGIMENTO DA DISCIPLINA BIOLOGIA CELULAR

- 1- A disciplina Biologia Celular (LGN0114/115/117) é dividida em aulas teóricas e práticas. A LGN-114 atende aos cursos de Engenharia Agrônômica e Eng. Florestal, sendo ministradas 2 horas de aula teórica e 2 horas de aula prática por semana, a LGN0115 é oferecida ao curso noturno de Ciências dos Alimentos (CA) sendo ministradas 2 horas de aula teórica e 2 horas de aula prática por semana, LGN0117 é oferecida ao curso noturno de Ciências Biológicas (CB) sendo ministradas 2 horas de aula teórico/prática por semana
- 2- O uso de jaleco nas aulas práticas é obrigatório.**
- 3- A frequência dos alunos será controlada pelas assinaturas em listas de presença ou por chamada oral, a critério de cada professor. **Não é permitida a mudança de turma.**
- 4- As aulas práticas são baseadas na Apostila "Biologia Celular – Aulas Práticas", uma publicação didática do Departamento de Genética, ESALQ/USP, **que você deve adquirir.**
- 5- A avaliação será feita em duas provas escritas (conteúdo teórico); uma prova prática e apresentação do trabalho sobre estrutura celular (conteúdo prático). A média final será obtida pela média aritmética das duas provas teóricas e a prática (prova prática x 0,6 + trabalho prático x 0,4). **Não haverá prova substitutiva ou repositiva.** É aprovado (a) aluno(a) que obtiver média igual ou superior a 5,0 e frequência superior a 70% nas aulas teóricas e práticas.
- 6- Dúvidas sobre a disciplina, seu regimento, favor consultar o professor das aulas teóricas ou a coordenadora geral da disciplina Biologia Celular (*Dra. Maria Carolina Quecine – mquecine@usp.br*).

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

1. Alberts, B.; Bray, D.; Hopkin, K.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. 2011. **Fundamentos da Biologia Celular.** 3ª Edição brasileira. Artmed, Porto Alegre.
2. De Robertis, E.M.F.; Hib, J. 2014. **Biologia Celular e Molecular.** 16ª Edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
3. Lodish, H.; Berk, A.; Matsudaira, P.; Kaiser, C.A.; Krieger, M.; Bretscher, A.; Ploegh, H. Amon, A.; Scott, M.P. (2012). **Biologia Celular e Molecular.** 7ª Edição. Artmed, Porto Alegre.
4. Texto complementares serão indicados ao longo do curso.
5. Os alunos poderão acessar e-disciplinas (<https://edisciplinas.usp.br/acessar/>) para encontrar todo e qualquer material didático da disciplina.

APRESENTAÇÃO

A disciplina de BIOLOGIA CELULAR é um dos cursos de formação básica da ESALQ. Atende aos estudantes de **Engenharia Agrônômica** e **Engenheiro Florestal**, e àqueles matriculados nos cursos noturnos, **Ciências Biológicas** e **Ciências dos Alimentos**. Sem desconsiderar a particularidade de cada curso de graduação, conceitos gerais e vários procedimentos experimentais são abordados em todos os cursos. Assim, são apresentadas as principais funções realizadas pela célula, processos que ocorrem no seu interior e aspectos da estrutura celular que estão diretamente relacionados à sua função. A disciplina de Biologia Celular é fundamental para que o aluno possa ter boa compreensão das outras disciplinas ministradas pelo Departamento de Genética e também em outros Departamentos da ESALQ.

A disciplina representa uma oportunidade para o aluno aprender o que é pesquisa científica, ou seja, a procura de explicações para os fenômenos que são observados na natureza. Toda tecnologia tem suas origens na ciência básica. A Biologia Celular é uma ciência que progrediu através da observação da estrutura e funcionamento da célula, através de métodos de microscopia, de bioquímica e de citoquímica e, em anos recentes, de biologia molecular. Para isto, é preciso aprender como observar, interpretar a observação e tirar conclusões sobre elas, assim como a manipular a célula e seus componentes.

Os exercícios das aulas práticas de Biologia Celular foram organizados de maneira que o aluno possa compreender melhor o assunto discutido durante as aulas teóricas. O trabalho prático sobre estrutura celular colabora com a consolidação de diversos tópicos abordados. Os roteiros das aulas práticas estão descritos nesta apostila, que é complementar e **não substitui** as anotações das aulas teóricas e dos textos indicados para o curso.

Os exercícios contidos em cada aula preenchem as seguintes finalidades:

- a) Algumas práticas são simples e seu objetivo é fazer o aluno *vivenciar* o que *aprendeu* na aula teórica e na leitura dos textos sugeridos pelo professor. Exemplo disto são os exercícios das Aulas 1 e 2, em que o aluno aprende a trabalhar com o microscópio e observa alguns tipos de lâminas e imagens preparadas com diferentes técnicas.
- b) Algumas aulas práticas representam um treinamento em técnicas que poderão ser utilizadas mais tarde, na sua vida profissional, como por exemplo: extração e eletroforese de ácidos nucléicos, contagem do número de cromossomos de diferentes espécies de plantas, observação de grãos de pólen férteis e estéreis e da meiose. Ressalte-se que há vários casos de esterilidade de plantas causados por anormalidades meióticas e várias das plantas que hoje cultivamos são poliploides.

Finalizando, julgamos importante colocar na presente introdução algumas instruções para o bom aproveitamento das aulas práticas de Biologia Celular.

1. **O aluno deve trazer a apostila a todas as aulas;**
2. Antes do início da aula, o aluno deve ler atentamente as instruções para cada exercício. Deve procurar trabalhar com *iniciativa própria*. O professor e os estagiários PAE estarão sempre orientando, mas a *iniciativa pessoal* do aluno é bastante importante para o bom andamento da aula;
4. Ao fim de cada exercício há sempre perguntas às quais o aluno deverá responder, após discuti-las com os colegas do grupo ou de acordo com consultas aos textos das aulas teóricas;
5. O aluno é responsável pelo material que lhe é fornecido: microscópio, lâminas, pinças, vidraria, pôsteres expostos, etc. Deve zelar pela boa manutenção dos mesmos, lembrando-se de que os colegas de outras turmas farão uso desses mesmos materiais;
6. Antes e depois de iniciar seu trabalho, o aluno deve limpar o seu microscópio, de acordo com as instruções do Professor. Antes de deixar a sala de aula deve:
 - a) **reduzir a luz do microscópio e apagá-la em seguida;**
 - b) **deixar a platina (ou mesa do microscópio) levantada;**
 - c) **deixar a objetiva de menor aumento na posição de focalização;**
 - d) **enrolar o fio ao redor do microscópio e cobrir o microscópio com a respectiva capa.**

ÍNDICE

	Página
AULA 1. DESCOBRINDO AS CÉLULAS: INTRODUÇÃO AOS MÉTODOS DE ESTUDO DAS CÉLULAS POR MEIO DA MICROSCOPIA.....	07
AULA 2. MÉTODOS DE ESTUDO DA CÉLULA E DIFERENÇAS NA ARQUITETURA CELULAR.....	12
AULA 3. APRESENTAÇÃO DAS NORMAS DO TRABALHO PRÁTICO SOBRE ESTRUTURAS CELULARES.....	17
AULA 4. ESTRUTURA DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS.....	18
AULA 5. EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS DE PLANTAS E ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE.....	20
AULA 6. INTERPRETANDO A INFORMAÇÃO GENÉTICA: DO DNA ÀS PROTEÍNAS.....	23
AULA 7. MEMBRANA PLASMÁTICA E PAREDE CELULAR.....	26
AULA 8. CLOROPLASTOS E MITOCÔNDRIAS: ESTRUTURA E FUNÇÃO.....	30
AULA 9. CROMOSSOMOS DE PLANTAS E ANIMAIS E ANÁLISE DE CARIÓTIPOS.....	33
AULA 10. MITOSE.....	40
AULA 11. MEIOSE E GAMETOGÊNESE.....	43

AULA 1. DESCOBRINDO AS CÉLULAS: INTRODUÇÃO AOS MÉTODOS DE ESTUDO DAS CÉLULAS POR MEIO DA MICROSCOPIA

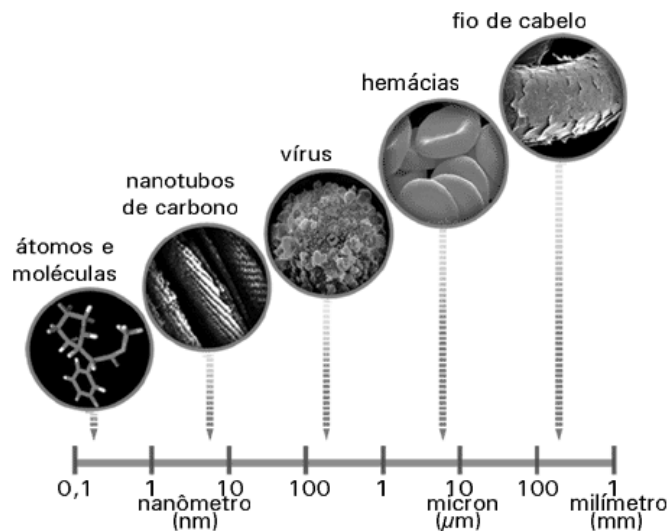
Você irá usar, na maioria das aulas práticas de BIOLOGIA CELULAR, o microscópio. Daí a necessidade de você aprender a explorar todas as possibilidades deste instrumento ótico, bem como dos cuidados que Você deve ter com ele. LEIA COM ATENÇÃO A APRESENTAÇÃO DA APOSTILA E O APÊNDICE DESTA AULA.

1. Entendendo a importância do uso do microscópio

a) Teoria celular propõe que:

- a menor unidade de um organismo vivo (vida autônoma) é a célula;
- as propriedades (morfologia e fisiologia) de um organismo dependem das propriedades de suas células;
- as células se originam **unicamente** a partir de outras células e sua continuidade se mantém devido à transmissão de seu material genético ao longo das gerações (hereditariedade).

b) Unidades em Biologia Celular



c) Resolução do olho humano a 25 cm é de 100 a 300 μm (0,1 a 0,3 mm)

A partir de **todas essas informações**, discuta a importância do uso de microscópios em estudos de Biologia Celular. Você consegue ver relação entre a Biologia Celular e a Engenharia Agrônômica e Florestal? Exemplifique.

2. O microscópio é constituído de partes óticas e mecânicas. Com o auxílio da figura que se encontra na página 10, procure identificar essas partes no seu microscópio e relacione-as a seguir.

Partes óticas

Partes mecânicas

3. Agora, o Professor irá explicar como usar o microscópio e quais os cuidados que você deve ter com ele. Para aprender a usá-lo, você irá utilizar de uma lâmina permanente que contém cortes longitudinais (ou transversais) de ponta de raiz de *Tradescantia* e/ou de *Allium cepa* (cebola). Siga as instruções do professor e faça um esquema do que está observando em **cada aumento utilizado**.

4. Exame de materiais sem corte.

Observe o material focalizado na lupa. Verifique qual o aumento final da imagem observada.

4. Quais as diferenças básicas entre uma lupa e um microscópio ótico?

5. Utilize um pedaço de papel contendo a palavra "feira" e monte sua lâmina. Coloque uma gota de água sobre a lâmina, coloque o papel e adicione mais uma gota de água. Cubra o papel com uma lamínula e leve ao microscópio. Utilize diferentes fonte de aumento: 40, 100 e 400 X.

a) Algumas das letras estavam invertidas? Qual o princípio ótico envolvido no fenômeno?

b) o que é mais vantajoso usar um aumento maior ou um menor? Justifique sua resposta.

c) Essa mesma palavra está exposta em uma lupa. Como você observa a imagem? Justifique.

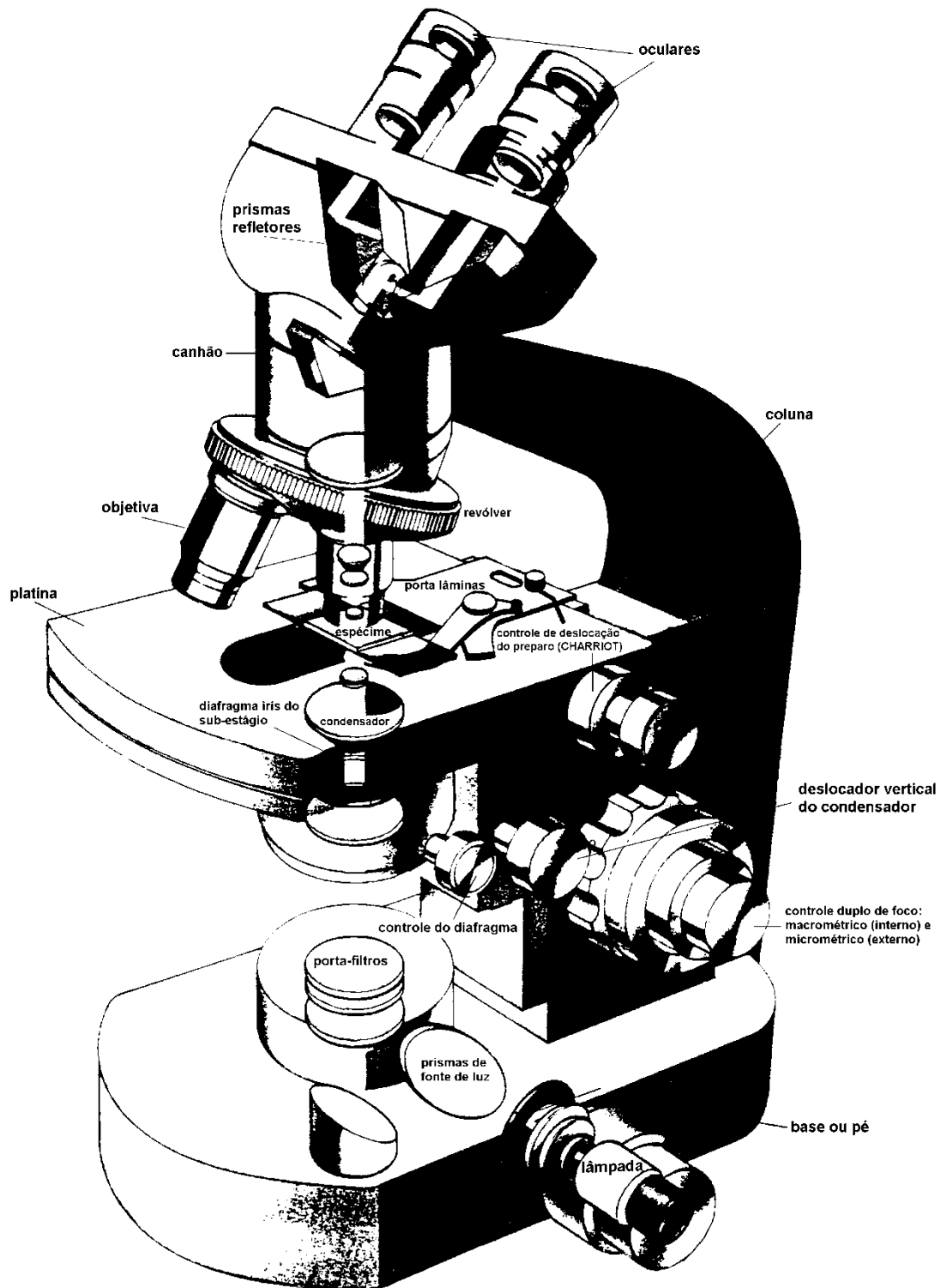


Figura 1. Esquema do Microscópio Óptico.

APÊNDICE

Procedimentos para o uso adequado do microscópio em aula prática.

1. Inicie sempre a focalização pela objetiva de menor aumento. Para isso, utilize o parafuso macrométrico.
2. Passe para a objetiva de 40 X. Nessa situação utilize somente o parafuso micrométrico para ajustar a focalização. Caso Você não consiga focalizar volte para a objetiva menor e repita toda a operação. Nunca force a objetiva sobre a lâmina. Você corre o risco de quebrá-la.
3. Se você não dispõe de óleo de imersão não utilize a objetiva de 100 X. Ela é apropriada para a visualização de cromossomos, por exemplo, que é um assunto a ser estudado em outra aula prática.
4. Não deixe a lâmpada do microscópio acesa quando você não está observando: habitue-se a desligá-la pois ela tem um tempo curto de vida. No término da aula, reduza a intensidade da luz para a posição 1 (parafuso de regulagem, lado direito do microscópio) e, em seguida, desligue o microscópio.
5. Para limpar as lentes das objetivas e das oculares use lenço de papel. Você pode proceder da mesma forma com as lâminas permanentes, retirando impressões digitais e o pó que fica sobre elas.
6. Evite acidentes e preserve o material didático. Em caso de dúvida, não improvise, chame o professor e/ou estagiário PAE.

AULA 2. MÉTODOS DE ESTUDO DA CÉLULA E DIFERENÇAS NA ARQUITETURA CELULAR

O objetivo desta aula é colocar você em contato com alguns métodos de observação de células. Você terá oportunidade de observar diversos tipos de células eucarióticas com diferentes arquiteturas, e entender quais as informações que você pode obter através do emprego de diferentes tipos de métodos. Também será observada a aplicação da microscopia eletrônica em estudos de interesse agrônomo, industrial e biológico.

1. Exame de material fixado e corado pertencentes aos reinos animal e vegetal.

1.1. Células do sangue de galinha e humano

Você vai receber lâminas permanentes de esfregaço de sangue de galinha e de humano.

- a)** Observe as hemácias e os leucócitos das duas lâminas e desenhe.
- b)** Quais as características destas células? Indique nos desenhos.
- c)** Uma célula sobrevive sem núcleo? Como?

1.2. Cortes transversais de ovário de lírio (*Lilium sp.*)

Você vai receber lâminas permanentes de cortes transversais de ovário de lírio.

Fixação em fixador de Navashin, coloração pela hematoxilina férrica (núcleo) e "fastgreen" (citoplasma).

Faça um esquema do corte. Localize os óvulos dentro das cavidades do ovário. Faça um esquema dos diferentes tipos de células que você observar. Qual aumento foi melhor para a observação do material? Por quê?

2. Exame de material vivo:

a) Você irá observar uma célula do reino animal. Raspe a mucosa bucal com palito. Coloque o material coletado em uma lâmina. Pingue uma gota de água sobre o material. Cubra-o com uma lamínula e observe ao microscópio. Desenhe as células e indique os componentes celulares que você pode observar.

O diafragma do condensador deve estar fechado.

b) Em uma placa de Petri encontra-se hifas de fungo. Como palito colete um pouco da hifa, pingue uma gota de água sobre o material. Cubra-o com uma lamínula e observe ao microscópio. Desenhe as células e indique os componentes celulares que você pode observar. Qual a relevância do estudo de fungos para agricultura?

3. Observe as lâminas focalizadas pelo professor.

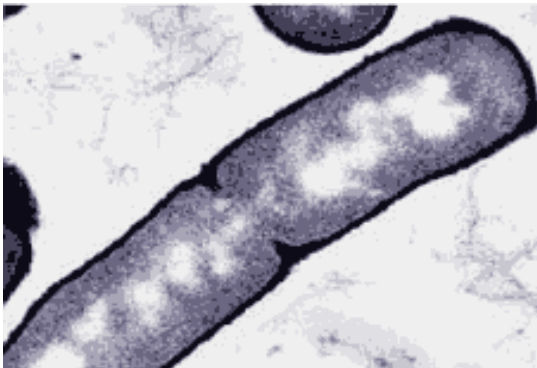
a) Algas unicelulares: *Diatomeae* sp. e *Eudorina* (colônia). A que reino pertence essas células? Cite uma particularidade desse reino.

Faça um relatório de suas observações, respondendo as seguintes perguntas. O relatório deverá ser entregue na próxima aula prática.

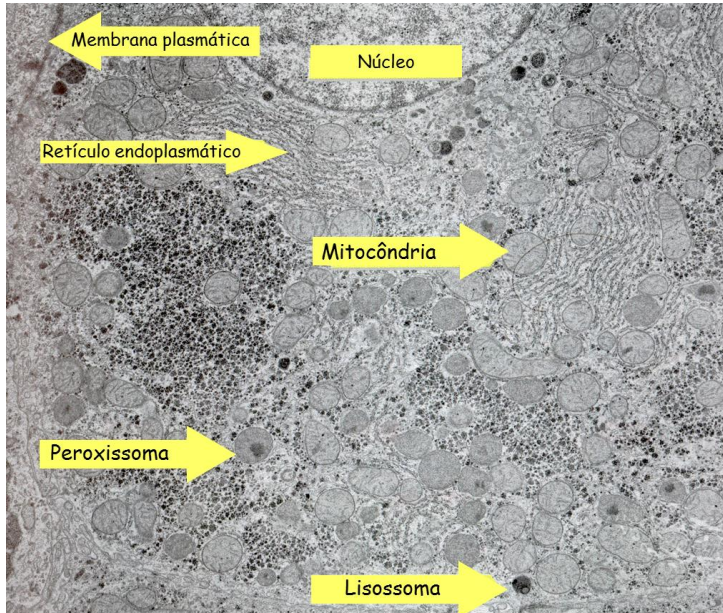
1. Quais as diferenças entre os métodos utilizados para a preparação das lâminas observadas? O que é fixação? Qual o objetivo da coloração?
2. Que tipo de informações você obteve, em relação à morfologia das células nos diferentes materiais observados? Que estrutura você observou nas células dos diferentes reinos?
3. Quais das células observadas possuem parede celular? Isso facilitou a observação da morfologia das células? Por quê?
4. Algumas estruturas do interior das células não são passíveis de serem observadas por meio de microscópio ótico. Para a observação dessas organelas é usual o uso de microscópio eletrônico. Esse pode ser eletrônico de varredura ou de transmissão.

4.1. Abaixo podem ser observadas algumas imagens de Microscopia Eletrônica de Transmissão de vários tipos celulares

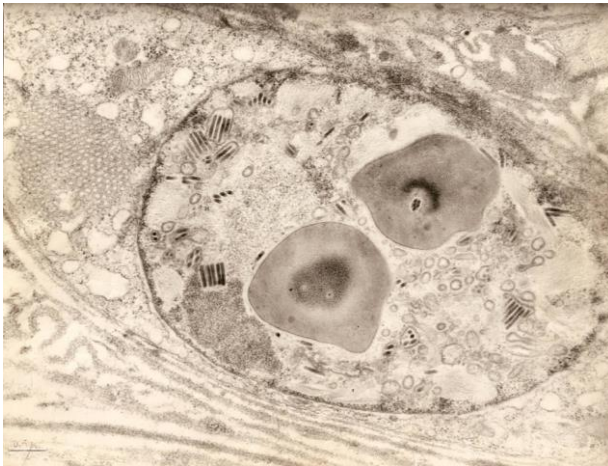
Célula procariótica



Célula eucariótica



Células do intestino da lagarta de *Anticarsia gemmatalis* infectada por vírus.



a) Com base nessas imagens, preencha o quadro abaixo:

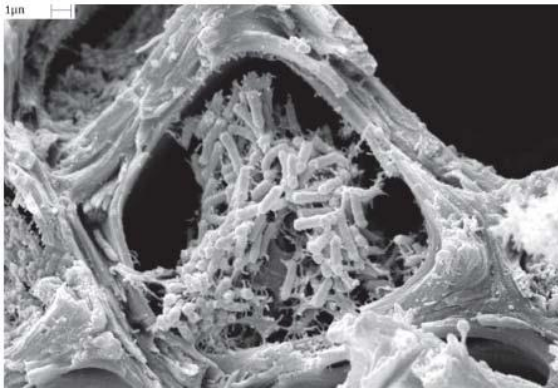
Estruturas interiores	Eucariotos	Procariotos
Localização dos cromossomos		
DNA extracromossômico		
Ribossomos		
Microtúbulos/centrossomo		
Complexo de Golgi/ R.E.		
Vacúolos		

Mitocôndria		
Cloroplastos		
Lisossomos		
Peroxisomos		

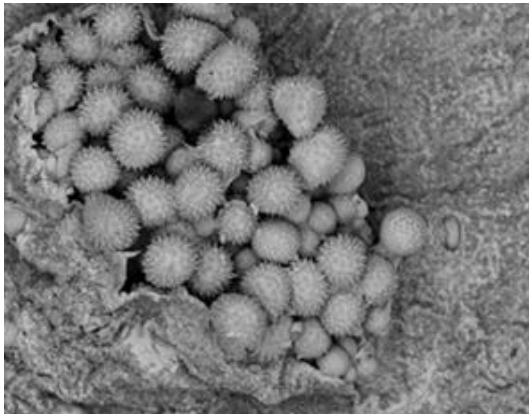
a) Discuta sobre o tamanho e a forma de análise microscópica dos vírus.

4.2. Agora você irá observar algumas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura

Corte transversal de vasos xilemáticos infectados por *Xylella fastidiosa*, agente causal da CVC (Clorose variegada dos citros, "amarelinho") (gentilmente cedida por Lacava, P.T.)



Esporos do fungo causador da ferrugem em Eucalipto (Crédito Tiago Falda Leite)



a) Quais diferenças são observadas nas imagens de MEV e MET? Por que isso ocorre?

AULA 3. APRESENTAÇÃO DAS NORMAS DO TRABALHO PRÁTICO SOBRE ESTRUTURAS CELULARES

Buscando um melhor aproveitamento das aulas práticas e da disciplina, você aluno utilizará a modelagem como ferramenta de aprendizagem. **Essa é uma atividade obrigatória, que constituirá parte da avaliação da disciplina (0,4 da nota do conteúdo prático).**

Para tanto serão apresentados nessa aula alguns diferentes modelos de interação celular de interesse, e você, em grupo, desenvolverá um modelo físico da interação de interesse.

O objetivo desse trabalho prático é:

- aplicação: organizar os conhecimentos teóricos sobre a célula, utilizando destes na construção de um modelo de interação celular de interesse agrônômico (microrganismo-microrganismo, planta-microrganismo, vírus-planta...).
- análise: diferenciar os componentes celulares, reconhecendo suas dimensões e formas, priorizar quais elementos serão retratados no modelo, classificar cada elemento e retratar no modelo.

A construção de modelos de interação celular poderá ser material (exemplos em <http://www.faesb.edu.br/inicial/index.php/exposicao-modelo-tridimensional-da-celula/>).

- Grupos compostos por no máximo 5 alunos escolherão um modelo de interação celular que modelarão, com orientação do estagiário PAE e/ou docente responsável pelo tema.
- Para cada tema de construção estão disponíveis textos base, os quais colaborarão com a definição dos elementos celulares estruturais e funcionais envolvidos no modelo selecionado.
- Será apresentado um roteiro de atividades e requisitos mínimos para a elaboração do modelo de interação escolhido.

22 a 26 de Maio - apresentação final do trabalho

Abaixo encontram-se as regras para apresentação do trabalho práticos. Bom estudo!

REGRAS:

1. O trabalho será constituído pelo modelo físico desenvolvido bem como a apresentação um vídeo do tema e debate e participação do grupo.
2. O trabalho deverá ser realizado em grupos de até 5 alunos.
3. Não serão aceitos trabalhos entregues após a data prevista pelo professor.

Apresentação final do trabalho

§ Entrega dos modelos construídos e do relatório escrito ocorrerá no mesmo dia da apresentação do vídeo - A ORDEM DAS APRESENTAÇÕES SERÁ POR SORTEIO, ESTEJAM PREPRADOS!

§ Apresentação será na forma de vídeo elaborado pelo alunos com tempo limitado de até 4 minutos para a exposição do tema.

§ No dia da apresentação o grupo será arguido por 5 minutos pelo professor, estagiário PAE e demais alunos da classe.

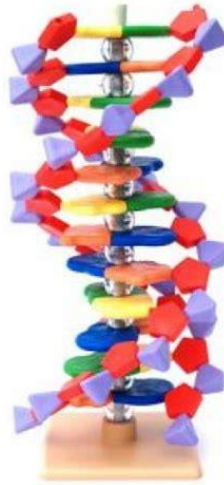
Abaixo segue alguns protótipos dos resultados esperados:



Sejam criativos!!

AULA 4. ESTRUTURA DOS ÁCIDOS NUCLÉICOS

Você está recebendo um kit Molymod® para montagem do modelo abaixo.

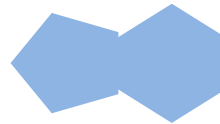


Para compreender a estrutura do DNA e o processo de transcrição você receberá algumas peças:

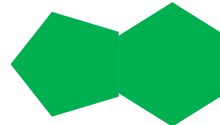
FOSFATO – roxo



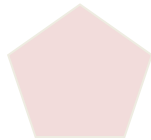
ADENINA - azul



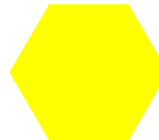
GUANINA - verde



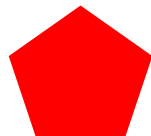
RIBOSE - rosa



CITOSINA – amarelo



DESOXIRIBOSE - vermelho



TIMINA – laranja

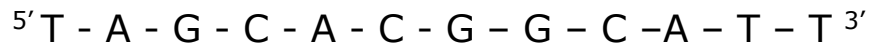


URACILA – azul claro

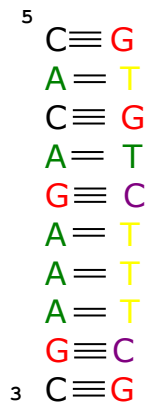


A partir desse Kit:

1. Construa, juntamente com seus colegas e usando as peças, um segmento da molécula de DNA, onde uma das cadeias tenha a seguinte sequência de bases:



2. Com o restante das peças Você deverá construir um segmento de mRNA de tal modo que a sequência de bases seja complementar ao novo segmento formado na cadeia do DNA. **Atenção: sempre a molécula de mRNA é 5'- 3' e utiliza como molde a sequência 3'- 5' da molécula de DNA dupla fita!**
3. Observe os dois conjuntos que você montou e descreva as diferenças que estão presentes nessas moléculas. Baseado na sua resposta discuta qual molécula deve ter surgido primeiro na Terra, o RNA ou o DNA?
4. Qual será o resultado da duplicação do DNA a partir da seguinte sequência? Explique como isso ocorre e esquematize o mecanismo no verso da página.



5. Observe uma micrografia eletrônica de uma molécula de DNA preparada pelo método de sombreamento. Esta molécula está se duplicando. Localize as forquilhas de replicação e por meio de setas direcione o crescimento dessas forquilhas. Agora reflita o por quê de haver tantas forquilhas de replicação em um mesmo cromossomos.

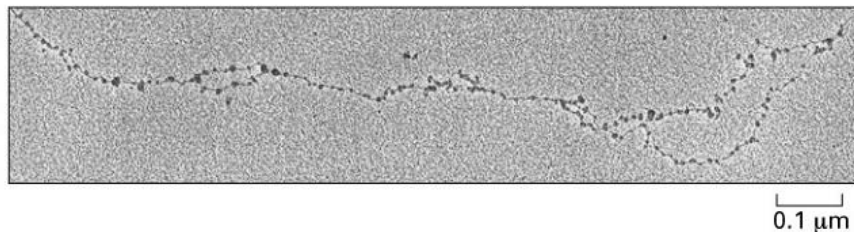


Figure 6-9 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

AULA 5. EXTRAÇÃO DE ÁCIDOS NUCLÉICOS DE PLANTAS E ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

A biologia molecular e a engenharia genética baseiam-se em técnicas de extração, análise e manipulação dos ácidos nucleicos. Usando estas metodologias é possível clonar um gene (isto é, inserir o gene dentro de uma bactéria que duplica esse DNA exógeno a cada ciclo celular) ou mesmo proceder a sua transferência de um organismo para outro (*transgenia*).

Devido aos avanços da biologia molecular foi possível entender melhor a estrutura de um gene, o seu funcionamento e expressão em plantas, animais e microrganismos. Atualmente, é possível conhecer a sequência de bases (ou nucleotídeos) de genomas inteiros e há um banco de sequências depositadas que pode ser acessado livremente: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Milhares de genomas estão completamente sequenciados, dos mais diversos organismos: vírus, humano, arroz, boi, patógenos e insetos pragas.

As análises de DNA são também muito úteis para se estudar a diversidade genética de todos os tipos de organismos (vírus, bactérias, plantas e animais).

1. Você vai extrair os ácidos nucleicos (DNA e RNA) a partir de tecido foliar vegetal.

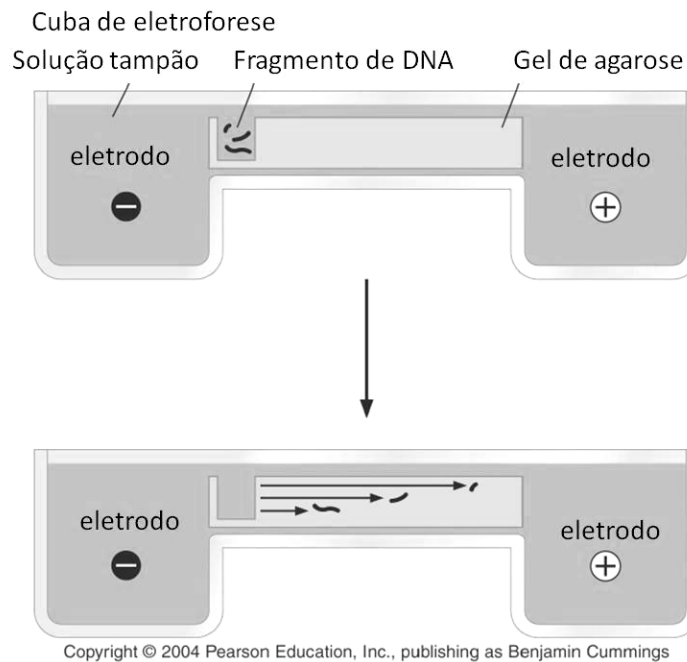
Protocolo

1. Colocar em cada cadinho 1 ou 2 folhas do material vegetal (350 mg).
2. Acrescentar nitrogênio líquido (desta forma, o material vegetal ficará congelado e pronto para ser macerado);
3. Macerar o tecido vegetal até virar um pó fino e seco;
4. Adicionar ao tecido vegetal macerado 1.0 mL de tampão de extração;
5. Transferir o material para um tubo eppendorf de 2.0 mL (no máximo 1,5 mL). Fechar o tubinho e misturar lentamente por inversão;
6. Colocar os tubos em banho-maria (60-70 °C), deixar por 20 min.;
7. Após esse período, acrescentar nos tubinhos, 0,5 mL de clorofórmio/álcool isoamílico (24:1). Fechar os tubinhos e misturar lentamente;
8. Centrifugar as amostras (5 min., 12.000rpm);
9. Com o auxílio de uma pipeta Pasteur, transferir cuidadosamente o sobrenadante para um tubo de 1.5 mL;
10. Acrescentar 600 µL de isopropanol;
11. Inverter o tubo lentamente até visualizar o precipitado que se destaca contra a luz e se assemelha a fios de um novelo. Ele representa agregados de moléculas de DNA precipitadas no isopropanol.

Tampão de Extração

Tris HCl pH 8,00	100mM
NaCl	1,4M
CTAB	2%
EDTA	20mM
PVP	1%
β- Mercaptoetanol	1%

2. Observe o gel depositado na cuba de eletroforese onde foram aplicadas amostras de ácidos nucleicos extraídos. Conforme você aprendeu, responda:

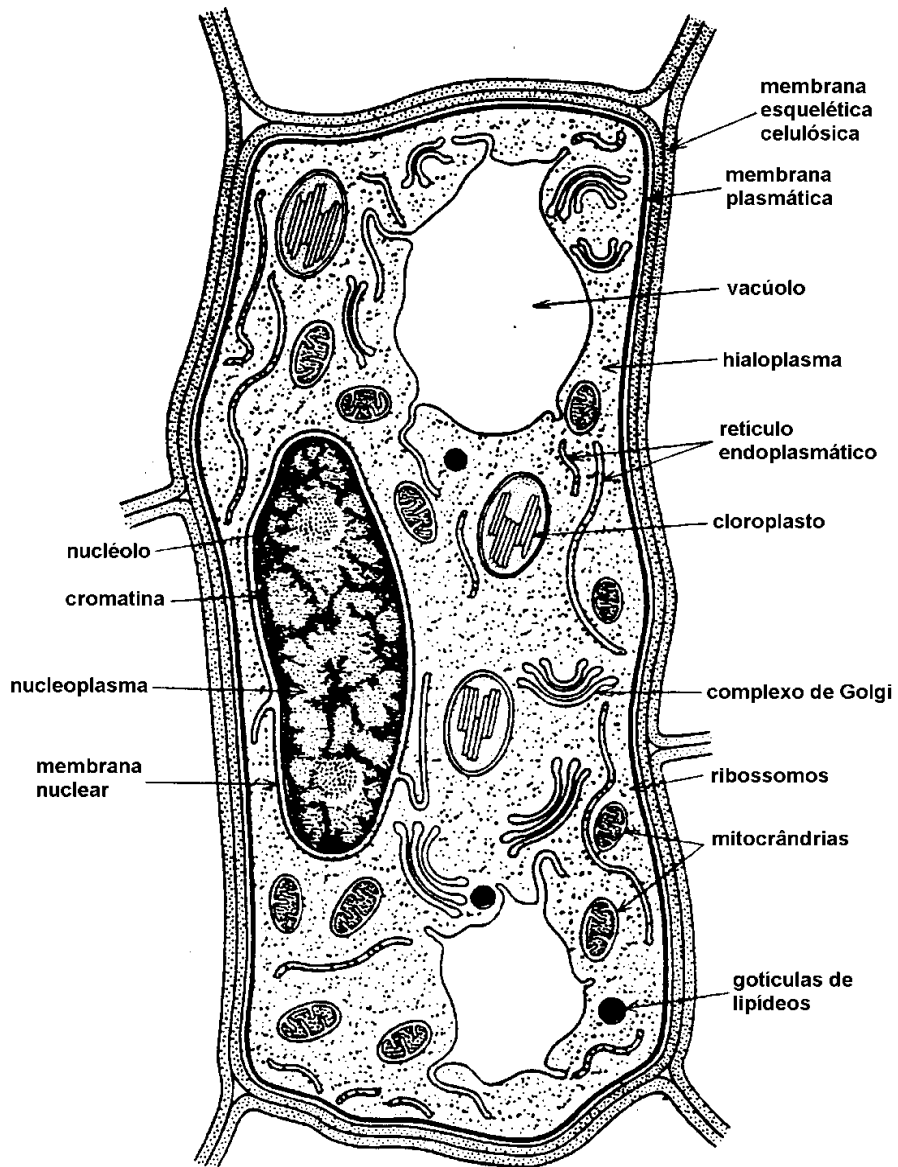


a) Explique a razão da diferença de carga elétrica entre os eletrodos. Porque o DNA é atraído pela carga positiva?

b) Esquematize o resultado do gel de agarose com o DNA e marcador molecular.

c) Exemplifique algumas aplicações do DNA extraído para estudos com aplicação agrônômica e/ou florestal.

3. Assinale na figura onde você pode encontrar moléculas de DNA, onde se formam os diversos tipos do RNA e em que locais eles são ativos e podem ser encontrados.



AULA 6. INTERPRETANDO A INFORMAÇÃO GENÉTICA: DO DNA À PROTEÍNAS

Nessa aula você irá entender como ocorre o fluxo da informação genética por meio da transcrição e tradução, também observará alimentos com diferentes teores de proteínas e a importância da estrutura dessas moléculas na sua função.

1. Nesse exercício você irá entender como ocorre o fluxo da informação genética a partir de uma molécula de DNA até a proteína resultante. Para começar, esquematize uma sequência de DNA composta 15 pares de bases à sua escolha

5' - XXX XXX XXX XXX XXX- 3'

- A partir dessa sequência qual seria a fita 3'-5', ou seja, a fita molde também denominada anti-senso.
- Qual seria a sequência do RNA resultante?
- Descreva o processo de transcrição dessa sequência detalhando as enzimas envolvidas em ambos tipos celulares e os processamentos que o mRNA pode sofrer.
- Utilize a sequência de mRNA resultante para prever a sequência de aminoácidos. Para isso utilize a tabela com o código genético.

		Segunda Letra							
		U		C		A		G	
U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	STOP	UGA	STOP	A
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	STOP	UGG	Try	G
C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
A	AUU	Iso	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Iso	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
	AUA	Iso	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G

© EBONINNOVA
inovabiologia.com

2. O resultado da **tradução** é a proteína! As **proteínas** são formadas por **moléculas de aminoácidos** e possuem como uma das suas funções principais atuar na estrutura da célula e participar de praticamente todas as reações químicas vitais (enzimas). A função das proteínas está diretamente relacionada à sua estrutura (forma).

A forma das proteínas, diferenciando-as, é diretamente relacionada a quantidade, tipos e da sequência de aminoácidos que cada uma possui. O objetivo desta prática é observar as proteínas em alguns tipos de alimentos.

Você irá analisar alguns tipos de alimentos: fígado de boi, amido de milho, sal, gelatina em pó e ovo.

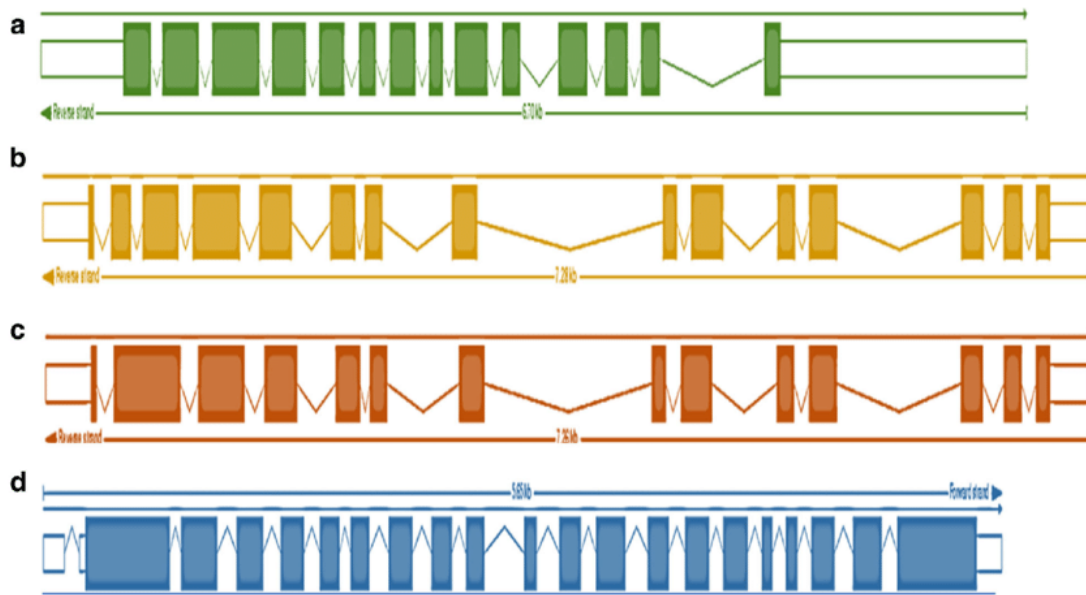
Primeiramente coloque uma pequena porção dos alimentos analisados e cerca de 3 ml de água destilada. Posteriormente, coloque cinco gotas de sulfato de cobre a 0,5% e cinco gotas de hidróxido de sódio.

- a) Em qual alimento deve haver a maior quantidade de proteína?
- b) O componente sal ficou com qual coloração? Por quê?
- c) Qual seria uma aplicação prática desse tipo de análise no setor Agrônomo e/ou Florestal?

3. Abaixo você pode observar o esquema de 4 proteínas SuSy, sucrose sintase, provenientes de cana-de-açúcar, bem como uma tabela detalhada com características dessas proteínas. Os resultados a seguir foram publicados no artigo Thirugnanasambandam et al. 2019*

A partir das observações abaixo responda:

- a) Qual sequência gênica é a maior?
- b) Quantos exóons e introns tem cada Susy?
- c) Qual SuSy produz a proteína de maior tamanho?
- d) A Maior sequência genica resulta no maior RNAm e na maior proteína? Discuta.



Legenda adaptada:

a) SuSy 1; b) SuSy 2, c) SuSy 4 e d) SuSy 7.

Cada "caixinha" representa um éxons. As ligações entre as "caixinhas" são os íntrons. No início e no final de cada gene tem a sequências regulatórias não traduzidas.

Tabela adaptada com características de cada SuSy.

Gene	Tamanho do RNAm (nucleotídeos)	Tamanho da proteína (amino-ácidos)
SuSy 1	2409	816
SuSy 2	4652	802
Susy 4	2950	809
Susy 7	2632	857

*Thirugnanasambandam et al. (2019). Analysis of the diversity and tissue specificity of sucrose synthase genes in the long read transcriptome of sugarcane. **BMC Plant Biology** (2019) 19:160.

AULA 7. MEMBRANA PLASMÁTICA E PAREDE CELULAR

A membrana plasmática e outras membranas intracelulares não são visíveis ao microscópio ótico. Entretanto, é possível demonstrar indiretamente a sua presença. Os exercícios 1 e 2 permitem visualizar os limites delineados pelas membranas da célula.

Como você vai trabalhar com células vegetais, poderá, ao mesmo tempo, fazer observações sobre a parede celular.

1. Observação de células de bulbo de cebola.

- a) Retire cuidadosamente, com uma pinça, uma camada do bulbo da cebola e coloque-a sobre uma lâmina; coloque uma gota de água sobre a lâmina e cubra com a lamínula.
- b) Remova o excesso de água com papel de filtro e observe ao microscópio. Desenhe o que você está observando.

- c) Coloque uma gota de solução concentrada de cloreto de sódio sob a lamínula, do lado esquerdo; enquanto isso remova o excesso de água pelo lado direito da lamínula, com papel de filtro. Observe ao microscópio. Desenhe o que você está observando.

- d) O fenômeno se chama plasmólise. Com a objetiva de 40 X pode-se ver o contorno da membrana plasmática, pois ela se desprende da parede celular. O que acontece a esta célula, se substituirmos o NaCl por muita água?

2. Agora você irá avaliar o efeito de diferentes solventes sobre a permeabilidade seletiva das membrana. Em diferentes tubos coloque 1 cubo de 1 cm³ de beterraba.

Tubo 1: 4 mL H₂O

Tubo 2: 2 mL de H₂O e 2 mL de acetona

Tubo 3: 2 mL de H₂O e de 2 mL de solução de Triton 10%

Tubo 4: 2 mL de H₂O e 2 mL de NaCl 1 M

Após 1 hora observe o que aconteceu e responda:

- a) Esquematize os resultados obtidos para os diferentes tratamentos com Acetona, Triton 10% e NaCl 1M. Caso seu resultado seja diferente do apresentado em aula, discuta sobre os possíveis erros experimentais.

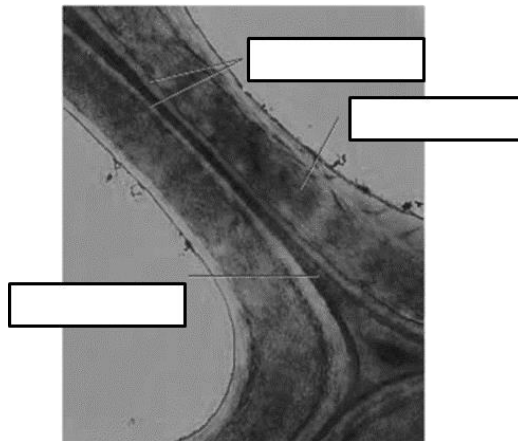
- b)** Qual atuação das diferentes soluções sobre a membrana plasmática? Explique dando um enfoque físico-químico da membrana plasmática.

3. As respostas das células animais difere mediante diferentes concentrações salinas. Esquematize os possíveis resultados quando adicionadas as hemácias em:

Uma gota de suspensão de sangue em solução isotônica (NaCl 0,95%)
 Uma gota de suspensão de sangue em solução hipertônica (NaCl 1,5%)
 Uma gota de suspensão de sangue em solução hipotônica (NaCl 0,5%)

5. A figura a seguir representa a parede celular vegetal. Preencha os quadrados com o nome das estruturas e responda

- a)** Qual a composição química da parede celular?
b) Qual a diferença entre parede primária e secundária?
c) Onde se localiza a lamela média?



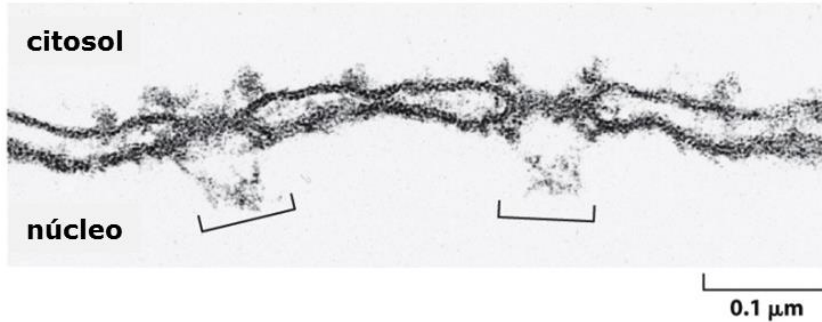
6. Na aula você receberá explicações sobre os anéis das árvores-idade-estações do ano. Baseado nas explicações do professor defina a idade mínima dessa árvore.



Faça um relatório de suas observações, respondendo as seguintes perguntas. O relatório deverá ser entregue na próxima aula prática

1. Interprete as imagens de microfotografia eletrônica referentes a membrana plasmática e de acordo com a literatura atribua outras funções a mesma.

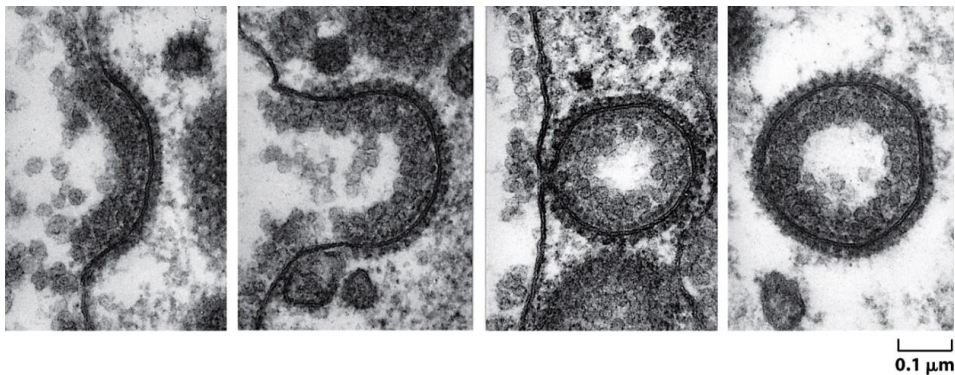
Complexo de poros nucleares



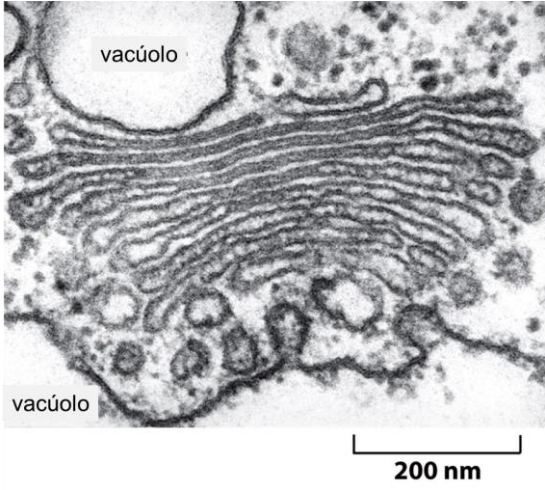
Reticulo endoplasmático rugoso de células pancreática de mamífero



Formação de vesículas



Complexo de Golgi



AULA 8. CLOROPLASTOS E MITOCÔNDRIAS: ESTRUTURA E FUNÇÃO

Nesta aula você fará observações referentes à morfologia dos cloroplastos de diferentes grupos vegetais, bem como de protistas. Em seguida você fará a interpretação de uma micrografia mostrando o corte longitudinal de um cloroplasto. Também aprenderá sobre a teoria endossimbionte.

1. Presença e morfologia dos cloroplastos em epiderme de folhas de samambaia e lírio.

1.1. Método

- a)** Retire com uma gilete (ou pinça, ou unha) uma película fina da face inferior da folha da samambaia e do lírio.
- b)** Coloque o material sobre uma gota de água na lâmina.
- c)** Cubra com lamínula.
- d)** Focalize o material com a objetiva de menor aumento e em seguida utilize a objetiva de 40X.

1.2. Observações:

- a)** Morfologia - Faça um esquema do estômato e das células da epiderme de cada material. Indique a presença dos cloroplastos nestas células.

- c)** Você observou diferenças quanto à presença de cloroplastos nesses dois tipos de plantas que pertencem a grupos taxonômicos distintos?

- d)** Correlacione a diferença das células epidérmicas de samambaias e lírio quanto a presença de cloroplastos, evolução e diferenciação tecidual.

2. Forma de cloroplastos em algas

2.1. Método - Pipete uma gota da água que contém a alga *Spirogyra* e coloque-a na lâmina, cobrindo com a lamínula. Faça um esquema dos cloroplastos da *Spirogyra*. Por que as algas têm cloroplastos mas não são consideradas vegetais?

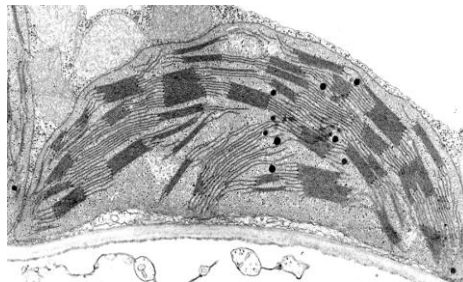
2.2. Discuta e tire conclusões comparando os dados obtidos em samambaia, lírio e *Spirogyra*. Qual a relevância do estudo de cloroplastos na Engenharia Agronômica e Florestal.

3. Observação de folhas de *Elodea canadensis*

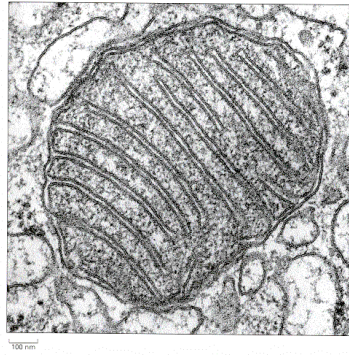
- a) Coloque em uma lâmina uma folha nova de *Elodea canadensis*.
- b) Coloque uma gota de água sobre a lâmina.
- c) Cubra com a lamínula.
- d) Examine ao microscópio.
- e) Discuta o que você observou. Como se chama o fenômeno? Quais estruturas estão em movimento?

4. Observe as micrografias eletrônicas mostrando um cloroplasto (A) e mitocôndria (B). Indique os seus componentes, bem como os locais onde ocorrem a fotofosforilação e o ciclo de Calvin, bem como o ciclo de Krebs e onde se localiza a cadeia de elétrons.

A

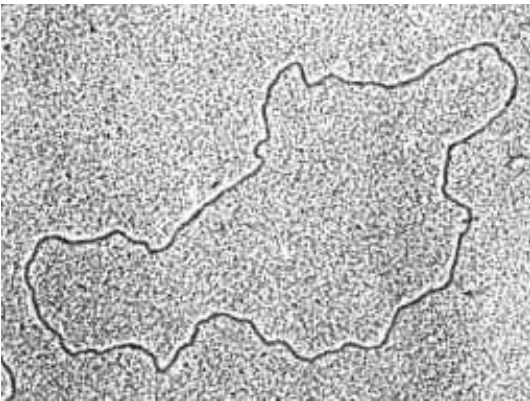


B

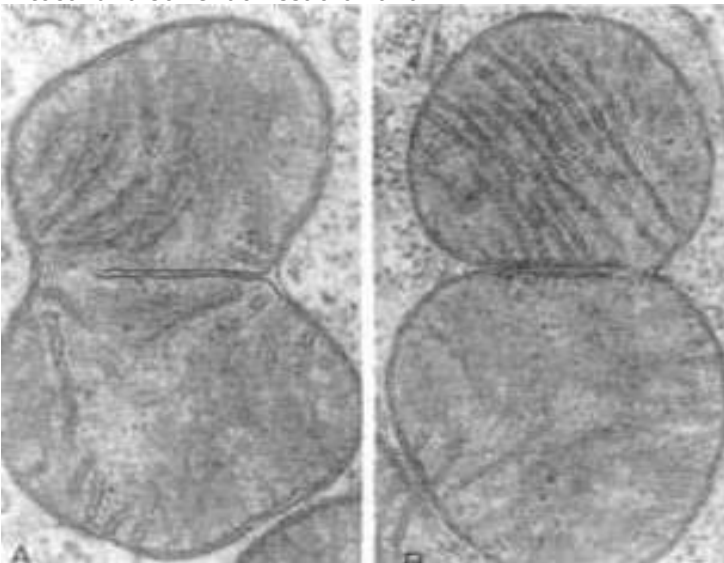


5. Correlacione as duas imagens a seguir com a teoria endossimbionte

DNA mitocôndrial



Mitocôndria sofrendo fissão binária



AULA 9. CROMOSSOMOS DE PLANTAS E ANIMAIS E ANÁLISE DE CARIÓTIPOS

Nesta aula, você observará metáfases mitóticas previamente tratadas com agentes que inibem a formação do fuso. As metáfases já estão focalizadas e você deve contar e anotar o número de cromossomos.

1.No caso de vegetais, as lâminas permanentes foram preparadas pelo método de esmagamento de pontas de raiz pré-tratadas com colchicina a 0,1%, durante 5 horas ou com 8-hidroxiquinolina (C_6H_7NO) 0,03% por 3 horas, sendo que o método utilizado encontra-se descrito no Apêndice. Esquematize a imagem observada, conte o número de cromossomos da espécie observada atribuindo valores $2n$ e n para a mesma.

Se não fosse empregada a colchicina, qual seria o resultado esperado?

2.Observação de cromossomos politênicos em células da glândula salivar de *Rhynchosciara angelae*. (O método utilizado para a preparação destas lâminas encontra-se descrito no Apêndice desta aula). Esses cromossomos são mais fáceis de serem observados quando comparada com a espécie vegetal acima? Por quê? Anote as observações do professor a respeito.

3. Neste exercício você fará a análise do cariótipo de *Allium cepa*, que consta das seguintes etapas:

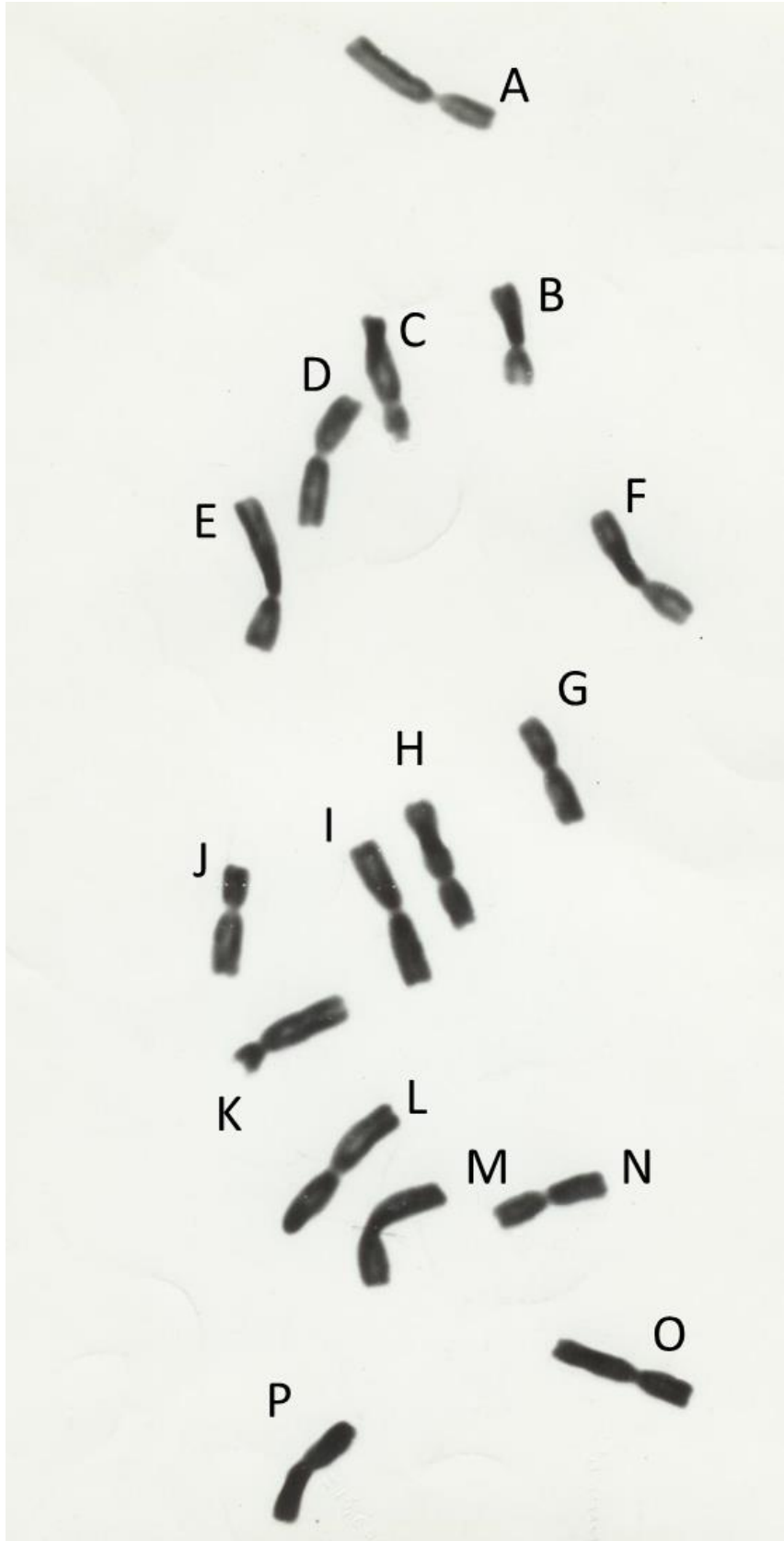
- 1.**Medida dos braços dos cromossomos em microfotografias de metáfases tratadas com colchicina
- 2.**Cálculo da relação de braços de cada cromossomo
- 3.**Identificação dos cromossomos homólogos
- 4.**Elaboração do ideograma da espécie

Proceda da seguinte maneira:

- a)** Meça com o auxílio de uma régua o comprimento dos braços dos cromossomos, anotando as medições ao lado dos cromossomos.
- b)** Calcule a relação de braços* e o comprimento total** de cada cromossomo. Anote os dados ao lado do respectivo cromossomo. Identifique os homólogos, a partir desses dados.
- c)** Classifique os cromossomos de acordo com tipo.

Tipo	Relação de braços
Metacêntrico	Entre 1,0 e 1,7
Submetacêntrico	Entre 1,7 e 3,0
Acrocêntrico	Maior que 3,0

Para tanto, segue a imagem e a tabela que deve ser preenchida.



Quadro seguinte com as medidas obtidas:

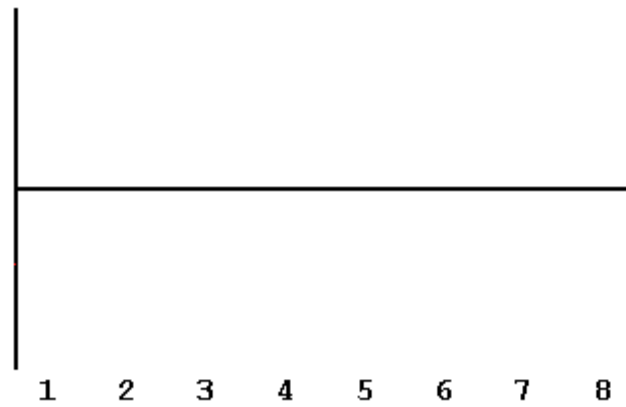
Cromossômico	Braço Longo	Braço Curto	*Relação de Braços (BL/BC)	**Comprimento Total (BL + BC)	Tipo
A					
B					
C					
D					
E					
F					
G					
H					
I					
J					
K					
L					
M					
N					
O					
P					

BL: braço longo; **BC:** braço curto

A partir dos dados acima tente preencher a tabela abaixo, encontrando os cromossomos homólogos:

Par Cromossômico	Média dos cromossomos homólogos			
	Braço Longo	Braço Curto	*Relação de Braços (BL/BC)	**Comprimento Total (BL + BC)
1 - o maior				
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8 - o menor				

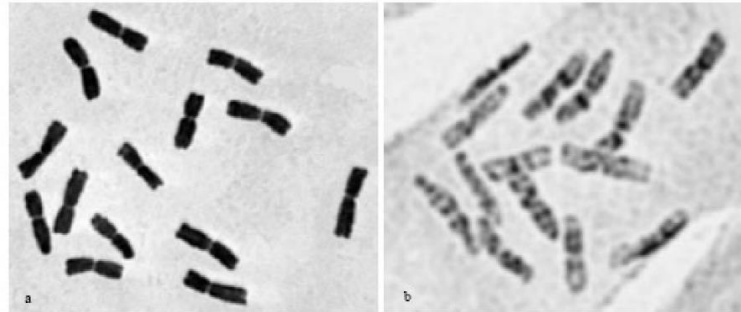
Represente o ideograma (disposição dos cromossomos pela ordem de tamanho, mantendo os centrômeros no centro do gráfico). Disponha os cromossomos com o braço curto na parte superior do gráfico.



Qual o conjunto $2n$ de *Allium cepa*? E o conjunto n ?

Faça um relatório de suas observações, respondendo as seguintes perguntas. O relatório deverá ser entregue na próxima aula prática

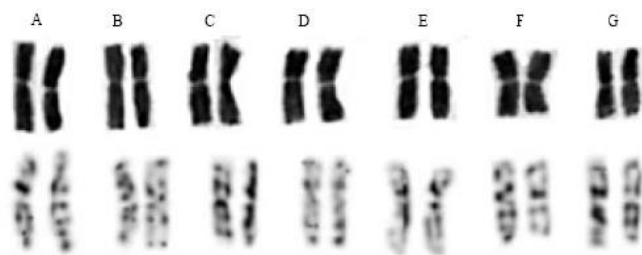
1. Muitas vezes é muito difícil definir o cariograma da espécie somente utilizando dados de tamanhos dos braços dos cromossomos. A imagem abaixo é de células em mitose tratadas com colchicina da espécie *Heteranthelium piliferum*. A figura a esquerda foi obtida pela técnica de bandeamento C com Giemsa.



(Fonte: Asghari-Zakaria R, 2007)*

a) Qual o princípio e para que serve a técnica de bandeamento?

b) Baseado na figura abaixo discuta como a técnica de bandamento facilita a obtenção de cariogramas.



(Fonte: Asghari-Zakaria R (2007)*

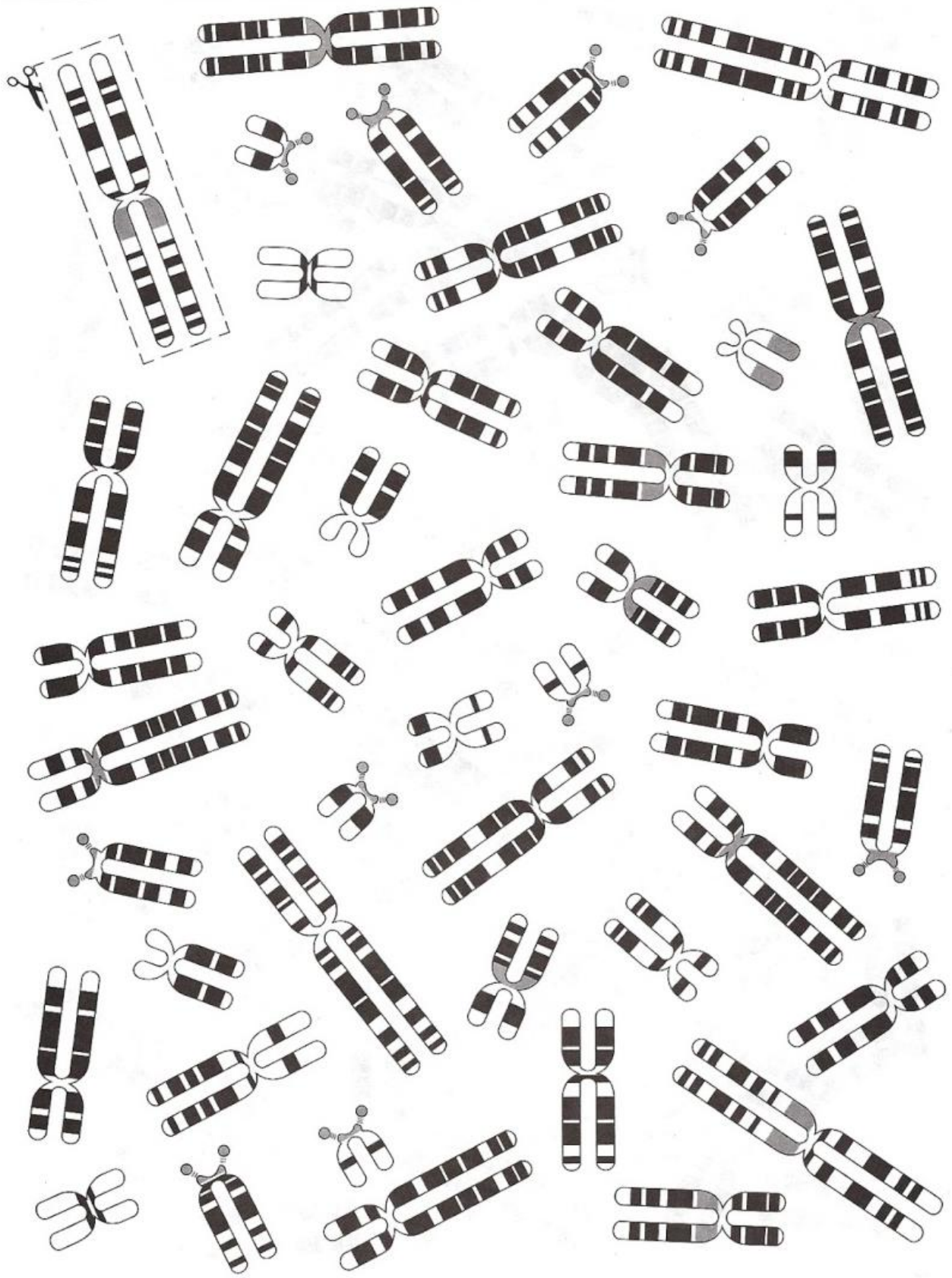
* Asghari-Zakaria R. (2007) Karyotype and C-banding patterns of mitotic chromosomes in *Heteranthelium piliferum*. Pak J Biol Sci, 10(22):4160-4163.

2. Agora você irá desenvolver um cariótipo e um ideograma. No eDisciplinas há uma lista de espécies para cada aluno.

a) A partir do nome científicos de espécies de importância econômica:

- Investigue o nome vulgar da espécie e a sua aplicação agrícola:
- Descubra o número de cromossomos da espécie, e utilizando a figura de cariótipo abaixo, faça o cariograma e ideograma da espécie

Obs: Você não precisa utilizar todos os cromossomos presentes na figura e nem se preocupar com a classificação dos mesmos (metacêntrico, submetacêntrico...), mas precisa ter cromossomos homólogos corretos bem como o número correto por espécie.



APÊNDICE

A. Esmagamento de ponta de raiz cebola, tratadas com colchicina

- a) Colocar bulbos de cebola sobre um recipiente contendo água, para germinação das raízes.
- b) Cortar as raízes de 1 cm e tratá-las com solução aquosa de colchicina a 0,1%, durante 6 horas.
- c) Fixar as raízes em Carnoy (3 p. álcool etílico: 1 p. ácido acético), durante 2 horas.
- d) Transferir o material para álcool 70% e conservar em geladeira.
- e) Coloração pelo método de Feulgen:
 - e.1. Lavar com água destilada, hidrolisar em HCl a 60°, durante 8 minutos e lavar novamente.
 - e.2. Colocar em reativo de Schiff, em frasco escuro, por 45 minutos. Lavar em água corrente.
- f) Colocar uma ponta de raiz sobre uma lâmina, com uma gota de ácido acético a 45%, esmagar com espátula e retirar com pinça os fragmentos maiores.
- g) Colocar uma lamínula sobre o material, aquecer e esmagar entre folhas de papel de filtro. Lutar a lâmina ou transformar em permanente usando bálsamo do Canadá.

B. Preparação de cromossomos politênicos.

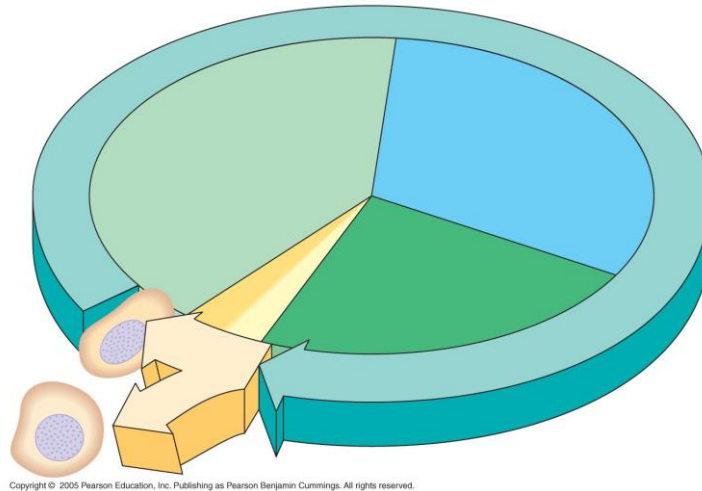
- 1) Coloque uma larva crescida sobre uma lâmina contendo uma gota de solução salina isotônica ou uma solução de Ringer.
- 2) Puxe a cabeça da larva, por distensão, com uma agulha, segurando o corpo com outra agulha. As glândulas salivares são assim, facilmente desligadas do corpo.
- 3) Transfira-a para uma lâmina limpa, com o líquido usado para dissecação.
- 4) A coloração pode ser feita em solução de carmin acético ou de orceína acética. Várias fórmulas têm sido usadas: orceína a 2% em ácido acético a 50%; orceína a 1% em ácido acético a 45% adicionada de 1ml de clorofórmio.
- 5) Transfira o tecido para uma gota de corante, sobre uma lâmina limpa. Deixe de 5 a 10 minutos, dependendo do material.
- 6) Cubra com lamínula, retire o excesso de corante com papel de filtro, coloque a preparação entre papel mata-borrão dobrado e aplique pressão uniforme esmagando o tecido e afastando os cromossomos.
- 7) Lute a preparação e examine-a ao microscópio.

A preparação conserva-se por alguns dias se estiver bem vedada e guardada sob temperatura baixa.
A lâmina pode ser transformada em preparação permanente, existindo vários métodos apropriados.

AULA 10. MITOSE

Nesta aula você entenderá o ciclo celular e fará a identificação de fases da mitose em lâminas permanentes contendo cortes longitudinais e transversais de raízes. Em seguida você vai preparar lâminas temporárias de pontas de raiz, pelo método de esmagamento e coloração pelo Carmin.

1. A imagem abaixo representa o ciclo celular. Preencha a figura abaixo com as respectivas fases G1, S e G2 que ocorrem durante a Interfase, bem como a mitose e citocinese na Fase M e descreva o que ocorre em cada uma dessas etapas.



2. Lâminas permanentes de cortes longitudinais e transversais de raízes de cebola e lírio.

a) Com a objetiva de 10X focalize a região meristemática e um corte longitudinal de raiz.

b) Com a objetiva de 40X identifique as fases da mitose. Desenhe-as. Faça também um esquema interpretativo de cada desenho. Descreva as características principais de cada fase.

- c) Focalize (com a objetiva de 40X) um corte transversal de raiz. Quais as diferenças você observa quando visualiza a metáfase em corte longitudinal e transversal?

3. Lâminas temporárias de células de ponta de raiz de cebola.

Técnicas de esmagamento de células de raiz.

Finalidade: Técnica rápida para o estudo da mitose e contagem do número de cromossomos.

Vantagens: É um processo mais rápido e permite a obtenção de células inteiras e isoladas.

- a) Coleta do material e fixação em Carnoy 3:1 (3 partes de álcool etílico 96% e uma parte de ácido acético glacial) por 12 a 24 horas; transferência para álcool 70% e posterior conservação em geladeira.
- b) Pode-se também utilizar o material fresco, logo após a coleta. As pontas de raiz, logo após serem cortadas, devem ser primeiramente fervidas em um tubo de ensaio contendo a solução de Carmin acético, repetindo-se o processo de fervura umas duas ou três vezes. O Carmin acético funciona como fixador e corante.
- c) Colocar uma ou mais pontas de raiz numa lâmina que contenha 1 a 2 gotas de carmin acético a 1% (ácido acético glacial 45 ml; água destilada 55 ml; carmin 1,0 g).
- c.1.) Esmagar com uma espátula de ferro (o ferro funciona como mordente, necessário à aderência do corante).
- c.2.) Retirar o excesso de tecido da ponta da raiz com o auxílio de uma pinça.
- c.3.) Colocar uma lamínula (evitar a presença de bolhas de ar). Aquecer levemente para distender os cromossomos e haver distinção entre o núcleo e o citoplasma.
- c.4.) Retirar o excesso de corante com um pedaço de papel de filtro, fazendo ao mesmo tempo uma compressão sobre a lamínula.
- d) Exame ao microscópio: Examine as diversas fases da mitose procurando identificar cada uma delas. Desenhe-as.

AULA 11. MEIOSE e GAMETOGÊNESE

Nesta aula você fará observações das fases da meiose e a gametogênese em lâminas permanentes de *Lillium* sp. previamente focalizadas pelo Professor. Também irá preparar sua própria lâmina proveniente do processo de microsporogênese de milho.

1. Nos microscópios de nºs _____ até _____ estão focalizados as principais fases da macrosporogênese em *Lillium* sp. Faça um esquema mostrando o corte transversal do ovário, indicando a posição dos óvulos e respectivos sacos embrionários em formação. Em seguida, faça um esquema de cada fase observada, indicando os detalhes com setas e legendas.

2. Nos microscópios de nºs _____ até _____ estão focalizadas as principais fases da microsporogênese em *Lillium* sp. Faça um esquema de um corte transversal da antera, usando a objetiva 10X. Localize as paredes da antera, a posição de conectivo, os sacos polínicos e os microsporócitos em formação.

3. Viabilidade do grão de pólen

Nos microscópios nºs _____ e _____, podem ser observadas lâminas preparadas com suspensão de grão de pólen. Desenhe o que está observando. Quais as diferenças que Você nota entre as lâminas dos dois microscópios?

4. Há vantagens em se utilizar o órgão masculino em vez do órgão feminino para o estudo dos cromossomos meióticos?

5. Agora em dupla você irá preparar sua própria lâmina utilizando células na fase meiótica de flores de milho. Para tanto, siga o procedimento abaixo:

- Transfira para uma lâmina de microscopia uma espiguetta sobre uma gota de carmim propiônico 1% (se possível tentar separar as anteras que estarão dentro da espiguetta com auxílio de uma pinça);
- Esmague levemente as anteras para expulsão dos microsporócitos;
- Retire os fragmentos de tecidos da antera com uma pinça;
- Cobra a amostra com lamínula e aquecer levemente sob a chama da lamparina;
- Pressionar levemente entre papel filtro;
- Observe ao microscópio ótico.

a) Localize e esquematize as diferentes fases da meiose.

b) Em qual material foi mais fácil de observar as diferentes fases meióticas flores de lírio ou de milho? Justifique.

Faça um relatório de suas observações, respondendo as seguintes perguntas. O relatório deverá ser entregue na próxima aula prática

1. Represente esquematicamente a segregação em um indivíduo com $2n=8$ cromossomos, representando os cromossomos dos gametas paternos por **1, 2, 3, 4** (e desenhe-os a tinta) e os cromossomos dos gametas maternos por: **1', 2', 3', 4'** (e desenhe-os a lápis). Quais as conclusões que você tira deste exercício?

2. Nos quadros seguintes, preencha cada item de acordo com a fase da meiose. Siga as instruções do professor.

FASES	PRÓFASE I					METÁFASE I
	Leptóteno	Zigóteno	Paquíteno	Diplóteno	Diacinese	
Grau de condensação dos cromossomos						
Nº de cromossomos*						
Nº de centrômeros*						
Nº de cromátides						
Presença de nucléolo						
Presença de quiasmas						
Presença de bivalentes						
Outras características						

* Em termos de múltiplos de n ; na anáfase indicar o n° em cada polo.

FASES	ANÁF. I	TELÓF. I	PROF. II	METÁF. II	ANÁF. II	TELÓF. II
Grau de condensação dos cromossomos						
Nº de cromossomos*						
Nº de centrômeros*						
Nº de cromátides						
Presença de nucléolo						
Presença de quiasmas						
Presença de bivalentes						
Outras características						

* Em termos de múltiplos de n ; na anáfase indicar o n° em cada polo.

3. Quais subfases da prófase I você conseguiu localizar? Quais as diferenças da prófase I e prófase II??

4. Defina macrosporogênese e microsporogênese