

BIB0124 – Diversidade e Evolução dos Organismos Fotossintetizantes

TÉCNICAS DE DOCUMENTAÇÃO E CONFEÇÃO DE CORTES

A microscopia óptica só permite a observação de objetos transparentes ou translúcidos. Isto significa que material opaco deve ser previamente clarificado (diafanizado), e que material espesso deve ser cortado em secções finas para permitir a transmissão da luz.

Os cortes podem ser feitos com um equipamento especial, o micrótomo, ou à mão livre com lâminas de barbear novas. Em cortes à mão livre, materiais resistentes podem ser segurados com os dedos polegar e indicador e materiais delicados podem ser presos em um suporte macio e homogêneo, como isopor, medula de guapuruvú ou embaúba, etc. Para maiores detalhes assista o vídeo Preparação de Lâmina Histológica no site e-aulas da USP

(<http://www.eaulas.usp.br/portal/video.action?idItem=1827>).

Bons cortes podem também ser obtidos quando executados sob observação no esteromicroscópio: acomode o material sobre uma lâmina, prenda-o com o indicador e observe se o corte obtido é adequado para ser observado no microscópio. Em todos os casos, deve-se posicionar a lâmina de barbear em um ângulo aproximado de 90 graus em relação ao material, fazendo-se movimentos de corte contínuos e suaves com a mesma. Na lateral da lâmina de vidro, é recomendado que se coloque uma gota de água, pois, se os cortes estiverem razoavelmente finos, eles ficarão presos na lâmina de barbear e poderão ser desprendidos quando mergulhados na água. A lamínula pode ser depositada sobre essa gota, ou os cortes selecionados podem ser removidos com um pincel ou estilete e colocados sobre outra lâmina com água ou álcool 70% segundo o material. Para se obter um bom corte são necessárias numerosas secções, selecionando apenas as melhores.

BIB0124 – Diversidade e Evolução dos Organismos Fotossintetizantes

MONTAGEM EM LÂMINAS

O material a ser estudado deve ser montado em lâminas de vidro 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 depositando uma gota do meio de montagem sobre a lâmina com auxílio de um conta-gotas, e a seguir, o material a ser examinado, utilizando-se um estilete, pinça ou pincel. Se necessário, dissocia-se o material com dois estiletos, observando-se ao esteromicroscópio. A lamínula deve ser depositada de forma a evitar bolhas de ar. O excesso de líquido de montagem que eventualmente extravase pelas laterais da lamínula deve ser retirado com papel absorvente antes de sua observação no microscópio, evitando-se que a platina 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 junto à margem da lamínula. Do outro lado da lamínula encosta-se um pedaço de papel de filtro que por capilaridade promoverá a substituição.

Preparações semipermanentes são feitas evitando-se a evaporação do líquido de montagem. Nesse caso é importante empregar como líquido de montagem um fixador (formol 4%, cuidado! O formol é tóxico) para evitar a decomposição do material. A vedação da lamínula pode ser feita com esmalte de unha ou luto. Para isso, a lâmina e a face superior da lamínula devem estar bem limpas e secas. O luto é uma mistura de 1 parte de breu e 3 partes de cera de carnaúba, preparada à quente. O luto é fundido e aplicado com um triângulo de metal aquecido. Ao esfriar-se, endurece vedando o espaço entre lâmina e lamínula.

Uma preparação em lâmina pode ser mantida, ainda, por curtos períodos (uma semana ou menos) em uma câmara úmida feita em placa de Petri, especialmente quando o líquido de montagem for glicerina a 30%. Maiores concentrações de glicerina podem prejudicar a preparação.

BIB0124 – Diversidade e Evolução dos Organismos Fotossintetizantes

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.
- O líquido deve penetrar o espaço 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 **não** deve ser molhada.
- **Nunca** faça observações no microscópio óptico sem utilizar lamínulas na preparação da lâmina. A ausência da lamínula permite evaporação de líquidos que podem condensar nas objetivas, deixando-as úmidas.

REPRESENTAÇÃO GRÁFICA

Selecionar as partes e estruturas para documentar o estudo, iniciando pelo aspecto geral, em observação macroscópica, depois em esteromicroscópio (sempre acondicionados em placa de Petri) e, finalmente, ao microscópio. Nesse último, inicia-se com a objetiva de menor aumento, passando-se para aumentos maiores conforme o que se pretende observar.

Na maioria das aulas práticas não será empregada a objetiva de maior aumento (de imersão) porque ela requer o uso de óleo de imersão e só oferece boa imagem com cortes muito finos.

Os esquemas devem ser realizados a lápis, em preto e branco e em tamanho adequado a fim de poder representar todas as estruturas estudadas (recomenda-se que essas ocupem aproximadamente a metade de uma folha A4). As legendas das estruturas nunca devem faltar e devem ser indicadas por meio de traços bem visíveis e cuja extremidade se localize sobre a estrutura correspondente. Legendas gerais de cada uma das figuras devem ser incluídas abaixo delas, descrevendo objetivamente o

BIB0124 – Diversidade e Evolução dos Organismos Fotossintetizantes

que representa o esquema (ex. Corte transversal da alga vermelha *Gracilaria* sp.com aumento de 40X). Veja o exemplo a seguir.

Para avaliação, o desenho será avaliado por: apresentação (organização, deve incluir o título do trabalho, nome do aluno e período, integral ou noturno), qualidade dos desenhos macro e microscópicos (dependendo do caso), legenda(s) do(s) desenho(s), legendas das estruturas e inclusão do aumento.

