

Aula Prática N°2: Regeneração de Planárias

A regeneração é um processo pelo qual um organismo ‘reconstrói’ partes de seu corpo que tinham sido retiradas ou perdidas, e tais partes recuperadas apresentam a funcionalidade e morfologia da estrutura original. Esse processo inclui a regeneração de tecidos, órgãos ou estruturas complexas, como apêndices. A capacidade de regeneração varia entre os distintos grupos animais.

Algo muito importante mais ainda desconhecido nos processos de regeneração diz respeito à informação posicional com a qual deveria contar a estrutura que vai se regenerar. Além disso, não se sabe como essa informação posicional chega à estrutura que deve se regenerar ou como se define o que exatamente deveria se regenerar.

Distintas hipóteses foram propostas para explicar este fenômeno, sendo duas as principais: um modelo de gradiente difusivo e um modelo de coordenadas polares. No primeiro se considera que a informação posicional é obtida em função de um gradiente químico de difusão, sendo a informação posicional e de polaridade dada em função de como as distintas concentrações do gradiente se apresentam nas distintas estruturas do organismo. No modelo de coordenadas polares se considera que as células do organismo reconhecem sua posição por meio de um sistema de informação posicional que depende da combinação dos valores ou substâncias que determinam a localização nos eixos ântero-posterior e radial do organismo. É considerado que a informação está codificada em moléculas encontradas na superfície das células adjacentes a estrutura que requer regeneração.

Estes processos têm sido amplamente estudados nas planárias (Tricladida), já que se sabe que esses organismos têm uma alta taxa regenerativa, e são fáceis de se obter e manter em condições de laboratório. Nesta prática estudaremos (1) a *recuperação da fototaxia negativa durante a regeneração*, (2) a *recuperação da quimiorrecepção durante a regeneração*, e; (3) a *recuperação da mecanorrecepção durante a regeneração*.

Instruções iniciais:

1. Cada grupo deve ter 8 planárias. Separe as 8 planárias em dois grupos de 4 nas placas de petri com ajuda do pincel. Em uma das placas marque “controle”. Na outra placa, marque “corte”. As planárias da placa “corte” deverão ser cortadas ao meio com a gilete. Devolva a parte das cabeças para o recipiente indicando, fique apenas com as 4 caudas.

OBS: para cortar as planárias, coloque pouca água na placa de petri, evitando que elas bóiem ou nadem para longe.

2. Mantenha ambas as placas de petri cobertas para evitar o contato das planárias com a luz.

3. Você realizará 18 medições no total. Seis medições (3 medições com planárias controle e 3 com planárias cortadas) em cada tratamentos: fototaxia, quimiorrecepção e mecanorrecepção. A quarta planária “corte” e “controle” são apenas uma garantia, caso alguma morra.

Materiais

- Planárias (8 por grupo)
- Placa de Petri (3 por grupo)
- Placa de Petri com lixa
- Papel milimetrado (1 por grupo)
- Água destilada (2L para todos)
- Estereoscópio (1 por grupo)
- Cronômetros (1 por grupo)
- Álcool (1L para todos)
- Pincéis (1 por grupo)
- Lâminas de barbear (1 por grupo)
- Tubos Falcon de 50 ml (5 por grupo)
- Papel toalha
- Pipetas de plástico
- Luminária
- Canetas retroprojeter
- Fígado

Experimento 1 - Recuperação da fototaxia durante a regeneração:

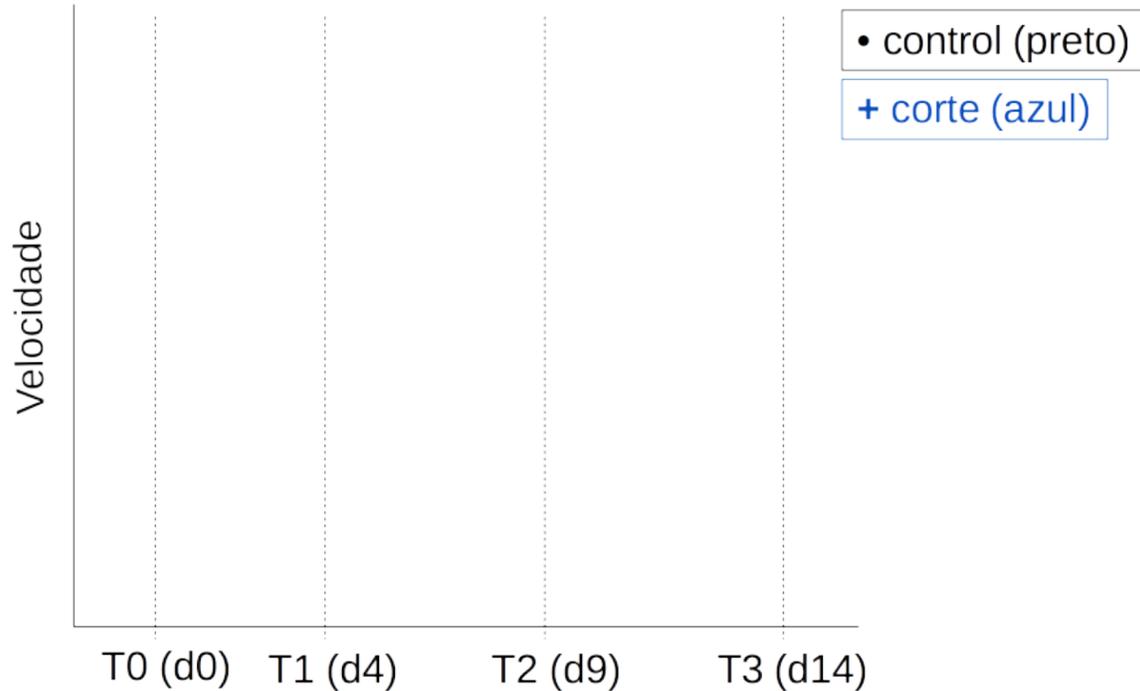
Metodologia

1. Pegue uma planária do controle 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 retroprojetera sobre a tampa da placa de Petri por 2 minutos. 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 controle.
5. Repita os passos 1-4 nas planárias cortadas (n=3) durante três tempos de regeneração (t₀ = após o corte; t₁=5 dias; t₂=10 dias; t₃=15 dias).

1. Complete a tabela:

Tratamento FOTOTAXIA	Velocidade verme 1	Velocidade verme 2	Velocidade verme 3	Velocidade média
<i>Tempo 0 (t0, após corte):</i>				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Presença olhos (sim/não/em formação):				
Outras observações morfológicas:				
<i>Tempo 1 (t1, 4 dias):</i>				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Presença olhos (sim/não/em formação):				
Outras observações morfológicas:				
<i>Tempo 2 (t2, 9 dias):</i>				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Presença olhos (sim/não/em formação):				
Outras observações morfológicas:				
<i>Tempo 3 (t3, 14 dias):</i>				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Presença olhos (sim/não/em formação):				
Outras observações morfológicas:				

2. Complete a Figura:



3. Analise as linhas dos percursos das planárias no papel milimetrado e **discuta-os** com os resultados das velocidades médias dos tratamentos. Quais são as razões para a variabilidade?

Experimento 2 - Recuperação da quimiorrecepção durante a regeneração:

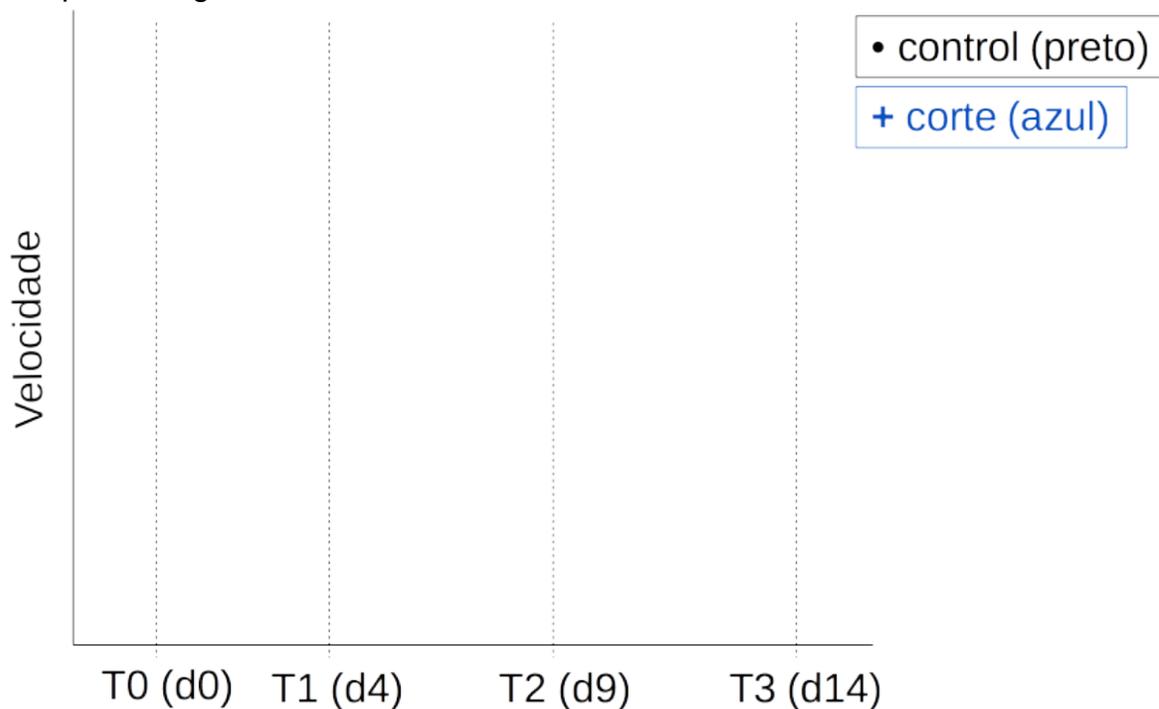
Metodologia

1. Pegue uma planária do controle e coloque-a a 1 cm de distância da lateral de uma placa de Petri com água destilada e um pequeno pedaço de fígado a 1 cm de distância da lateral da placa no lado oposto.
2. *Imediatamente* fechar a placa e desenhar o percurso da planária com a caneta retroprojetora sobre a tampa da placa de Petri por 2 minutos. Anote o tempo em segundos que o verme levou para chegar até o alimento.
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 controle.
5. Repita os passos 1-4 nas planárias cortadas (n=3) durante três tempos de regeneração (t0 = após o corte; t1=5 dias; t2=10 dias; t3=15 dias).

Complete a Tabela

Tratamento QUIMIORRECEPÇÃO	Velocidade verme 1	Velocidade verme 2	Velocidade verme 3	Velocidade média
Tempo 0 (t0, após corte):				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				
Tempo 1 (t1, 4 dias):				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				
Tempo 2 (t2, 9 dias):				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				
Tempo 3 (t3, 14 dias):				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				

4. Complete a Figura:



5. Analise as linhas dos percursos das planárias no papel milimetrado e **discuta-os** com os resultados das velocidades médias dos tratamentos. Quais são as razões para a variabilidade?

Experimento 3 - Recuperação da mecanorrecepção durante a regeneração:

Metodologia

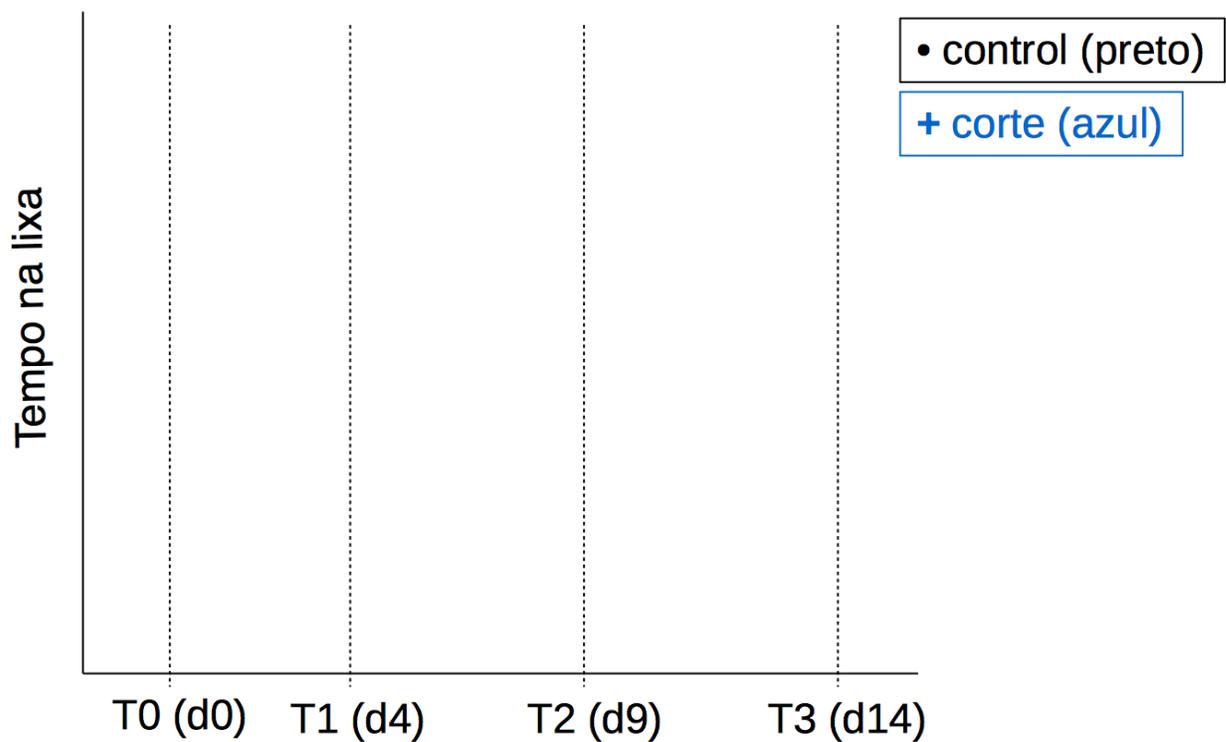
1. Pegue uma planária do controle e coloque-a na área da lixa a um centímetro do centro de uma placa de Petri com água destilada.
2. *Imediatamente* fechar a placa e desenhar o percurso da planária com a caneta retroprojetora sobre a tampa da placa de Petri por 3 minutos. Anote o tempo em segundos que o verme ficou na área com a lixa.
3. Desenhe o percurso da planária no papel milimetrado. Apague o percurso da tampa da placa de Petri com álcool, e repita o procedimento mais 2 vezes com as outras planárias controle.
4. Repita os passos 1-4 nas planárias cortadas (n=3) durante três tempos de regeneração (t0 = após o corte; t1=5 dias; t2=10 dias; t3=15 dias).

Complete a Tabela

Tratamento MECANORRECEPÇÃO	Tempo na lixa	Tempo na lixa	Tempo na lixa	Tempo médio na lixa
<i>Tempo 0 (t0, após corte):</i>				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				
<i>Tempo 1 (t1, 4 dias):</i>				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				

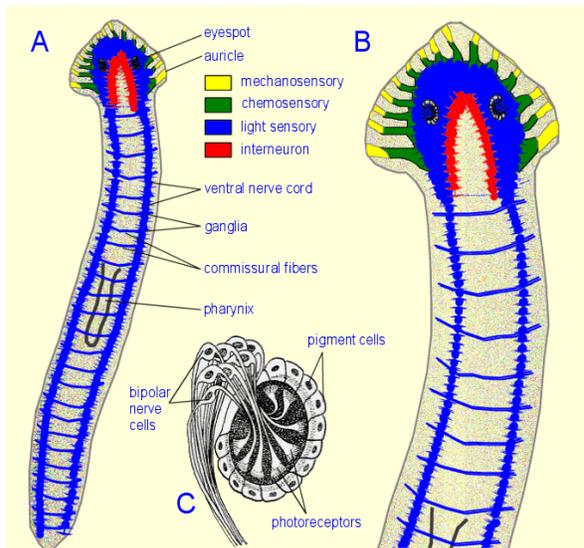
Tempo 2 (t2, 9 dias):				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				
Tempo 3 (t3, 14 dias):				
Controle (sem corte)				
Vermes cortados (caudas apenas)				
Observações morfológicas:				

6. Complete a Figura:



7. Analise as linhas dos percursos das planárias no papel milimetrado e **discuta-os** com os resultados das velocidades médias dos tratamentos. Quais são as razões para a variabilidade?

8. Usando as informações da organização do sistema nervoso da planária na figura abaixo e as informações que você reunir a partir de suas próprias observações sobre o comportamento de planárias durante a regeneração, construa um modelo (ilustrando um cenário hipotético) para mostrar como o sistema nervoso é regenerado a cada ponto experimental.



Source: (<http://sharon-taxonomy2010-p2.wikispaces.com/Platyhelminthes>)

MODELO: Desenhos dos animais (morfologia externa e cenário hipotético da regeneração do sistema nervioso)

Control:

“Corte” tempo 1 (t1, 4 dias):

“Corte” tempo 2 (t2, 9 dias):

“Corte” tempo 3 (t3, 14 dias):