

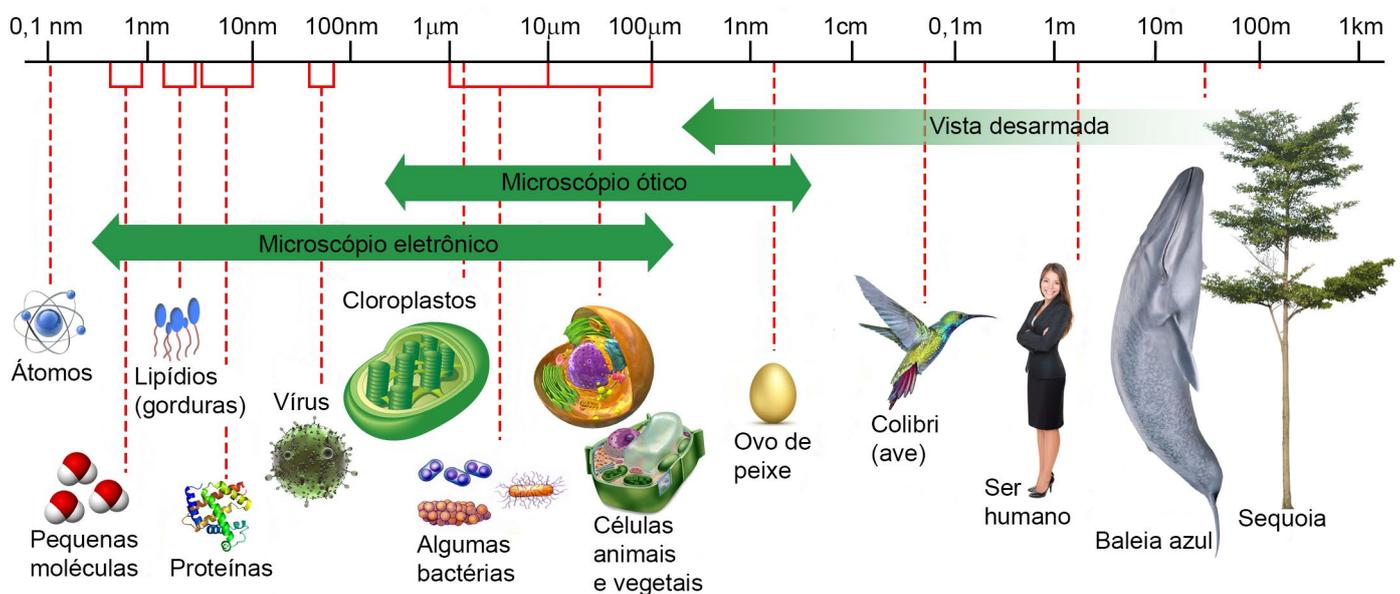
CITOLOGIA

Prof. Kennedy Ramos

UNIDADE 2: Microscopia

Considerações iniciais

A capacidade do olho humano em perfeitas condições permite a observação de objetos com dimensões mínimas de 0,1 mm (um décimo do milímetro). Ao apresentar tamanhos inferiores a 0,1 mm, o homem já não consegue enxergar a olho nu. E de fato existem seres de dimensões inferiores a essa medida, como a maioria das células, microrganismos, ovos de vermes parasitas intestinais, todos com forma e função diferentes. Para enxergar objetos menores que esta dimensão, existe aparelhos que possibilitam tornar visíveis tais corpos que o ser humano não consegue visualizar naturalmente. Estes aparelhos são conhecidos como microscópios.



Microscópio óptico e microscópio eletrônico

O microscópio óptico (M.O.) permite aumentar aproximadamente 1500 vezes e o microscópio eletrônico, por sua vez, permite aumentar as dimensões dos objetos em cerca de 100.000 vezes, entretanto. Existem dois tipos de microscópios eletrônico: o microscópio eletrônico de varredura (M.E.V), que ao invés da luz branca, utiliza um feixe de elétrons, corrigindo problemas de resolução decorrentes de luz branca utilizadas no óptico, além de permitir a visualização da imagem em um aspecto tridimensional; e o microscópio eletrônico de transmissão (M.E.T), que possibilita a aquisição de imagens com resolução muito superior às obtidas com microscópios ópticos comuns, em consequência da utilização de elétrons para a formação das imagens, fornecendo a mesma por meio das interações do feixe de elétrons com o material estudado, que geram raios-X característicos, dando as informações sobre os elementos químicos presentes na amostra.

É proibida a reprodução, total ou parcial, deste material

Partes do microscópio

O microscópio óptico é o mais utilizado nos laboratórios de biologia, e este apresenta partes essenciais, que são inerentes ao microscópio moderno:

Tubo ou canhão - nos microscópios que possuem uma só ocular (monoculares), o tubo é um cilindro metálico reto ou oblíquo. Nos microscópios que possuem duas oculares (binoculares) o tubo pode ser inclinado, com ajuste para os diferentes espaços entre os olhos de cada observados.

Estativa, braço ou coluna - suporte pesado que sustenta os tubos, a mesa, o porta-condensador e os parafusos micro e macrométrico.

Charriot - peça opcional localizada na mesa que serve para movimentar a lâmina para localização do campo de observação

Parafuso micrométrico - a movimentação deste parafuso permite uma focalização mais limitada e mais fina, pois o tubo desloca no máximo dois milésimos de milímetro.

Parafuso macrométrico - a movimentação deste parafuso permite uma focalização grosseira do material. Possui um percurso vertical com cerca de 7,5 cm.

Pé ou base - é o local de apoio do aparelho feito de ligas de metais pesados.

Espelho ou fonte de luz - peça encaixada por baixo do condensador. O espelho, quando presente, possui duas faces: uma plana e outra côncava. A face plana, usada nas grandes ampliações e na observação com sistema de imersão, colhe e projeta dos raios paralelos e divergentes. A face côncava colhe e projeta os raios convergentes sendo usada nas pequenas ampliações.

Lente ocular - encaixada na extremidade superior do tubo, sua função é aumentar a imagem formada pela objetiva. O aumento fornecido pela ocular está, geralmente gravado nela própria. Por exemplo: 5x, 8x, 10x, etc.

Revólver ou tambor - nele estão inseridas as lentes objetivas que podem ser movimentadas quando o tambor é girado. Este movimento deve ocorrer sempre no sentido da objetiva de menor para a de maior aumento.

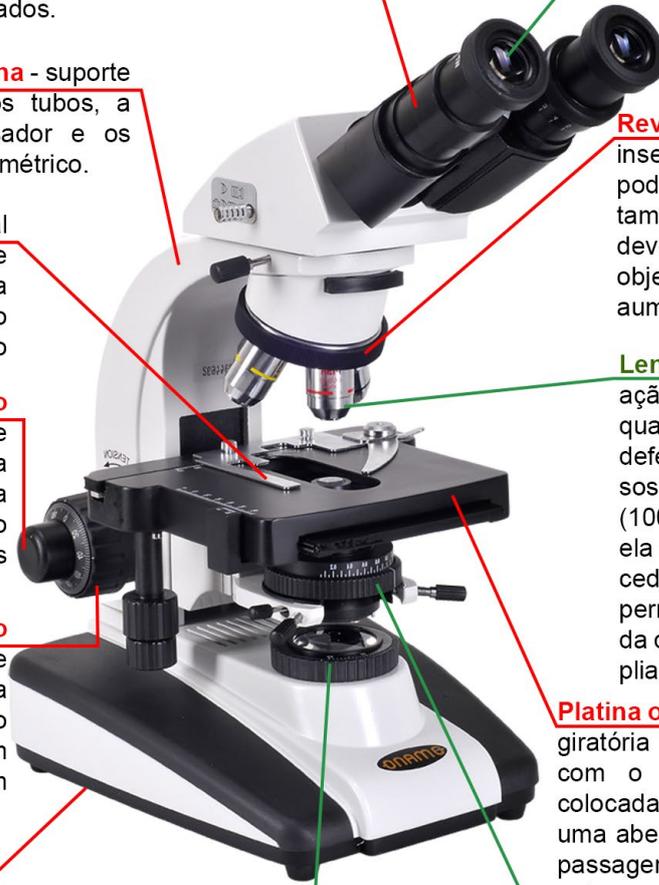
Lente objetiva - permite a ampliação da imagem de um objeto qualquer. Pode também corrigir os defeitos das cores dos raios luminosos. Para se utilizar a objetiva (100x) de imersão, coloca-se entre ela e a lamínula uma gota de óleo de cedro ou de imersão. Este sistema permite um maior aproveitamento da quantidade de luz com maior ampliação.

Platina ou mesa - pode ser fixa, móvel ou giratória no plano horizontal. A lâmina com o material a ser observado é colocada sobre a platina que apresenta uma abertura no seu centro permitindo a passagem de raios luminosos, coletados pelo espelho.

Condensador ou diafragma - localizado abaixo da platina cuja função principal é o fornecimento de uma grande quantidade de luz. Ao utilizar as objetivas de pequeno aumento, o diafragma deve ser fechado para eliminar os raios laterais. Em maiores ampliações, abre-se proporcionalmente o diafragma.

LEGENDA:

Parte mecânica
Parte óptica



Medidas em microscopia

Para calcular o aumento total da imagem, basta multiplicarmos o valor da objetiva com o valor da ocular. Entretanto, o simples fato de conhecermos o aumento com que se trabalha, não fornece o tamanho do objeto em observação. Na falta de lâminas milimetradas, nos reste outro recurso; avaliar a medida do objeto em relação ao diâmetro do microscópio, dado em milímetros (mm).

Ex: Se o diâmetro do campo é igual a 1,25 mm e o objeto equivale a 1/3 do campo, então o objeto é igual a $125 \text{ mm}/3 = 0,415 \text{ mm}$.

Lembrando que: 1 milímetro (mm) = 1000 (µm).

Algumas unidades de medida usadas em microscopia:

- 1 µm = 0,001 mm (milésima parte do milímetro).
- 1 nm = 0,001 µm (milésima parte do micrômetro).
- 1 Å (Ângstron) = 0,1 nm (décima parte do nanômetro).

A imagem formada pelos microscópios é formada pelo resultado de sucessivas reflexões dos prismas existentes em seu interior, possibilitando assim, o seu aumento e, posteriormente a sua visualização.



ATIVIDADES PROPOSTAS



01. (Ufop) Nas preparações histológicas de rotina, dois corantes são amplamente utilizados: a HEMATOXILINA, um corante de caráter básico que cora estruturas celulares de caráter ácido, e a EOSINA, um corante de caráter ácido que cora estruturas celulares de caráter básico, como, por exemplo, as mitocôndrias. Em uma célula com alta atividade metabólica de síntese de proteínas, a HEMATOXILINA irá atuar no

- a) núcleo e centríolos.
- b) núcleo e ergastoplasma.
- c) núcleo e membrana celular.
- d) citoplasma e membrana celular.
- e) complexo de golgi e centríolos.



02. (cftce) Sobre a Citologia, pode-se inferir que:

- a) teve grande impulso com o advento das microscopias óptica e eletrônica, que tornaram possível a visualização de estruturas intracelulares.
- b) o estudo da membrana plasmática também é feito pelos citologistas, mesmo essa estrutura não fazendo parte da célula.
- c) para se trabalhar com microscopia óptica, às vezes, não é necessário o uso de corantes, pois, devido à diminuta espessura de uma célula, sua visualização pode se tornar difícil e imprecisa.

- d) glicocálice, flagelos e cílios não são estruturas celulares.
- e) a Citologia não serve como base para nenhuma outra matéria.



03. (cftce) Em relação à técnica microscópica de observação celular conhecida como "observação a fresco", pode-se inferir que:

- a) o material biológico deverá ser fixado.
- b) é também conhecida como observação não vital.
- c) as células são observadas vivas.
- d) não exige corantes.
- e) não muito usada para o exame microscópico preliminar de células microbianas.



04. (Pucpr) Ao microscópio óptico, ao ser observado um certo tecido, em corte transversal, foi possível identificar as seguintes características citológicas:

- I - Células vivas.
- II - Membranas celulósicas cutinizadas.
- III - Citoplasma sem cloroplasto.
- IV - Células intimamente unidas.

Baseado nessas características, pode-se inferir que:

- a) É epiderme vegetal.
- b) Pode se tratar de um tecido animal.
- c) Corresponde ao floema responsável pelo transporte da seiva elaborada.
- d) É o meristema primário responsável pelo crescimento do vegetal.
- e) É o meristema secundário responsável pelo crescimento do vegetal em espessura.



05. (Uel) Das estruturas celulares a seguir, aquela cuja existência foi revelada pelo microscópio eletrônico é

- a) o nucléolo.
- b) a cromatina.
- c) a mitocôndria.
- d) o centríolo.
- e) o retículo endoplasmático.



ATIVIDADES ENEM



06. (MODELO ENEM) A invenção do microscópio óptico é atribuída aos holandeses Zacharias Janssen e seu pai, por volta do ano 1590. O microscópio eletrônico de transmissão foi inventado no início dos anos 1930 pelo alemão Ernest Ruska. Mais importante que a capacidade de aumento de um microscópio é o seu poder de resolução, ou seja, a capacidade de distinguir dois pontos próximos como se estivessem separados.

Com relação a estes instrumentos, na microscopia

- a) óptica, a observação com uma objetiva de 40x e uma ocular de 10x resulta em um aumento final de 400x.
- b) eletrônica, para a observação de células, é preciso apenas garantir que elas estejam bem separadas entre si.
- c) eletrônica de transmissão, em vez da luz comum utilizam-se luz polarizada e corante fluorescente para distinguir partes de uma célula.
- d) óptica permitem aumentos da ordem de 5.000x, o que torna possível visualizar, por exemplo, a estrutura da membrana nuclear.
- e) óptica, é possível visualizar, com o auxílio de corantes fluorescentes, a estrutura molecular das proteínas.



07. (MODELO ENEM) O desenvolvimento da microscopia trouxe uma contribuição significativa para o estudo da Biologia.

Microscópios ópticos que usam luz visível permitem ampliações de até 1.000 vezes, sendo possível observar objetos maiores que 200 nanômetros.

Os componentes celulares que podem ser observados em uma preparação que contém uma película extraída da epiderme de uma cebola, utilizando-se um microscópio de luz, são

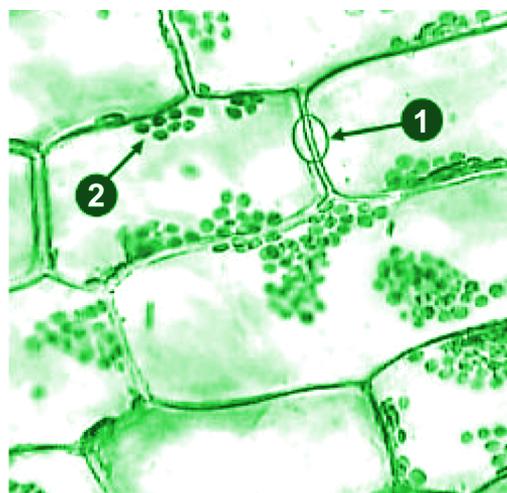
- a) glicocálix e parede celular.
- b) leucócitos e hemácias.
- c) parede celular e vacúolos.
- d) mitocôndria e vacúolos.
- e) cloroplasto e parede celular.



08. (MODELO ENEM) A arte é uma atividade na qual os seres humanos manifestam de diferentes formas seus

sentimentos, ideais e emoções. Os biólogos expressam sua arte utilizando, por exemplo, as micrografias, que são fotos tiradas das lâminas que estão sendo observadas através dos microscópios. Em alguns congressos sobre microscopia, existem até concursos para escolher a melhor micrografia.

A micrografia apresentada, feita ao microscópio óptico, evidencia células da folha de uma plantinha aquática chamada Elódea. Nessas células, é possível observar algumas estruturas numeradas que não são encontradas nas células animais.

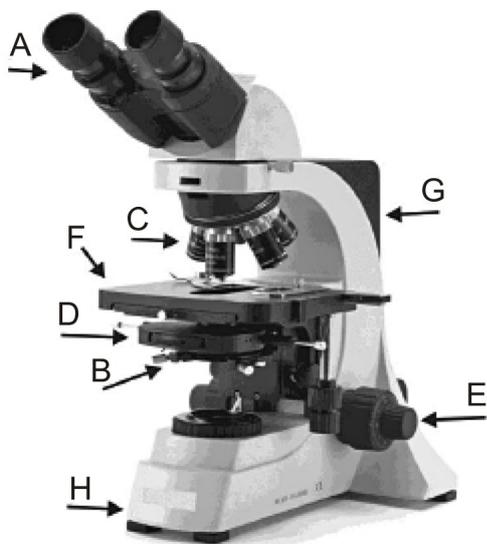


Nessa micrografia, as estruturas celulares numeradas por 1 e 2 são denominadas, respectivamente,

- a) núcleo e mitocôndrias.
- b) parede celular e cloroplastos.
- c) retículo endoplasmático e plastos.
- d) complexo golgiense e ribossomos.
- e) membrana plasmática e centríolos.



09. (MODELO ENEM) A construção do microscópio composto ou binocular por Robert Hooke, em 1663, permitiu a visualização de estruturas até então desconhecidas pelos cientistas, a partir da utilização de lentes de grande aumento. Com o advento da microscopia, os pesquisadores, após vários estudos em muitos tipos de plantas e animais, lançaram a ideia de que todos os seres vivos são formados por pequenas unidades chamadas células. Essa constatação foi possível graças à possibilidade gerada pela combinação de duas partes (A e C) do microscópio ótico.



O sistema de lentes A e C, responsável pelo aumento final de uma célula, é chamado, respectivamente, de

- diafragma e condensador.
- objetiva e condensador.
- condensador e ocular.
- ocular e diafragma.
- ocular e objetiva.



10. (MODELO ENEM) Muitos eventos e estruturas biológicas são menores do que pode o olho humano enxergar, cujo poder de resolução fica em torno de $100\mu\text{m}$. O microscópio ótico aumenta esse poder para cerca de 200nm ($0.2\mu\text{m}$), limitado pelo comprimento da luz visível ($0.4\text{--}0.7\mu\text{m}$). O microscópio eletrônico pode aumentar esse poder para 2nm ($0.002\mu\text{m}$) pela substituição do feixe de luz por um feixe de elétrons.

Assinale a alternativa em que a estrutura biológica pode ser visualizada pelo recurso indicado a seguir.

- Vírus, pelo microscópio ótico.
- Mitocôndrias, pelo microscópio ótico.
- Delimitação do núcleo, pelo microscópio ótico.
- Molécula de glicose, pelo microscópio eletrônico.
- Espermatozoide, a olho nu.



GABARITOS

QUESTÃO 01: GABARITO: [B]

Comentário: A HEMATOXILINA é um corante básico, portanto, cora estruturas com caráter ácido (o núcleo) enquanto a EOSINA é um corante ácido e atuará sobre substâncias de caráter básico.

QUESTÃO 02: GABARITO: [A]

Comentário: A Citologia avançou muito depois que surgiu o microscópio.

QUESTÃO 03: GABARITO: [C]

Comentário: O exame a fresco é um método muito simples, consistindo na observação ao microscópio de células, pequenos organismos vivos ou fragmentos de tecidos vivos.

QUESTÃO 04: GABARITO: [A]

Comentário: A epiderme vegetal possui parede celulósica cutinizada. A cutina é uma substância impermeabilizante que fica em cima da parede celular, para impedir a desidratação.

QUESTÃO 05: GABARITO: [E]

Comentário: O retículo endoplasmático é uma organela com baixo poder de resolução, vista apenas em microscópio eletrônico.

QUESTÃO 06: GABARITO: [A]

Comentário: O aumento final obtido pelas lentes utilizadas na microscopia ótica é o resultado da multiplicação dos aumentos proporcionados pelas lentes ocular e objetiva.

QUESTÃO 07: GABARITO: [C]

Comentário: No microscópio de luz a parede celular e vacúolos são visíveis, pois são grandes em relação as outras estruturas vegetais.

QUESTÃO 08: GABARITO: [B]

Comentário: As estruturas 1 e 2, observadas no tecido vegetal são, respectivamente, a parede celular celulósica e os cloroplastos.

QUESTÃO 09: GABARITO: [E]

Comentário: As lentes apontadas pelas letras A e C são, respectivamente, denominadas ocular e objetiva.

QUESTÃO 10: GABARITO: [C]

Comentário: A delimitação do núcleo pode ser vista no microscópio óptico.

REFERENCIAL TEÓRICO

ALBERTS, B.; BRAY, D.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS; WALTER, P.; Biologia Molecular da Célula. Porto Alegre: Artmed, 5ed. 2008.

COOPER G.M. & HAUSMAN R.E. A Célula: uma abordagem molecular. 3ed. Porto Alegre, Artmed, 2007

TAIZ, L.; ZEIGER, E. Fisiologia vegetal. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

JUNQUEIRA L.C.U., CARNEIRO J. Biologia Celular e Molecular. 6ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2005.

JUNIOR, C.S.; SASSON, S.; JUNIOR, N.C. Biologia VOL 1 – 9º Ed. São Paulo, Saraiva, 2010.

JUNIOR, C.S.; SASSON, S.; JUNIOR, N.C. Biologia VOL 2 – 9º Ed. São Paulo, Saraiva, 2010

LOPES, S.; ROSSO, S.; BIO volume 2. 1. Ed. São Paulo: Saraiva, 2010.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 1: Biologia das Células 2. Ed. São Paulo: Moderna, 2004.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 1: Biologia das Células 2. Ed. São Paulo: Moderna, 2010.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 2: Biologia dos Organismos 3. Ed. São Paulo: Moderna, 2004.

AMABIS, J.M.; MARTHO, G.R.; Biologia volume 2: Biologia dos Organismos 3. Ed. São Paulo: Moderna, 2010.

LINHARES, S.; GEWANDSZNAJDER, F.; Biologia, volume único 1. Ed. São Paulo: Ática, 2011.

DOS SANTOS, F.S.; VICENTIN, J.B; DE OLIVEIRA, M.M.A. Ser Protagonista- Biologia (ensino médio) – Vol 2. 1º edição, São Paulo, Edições SM, 2010.