

MICROSCOPIA E PREPARAÇÃO DE LÂMINA HISTOLÓGICA VEGETAL

A Biologia é considerada uma das disciplinas que mais contribui com o avanço intelectual da humanidade, pois muitas das suas descobertas servem como base para o desenvolvimento de hipóteses e teorias que podem ser utilizadas para a construção do conhecimento em outras disciplinas, tais como as ciências médicas e comportamentais. Grande parte do avanço no campo das ciências biológicas só foi possível a partir do momento que cientistas passaram a empregar técnicas específicas que permitiram superar algumas das maiores limitações dos estudos dos seres vivos ao nível celular. Mais precisamente, esses estudos apresentavam como principal desafio o pequeno tamanho das dimensões celulares em oposição à grande espessura dos tecidos, além de que a grande maioria dessas estruturas carece de contraste (ou seja, são transparentes). Felizmente, essas limitações foram superadas com o advento do microscópio óptico (microscópio de luz), que permite a observação de detalhes difíceis de serem detectados e identificados quando observados a olho nu.

Apesar dos grandes avanços no estudo das células e tecidos dos seres vivos, o sucesso na observação dessas estruturas depende do correto manuseio do microscópio óptico. Para tal, é necessário que o estudante ou profissional conheça as estruturas do microscópio e o modo como estas operam. O microscópio é formado por diversas estruturas (veja a Figura 1). As lentes são, sem dúvida alguma, as partes mais importantes do microscópio, visto que a observação da imagem ampliada de um objeto ou estrutura somente é possível quando há uma combinação de diferentes tipos de lentes. Uma dessas lentes é a objetiva, a que mais se aproxima ao objeto a ser examinado. Essa lente opera em conjunto com a lâmpada (que está embutida no aparelho) e com o condensador de luz, os quais formam um cone de luz finamente definido e que concentra a luz justamente em direção à amostra. A passagem da luz pela amostra e, em seguida, pela lente objetiva, faz com que a imagem real seja projetada,

invertida e aumentada em um plano fixo dentro do próprio microscópio. Na outra extremidade do microscópio fica a lente ocular; esta serve para que a imagem real projetada pela lente objetiva seja aumentada. Em outras palavras, a lente ocular produz uma imagem secundária aumentada, que é então captada pelos olhos de quem está observando. É necessário ressaltar que o observador precisa tomar nota do aumento total que foi necessário para observar a imagem. Para tal, basta multiplicar o aumento da lente ocular pelo aumento da lente objetiva. A esse ponto você, já deve ter notado que as lentes objetivas diferem na magnitude do seu aumento. Em geral, os microscópios possuem lentes de três aumentos: 10x, 40x e 100x.

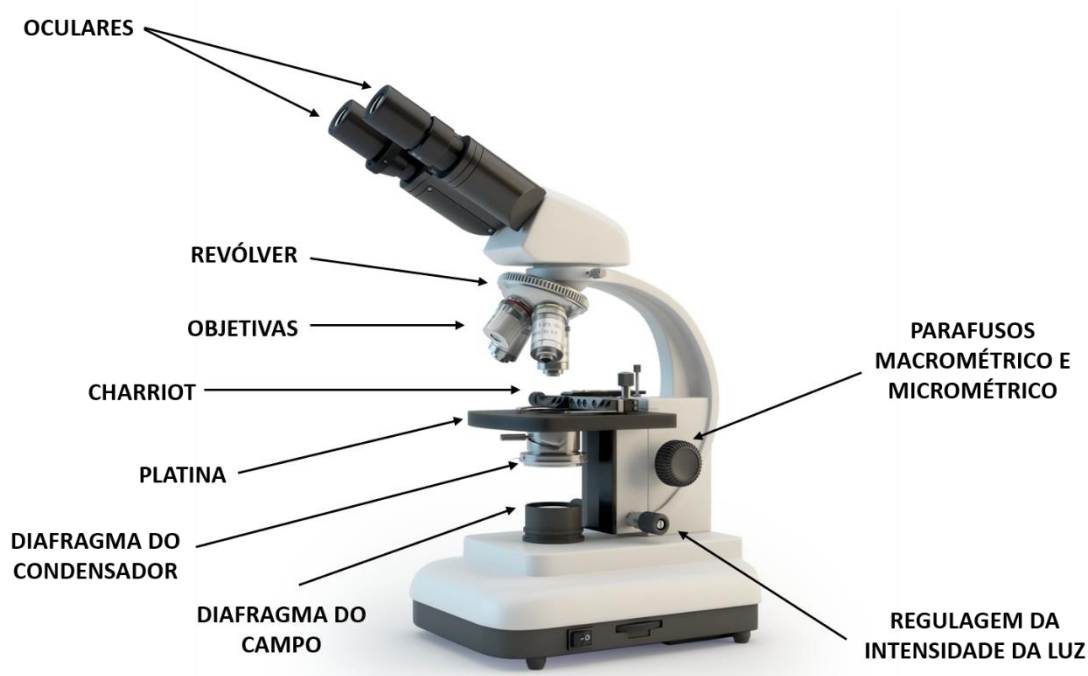


Figura 1 – Microscópio óptico e seus componentes.

Uma das etapas mais importantes de estudos histológicos e de citologia é a preparação das lâminas que conterão o material biológico a ser analisado. De maneira geral, uma boa lâmina é aquela que possui o material biológico em estado considerado adequado para a visualização das estruturas do organismo. Para tanto, é necessário, primeiramente, realizar o corte que mais esteja adequado ao tipo de análise em questão. Nas plantas, os principais tipos de cortes utilizados em estudos anatômicos e/ou histológicos são: corte transversal, que é aquele perpendicular ao maior eixo da amostra (Figura 2a); corte longitudinal, que é realizado paralelamente ao maior eixo da

amostra (Figura 2b); corte tangencial, que é utilizado em amostras onde o objeto não é cilíndrico e, por esse motivo, o corte longitudinal passará paralelamente em relação ao eixo sem passar por ele (Figura 2c); e o corte radial, que também é utilizado em objetos cilíndricos, mas o corte longitudinal passará pelo diâmetro do objeto (Figura 2d).

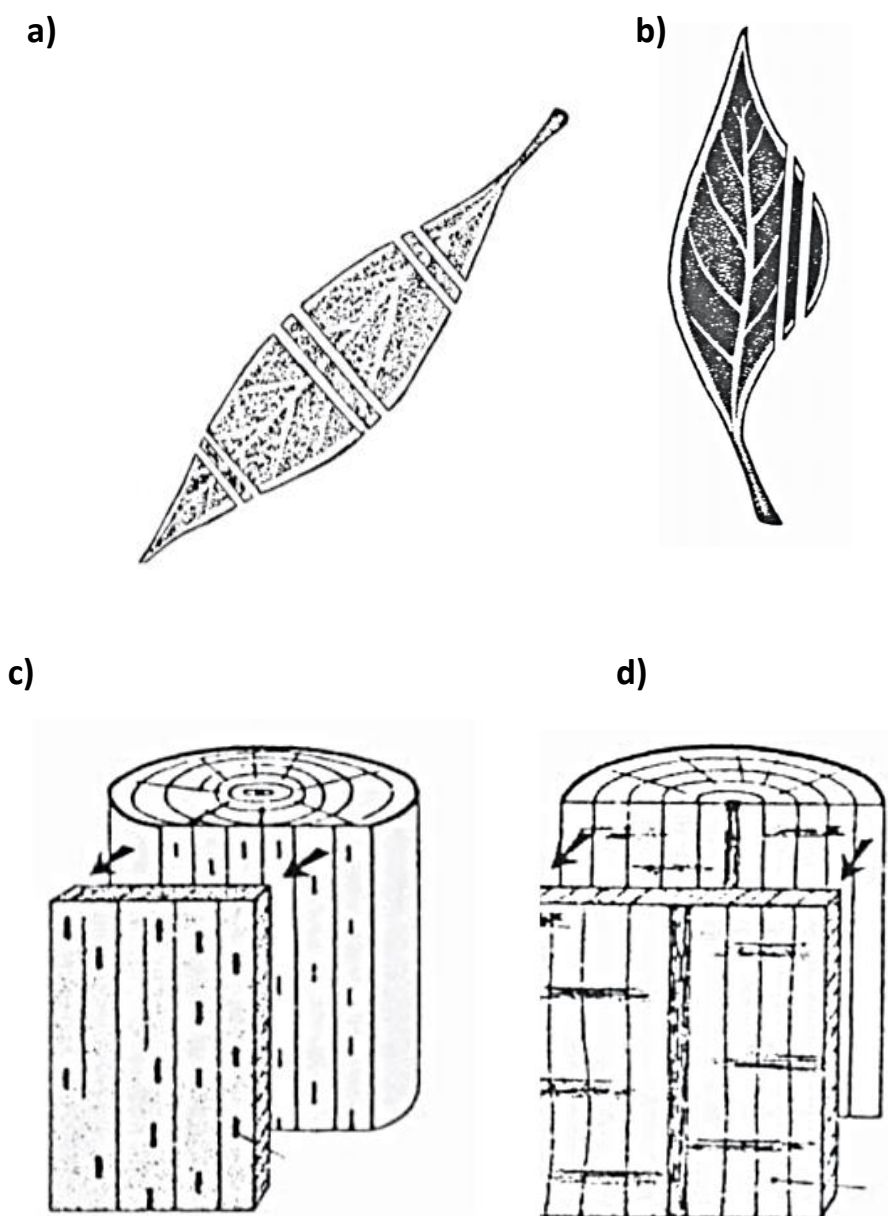


Figura 2 – Tipo de cortes utilizado em estudos da anatomia e histologia de plantas: (a) transversal; (b) longitudinal; (c) tangencial; (d) radial.

Outra questão importante no que diz respeito à preparação de lâminas histológicas é que estas podem ser utilizadas para períodos curtos (temporário) ou longos (permanente). Nas lâminas temporárias, geralmente são realizadas observações em período curto antes que o material sofra algum tipo de manipulação que possa resultar em alterações ou danos às suas estruturas; já nas lâminas permanentes, espera-se que o material possa ser utilizado por períodos mais longos e que a conservação do espécime possa ser garantida.

A utilização de técnicas de microscopia visando a observação de estruturas de tecidos geralmente é acompanhada da fase de coloração dos mesmos. Para isso, são utilizadas soluções corantes que tornam os tecidos visíveis em microscópio. Essas colorações geralmente são feitas com a utilização de uma solução básica (que se ligará às substâncias químicas ácidas presentes nas células) e de outra solução ácida (que se ligará às substâncias químicas básicas).

Após conhecer esses pontos, é hora de utilizar o microscópio. A utilização deste requer alguns passos básicos, os quais devem ser executados em uma sequência lógica. São eles:

- i) Verificar se o microscópio está ligado à energia elétrica;
- ii) Verificar a presença de luz a partir do controle de intensidade de iluminação;
- iii) Certificar se a lente objetiva de menor aumento está corretamente posicionada;
- iv) Ligar o microscópio e girar o parafuso macrométrico até que a platina seja completamente abaixada; após, colocar a lâmina na platina; é importante que a lâmina esteja voltada para cima;
- v) Ajustar o foco de observação utilizando o parafuso macro e micrométrico e também ajustar a intensidade de luz, para que a iluminação esteja a mais adequada possível;
- vi) Utilizar os parafusos do *Charriot* (que é um anexo do microscópio que possui presilhas de fixação e permite ao usuário controlar com precisão a posição de observação dos objetos), para examinar a lâmina e selecionar a área que deverá ser observada com o maior aumento; é importante que a

área a ser observada esteja no campo central e com foco adequado antes de executar a transição para o aumento seguinte;

- vii) Executar a transição para os aumentos de 40x e de 100x da mesma forma como foi realizado na etapa anterior; para o aumento de 100x, é extremamente importante utilizar o óleo de imersão. Se por acaso a visualização nesse aumento não seja possível, então você deverá retornar aos passos anteriores e reiniciar o processo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AZEVEDO, Aristéa Alves et al. **Anatomia das espermatófitas**: exercícios práticos. Viçosa (MG): Imprensa Universitária, 1993.

BENCHIMOL, Marlene et al. **Métodos de estudo de célula**. Editoração eletrônica. Fenorte/UENF. 1996.

GRIMSTONE, Albert Victor. **O microscópio eletrônico em biologia**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 1980.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.p.2-4.

LEAL, Luiz Henrique Monteiro. **Fundamentos de microscopia**. Rio de Janeiro: UERJ, 2000.

VALLE, Francisco das Chagas. **Práticas de citologia e genética**. Rio de Janeiro: MEDSI, 2001.