

"Seja qual for o caminho que tomemos, o nosso destino estará indissoluvelmente ligado à ciência. (...)  
A ciência é um prazer.(...) O espírito da ciência é o de se autocorrigir. Novos resultados experimentais e novas ideias estão constantemente a resolver mistérios antigos."

(Sagan, Carl; Cosmos)

## Actividade Laboratorial – Biologia e Geologia 10º Ano



# AS DIMENSÕES EM BIOLOGIA



### O que se pretende

- 1 **Seleccionar material** adequado à significação das dimensões dos objectos em Biologia.
- 2 **Descrever o procedimento** necessário à compreensão das ordens de grandeza em Biologia.
- 3 **Preparar experimentalmente** uma actividade experimental que desvende as limitações do mundo macroscópico (olho humano) face ao "invisível" mundo microscópico.
- 4 **Utilizar e converter as subunidades do milímetro.**

### Verificar significados...

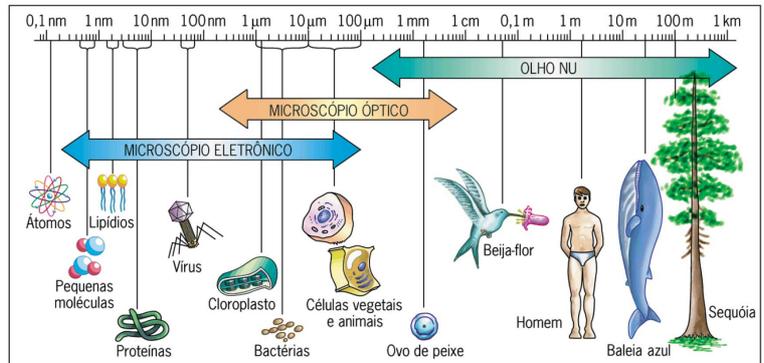
- 5 Escrever **breves descrições** dos seguintes termos:

Termo	Breve descrição
<b>Poder ampliação</b>	Capacidade de um aparelho aumentar n vezes uma imagem. A ampliação dada pelo microscópio é igual ao produto da ampliação da objectiva pela ampliação da ocular. Ex.: Ampliação da ocular: 10 x ; Ampliação da objectiva: 15 x Ampliação do microscópio: 10 x 15 = 150 x A objectiva aumenta a imagem do objecto e a ocular aumenta a imagem que recebe da objectiva.
<b>Poder de resolução</b>	Capacidade de um aparelho fornecer imagens distintas de dois pontos distintos.
<b>Limite de resolução</b>	Distância mínima a que dois pontos podem estar para que o aparelho (m.o.c.) os mostre individualizados.
<b>Macrométrico ou Cremalheira</b>	Engrenagem que suporta o tubo e que permite a deslocação da platina. É indispensável para fazer a focagem.
<b>Micrométrico</b>	Engrenagem que imprime à platina movimentos de amplitude muito reduzida, completando a focagem. Permite explorar a profundidade de campo do microscópio.
<b>Revólver</b>	Disco adaptado à zona inferior do tubo, suportando 2 a 4 objectivas de diferentes ampliações e que por rotação possibilita trocar rápida e comodamente de objectiva.
<b>Células Macroscópicas</b>	Células observadas sem necessitar de utilizar lupa ou microscópio.
<b>Células Microscópicas</b>	Células que apenas se observam com o auxílio de instrumentos de ampliação.

## Introdução (facultativo no guião do aluno)

É tanto mais difícil ter uma intuição, atribuir uma significação às dimensões dos objectos quanto mais essas dimensões se afastam de uma escala que esteja próxima dos objectos com que lidamos mais frequente. Daí que por comodidade a unidade mais utilizada no mundo seja o metro.

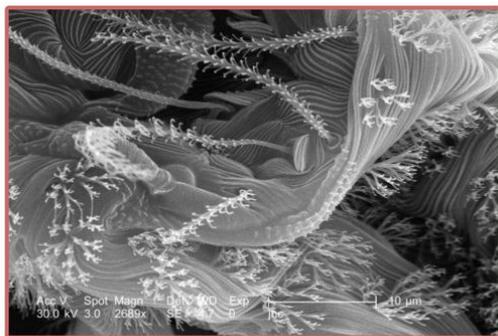
Todavia estruturas biológicas, pelas suas dimensões, agrupam-se em dois grandes grupos macroscópicas, isto é, visíveis ao olho humano e microscópicas, ou seja, invisíveis ao olho humano, tendo como fronteira o poder de resolução do olho humano.



Níveis de resolução do olho nu e dos microscópios óptico e electrónico.  
Fonte: Biologia César e Sezar, editora Saraiva

Mas veja-se...

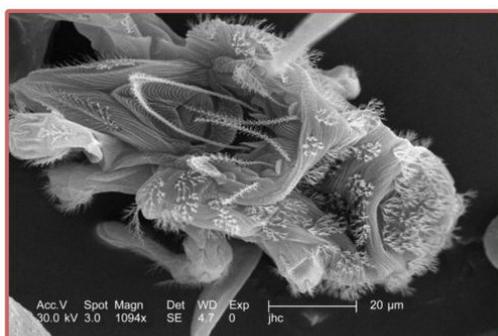
## A Beleza Feérica das Criaturas Humildes



Nanorchestes sp. Fotografia: Janice Carr  
Fonte: CDC/ William L. Nicholson Cal Welbourn, Gary R. Mullen.

“(...) Esta fabulosa paisagem parece um local de sonho, assim à primeira vista fez-me pensar em corais e algas. Só que esta paisagem não tem nada que ver com recifes submarinos, e a primeira pista encontra-se no traço que serve de escala, são dez micrómetros ( $10\ \mu\text{m}$ ), que é como quem diz um centésimo de milímetro ( $0,01\text{mm}$ ). Esta é uma microfotografia, com uma ampliação de 2689 vezes, obtida por um microscópio de electrões. O que são então estas delicadas estruturas de uma beleza inegável?

Posso desde já avançar que são de origem animal. Para perceber bem de que criatura se trata é preciso reduzir um bocadinho a ampliação da imagem.

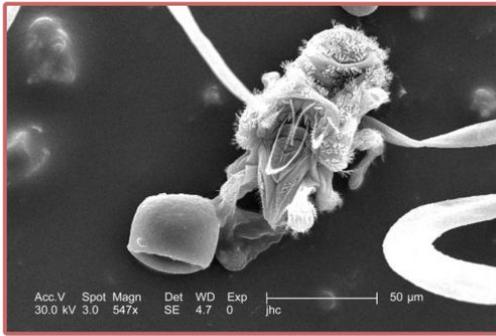


Nanorchestes sp. Fotografia: Janice Carr  
Fonte: CDC/ William L. Nicholson Cal Welbourn, Gary R. Mullen.

Eis então, aqui, uma fotografia com uma ampliação de "apenas" 1094 vezes, o que nos permite um maior distanciamento.

O que estamos a ver é um ácaro minúsculo do género *Nanorchestes*. A escala são 20 micrómetros ou seja 2 centésimos de milímetro.

As estruturas que se assemelham a corais são ornamentações que estes ácaros possuem no dorso do seu exoesqueleto quitinoso. Estas criaturas são inofensivas, vivem no solo e alimentam-se de fungos e detritos vegetais. A cabeça do animal está nesta fotografia à esquerda, e a riqueza de detalhes, os padrões morfológicos intrincados, são das coisas mais bonitas que já vi.



Nanorchestes sp. Fotografia: Janice Carr  
Fonte: CDC/ William L. Nicholson Cal Welbourn, Gary R. Mullen.

Eis aqui uma visão um pouco mais longínqua deste *Nanorchestes*, no seu mundo onde um grão de poeira ou de pólen são coisas gigantes: aqui a ampliação é de apenas 547 vezes, e a escala são cinco centésimos de milímetro. O lado da cabeça do bicharoco é o que está mais próximo de nós e em baixo.”

Artigo de D. E. Rounsevell e Penelope Greenslade na revista *Hydrobiologia* (ref1).  
Numa adaptação da tradução livre do resumo.

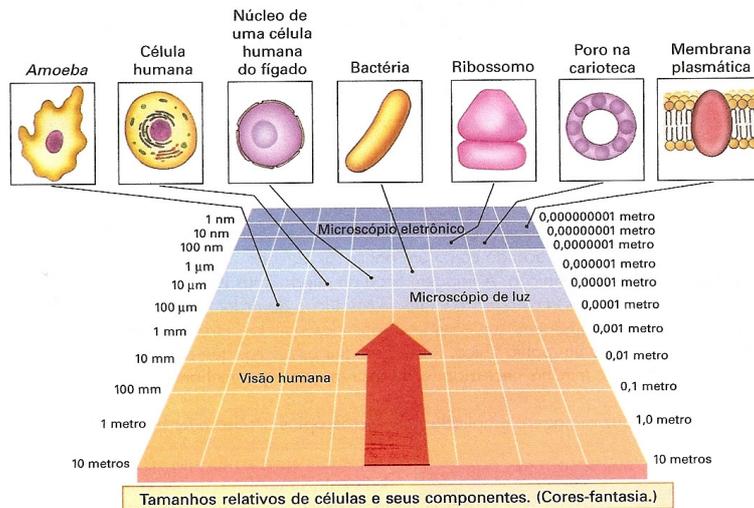
Pelo exposto as unidades de medida utilizadas em objectos destas dimensões terão de ser adaptadas, sendo que as mais frequentes são o micrómetro ( $\mu\text{m}$ ) para a microscopia óptica e o nanómetro ( $\text{nm}$ ) e o angstrom ( $\text{Å}$ ) para a microscopia electrónica. A sua relação com a unidade fundamental do sistema métrico, o metro (m) e com o milímetro (mm) é a seguinte:

$$1 \mu\text{m} = 10^{-6} \text{ m} = 10^{-3} \text{ mm} (0,001 \text{ mm})$$

$$1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m} = 10^{-6} \text{ mm} (0,000001 \text{ mm})$$

$$1 \text{ Å} = 10^{-10} \text{ m} = 10^{-7} \text{ mm} (0,0000001 \text{ mm})$$

Assim a figura, em baixo, desvenda-nos algumas estruturas biológicas, que fruto das suas reduzidas dimensões se tornam, invisíveis à vista desarmada (olho nu).



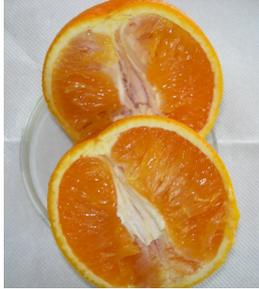
Na actividade laboratorial que, seguidamente, propomos aborda-se o mundo microscópico. E, muito em especial, as dimensões das estruturas celulares que, salvo raras excepções como é o caso da *Acetabularia*, da gema do ovo e de alguns feixes líbero-lenhosos, são invisíveis ao olho humano, daí a necessidade de utilização do microscópio uma vez que o limite de resolução do olho humano é apenas de 100  $\mu\text{m}$  (0,1 mm).

Contudo, em termos de formação de imagem, é fundamental que se entenda, também, o significado de três conceitos muito importantes em microbiologia, que são: o **poder de ampliação**, o **poder de resolução** e o de **limite de resolução**.

## Procedimento Experimental

6 Fazer uma **lista do material** a utilizar, tendo em conta o procedimento exemplificado nas fotografias seguintes.

6.1



Cortar uma laranja ao meio e observar os alvéolos (células<sup>1</sup>).  
Classificar quanto às dimensões.

Faca e laranja.

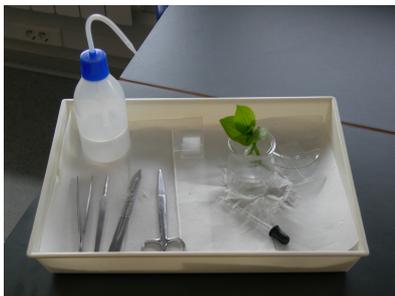
6.2 Partir para o interior de uma tina um ovo. Observar a gema.

Tina e ovo.

6.3 Introduzir, com a ajuda de um esguicho, água destilada num vidro de relógio de modo a recobrir o fundo.

Esguicho com água destilada e vidro de relógio.

6.4



Fazer uma incisão superficial na epiderme<sup>2</sup> de *Transdescantia sp*, planta ornamental conhecida vulgarmente como erva-da-fortuna, disponibilizada no tabuleiro. Extrair cuidadosamente, com a ajuda de um bisturi e de uma pinça, um fino fragmento dessa epiderme. Cuidar para não remover simultaneamente o parênquima que lhe é aderente.



Pinça, bisturi e material biológico (ramo com folhas de erva-da-fortuna)

6.5



Mergulhar a fina película epidérmica na água do vidro de relógio.

Pinça e Vidro de relógio.

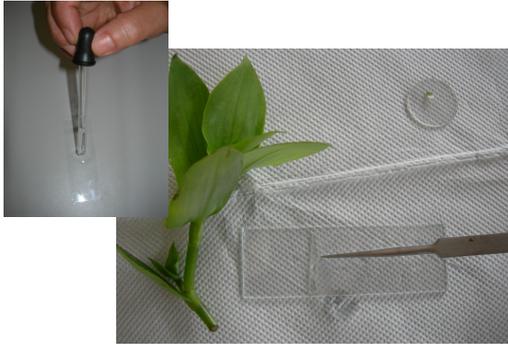
6.6 Recortar, com uma tesoura/bisturi, um quadrado no fragmento epidérmico em que aresta não exceda os 5 mm. Observar à vista desarmada, atendendo à densidade celular.

Tesoura/bisturi

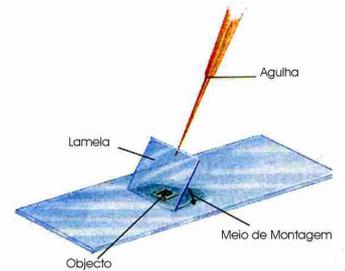
<sup>1</sup> célula - unidade morfofisiológica dos seres vivos, ou uma massa protoplasmática, envolta por uma membrana e contendo um núcleo.

<sup>2</sup> película muito fina, não verde, que recobre o caule e a folha.

6.7



a) Montar, entre lâmina e lamela, o fragmento epidérmico, usando como meio de montagem água destilada.



b) Na colocação da lamela, evitar que bolhas de ar fiquem entrepostas entre o objecto e a lamela; para o evitar, colocar a lamela num ângulo de 45° em relação à lâmina deixando-a cair lentamente sobre a preparação.

Lâmina, lamela, conta-gotas e agulha de dissecação.

6.8 Absorver com papel de filtro o excesso de água que eventualmente transborde da lamela.

Papel de filtro

6.9



a) Colocar a preparação na platina/mesa do m.o.c. de modo a que o tecido epidérmico fique no centro do orifício desta. b) Focar cuidadosamente em menor ampliação (4x), a fim de se ter uma visão panorâmica da região que se quer observar com maior aumento. c) Rodar inicialmente a cremalheira e só depois o parafuso micrométrico<sup>3</sup>. d) Regular o condensador e o diafragma; Observar e registar;

Microscópio óptico composto (m.o.c.)

6.10 Mover o revólver de modo a posicionar a objectiva de média ampliação (10X) em linha de focagem; dado que as objectivas são parafocais bastará um pequeno ajuste do foco do parafuso micrométrico para que a preparação fique nítida. Observar.

6.11 Medir o comprimento de uma **célula guarda** utilizando um micrómetro<sup>4</sup> (fig.). Escala graduada em  $\mu\text{m}$ , montada numa lâmina de vidro – **micrómetro objetivo** – e uma escala associada a uma lente ocular – **micrómetro ocular**.

Micrómetro Objetivo

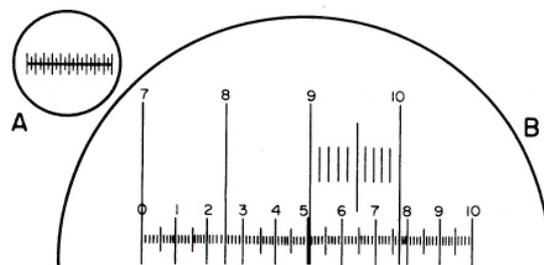


Fig. A, Micrómetro ocular; B, micrómetro ocular sobreposto sobre uma porção da escala do micrómetro objetivo.

<sup>3</sup> Algumas pessoas possuem deficiências visuais em alguma das vistas, para que os dois olhos tenham a mesma nitidez deve-se fazer os procedimentos de focalização considerando apenas uma vista e somente depois ajustar o foco para a outra vista, para isso deve-se girar a ocular correspondente. Cada pessoa tem uma distância entre os olhos, portanto deve-se ajustar a distância para uma melhor visualização distanciando ou aproximando as oculares.

<sup>4</sup> No caso de não existir no equipamento do laboratório substituir por uma régua de papel milimétrico a montar, entre lâmina e lamela, em simultâneo com o fragmento epidérmico de *Transdescantia*.

**Procedimento:**

**6.11.1** Colocar o micrómetro objectivo na platina do microscópio e focar a escala com a objectiva de 10x.

**6.11.2** Deslocar o micrómetro objectivo até fazer coincidir o zero da escala do micrómetro objectivo com o zero da escala do micrómetro ocular (pontos **0** e **0'** da figura abaixo).

**6.11.3** Determinar outro ponto de coincidência entre as duas escalas (pontos **B** e **B'** da mesma figura).

**6.11.4** Calcular a distância entre os pontos **0'** e **B'** no micrómetro objectivo multiplicando o número de divisões entre os dois pontos pelo valor conhecido de cada divisão.

**Exemplo da figura:**

1 div (microt. objectivo) = 10  $\mu$ m

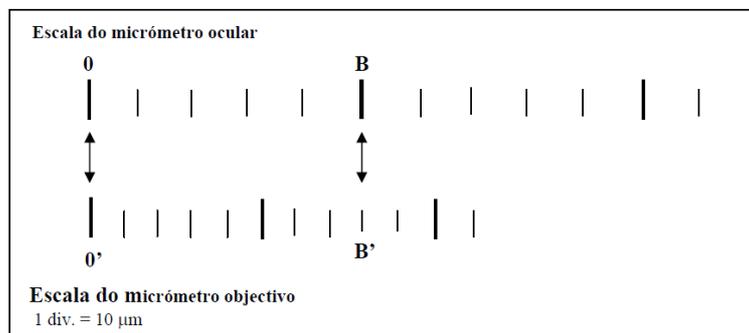
distância **0'-B'** no micrómetro objectivo = 8 div.  $\times$  10  $\mu$ m = 80  $\mu$ m

**6.11.5** Determinar o valor de cada divisão do micrómetro ocular dividindo o valor da distância **0'-B'**, calculada em **6.11.4**, pelo n.º de divisões correspondentes à distância **0-B** no micrómetro ocular.

**Exemplo da figura:**

distância **0-B** no micrómetro ocular = 5 div = 80  $\mu$ m

1 divisão no micrómetro ocular = 80 / 5 = 16  $\mu$ m



**Fig.:** Exemplo de calibração do micrómetro ocular

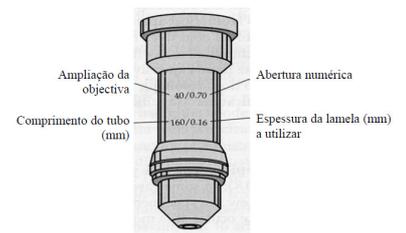
**6.12** Repetir o procedimento do ponto **6.10** posicionando a objectiva de média ampliação (40 x) em linha de focagem. Observar e registar.

**6.13** Observando pela(s) ocular(es), mover 45º para norte o parafuso micrométrico. Repetir o procedimento anterior movimentando, agora, o micrométrico em sentido diametralmente oposto. Registrar o observado.

**6.14** Olhar através da(s) ocular(es) fixamente para uma célula na preparação e sem a perder de vista mover a platina/mesa para cima e a baixo. Observar e registar.

**7** Analisar o **procedimento** descrito nos pontos **6.1** a **6.14**. **Descrevê-lo resumidamente.**

**8 Reunir o material necessário** (ou identificar a sua localização no laboratório).



**Lista de material:**

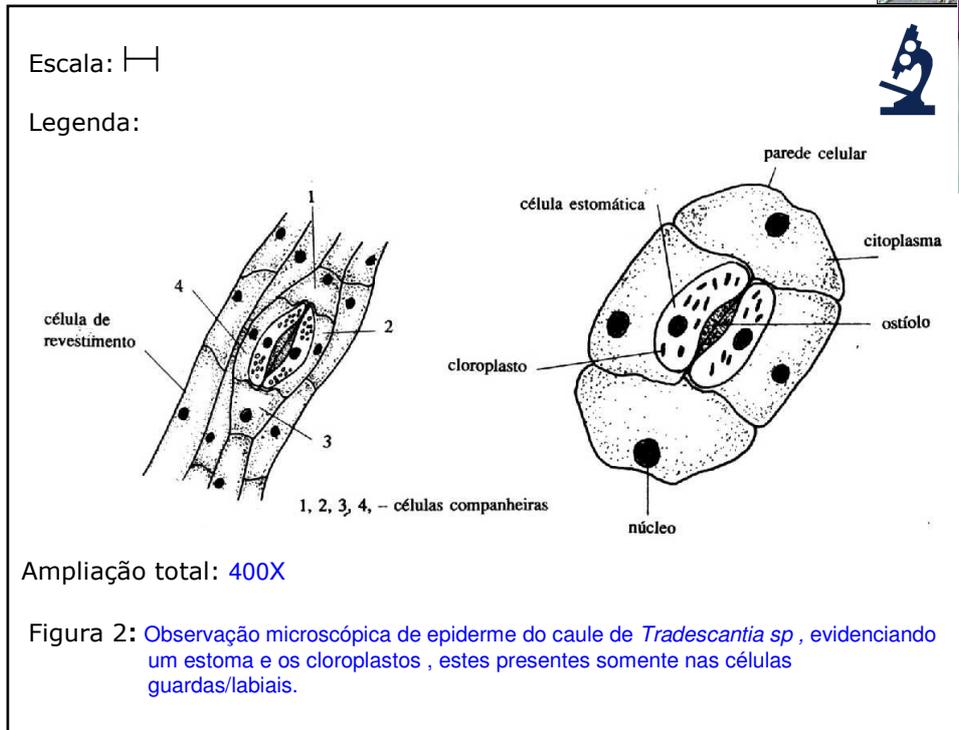
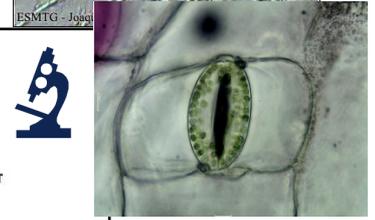
Descrição	Quantidade
Microscópio óptico composto	1
Micrómetro objectivo	1
Micrómetro ocular	1
Tabuleiro	1
Lâmina graduada e lamela	1
Esguicho com Água destilada	1
Conta-gotas	1
Tina	1
Vidro de relógio	1
Agulha de dissecação	1
Bisturi	1
Papel de filtro	1
Faca	1
Pinça	1
Material biológico – Erva-da-fortuna ( <i>Trandescantia sp</i> )	1

**9** Executar o procedimento descrito, após a memorização dos passos essenciais.

**10 Esquematizar** e **legendar** os aspectos anatómicos observados em 400x focando a morfologia das diferentes células e dos organitos celulares, a sua posição e dimensões relativas.

**11 Fazer uma escala** que acompanhe os esboços esquematizados a partir do observado ao microscópio.

## Registos



## 12. Questões pós-laboratoriais

### a. Juízos cognitivos:

#### i. Responder às questões - guia

#### 12.1 Poder/Limite de resolução.

- **Comparar** a distância/nitidez entre duas paredes contíguas de duas células companheiras, observada quer em vista desarmada no ponto 6.6 quer ao microscópio óptico no ponto 6.10.

As duas paredes celulares surgem como estruturas distintas e individualizadas ao microscópio, mas à vista desarmada aparecem fundidas como se de uma só estrutura se tratasse.

- **Concluir** quanto ao poder de resolução do M.O.C. relativamente ao olho humano.

O **poder de resolução** traduz a capacidade de distinguir com nitidez dois pontos muito próximos. A distância mínima a que esses pontos devem estar para que o microscópio ainda tenha poder de resolução, chama-se **limite de resolução**. Sendo assim, existe uma relação de proporcionalidade inversa entre estas duas grandezas.

Qualquer microscópio que utilize lentes de vidro e em que a fonte de luz branca seja natural ou artificial tem como limite de resolução 0,25  $\mu\text{m}$ , contrastando com o limite de 0,1 mm do olho humano. Assim se duas estruturas têm entre si uma distância de 0,4  $\mu\text{m}$ , no microscópio vão

aparecer individualizadas, mas à vista desarmada aparecerão fundidas como se de uma só estrutura se tratasse.

Deste modo, o poder ampliador não deve ser considerado como a melhor qualidade de um sistema óptico. Uma boa objectiva deve apresentar além de tudo um grande poder de resolução, pois é preferível ter uma imagem menos ampliada mas mais nítida do que a situação inversa.

ii. Compreender a função dos parafusos macrométrico e micrométrico em microscopia.

### 12. 2 Profundidade de campo.

- Prever o procedimento a realizar para visualizar com nitidez pormenores de diferentes planos, aquando da realização de uma observação microscópica.

Quanto maior o aumento, menor será a abrangência da área observada na lâmina, por exemplo:

Aumento de 100X o campo observado é de 1.500  $\mu\text{m}$ , aumento de 400X, o campo é de 375  $\mu\text{m}$  e no aumento de 1000X o campo é de 150  $\mu\text{m}$ . Por isso, antes de iniciar a análise da lâmina é necessário centrar o material no campo de observação.

A espessura dos cortes, por mais fina que seja, abrange mais do que a região que está a ser observada no plano focal. A distância entre as regiões imediatamente acima e abaixo do plano focal, que permanecem simultaneamente em foco, é chamada de profundidade de campo.

A profundidade de campo é, então, uma característica do microscópio óptico que se refere ao facto de não ser possível focar dois planos diferentes, simultaneamente. Logo, ao focarmos um plano desfocamos o outro e vice-versa. Assim, considerando que o material biológico é tridimensional, quando observamos uma preparação temos de ter em atenção que podemos estar a focar um plano no qual estejam poucos ou nenhum microrganitos/estruturas.

Para observar essas diferentes regiões basta mexer no micrométrico, abaixando ou subindo a mesa.

### 12.3 Diâmetro de campo.

**Confrontar** o diâmetro real da superfície observada em 6.10 e 6.12 com o poder ampliador das objectivas utilizadas.

A área observada varia na razão inversa da ampliação que se utiliza. Por isso, ao ampliar uma imagem reduz-se a área observada. Ou seja, existe uma relação de variação inversa entre a ampliação utilizada e o diâmetro do campo microscópico, que é a seguinte:

$$a_2/a_1 = d_1/d_2$$

Em que:

$a_1$  – ampliação da objectiva 1

$a_2$  - ampliação da objectiva 2

$d_1$  – diâmetro do campo observado com a objectiva  $a_1$

$d_2$  - diâmetro do campo observado com a objectiva  $a_2$

Considerações gerais:

- A montagem de grandes fragmentos para observar ao microscópio é desnecessária, pois materiais de dimensões superiores à área do campo microscópico não são por ele abrangidos.
- Deve-se iniciar a observação com a objectiva de menor ampliação: a área observada é maior o que permite captar uma imagem geral do que se quer observar. Depois centra-se a zona que quer ampliar e troca-se de objectiva.
- Conhecer as medidas do diâmetro e da área observada no m.o.c. permitirá calcular um valor aproximado do tamanho dos microorganismos observados.

b. **Juízos de valor:** concluir acerca da utilidade do procedimento utilizado.

**13 Comentar** os resultados obtidos.

O que determina a riqueza dos detalhes da imagem fornecida por um sistema de imagens é o seu poder de resolução e não o seu poder de ampliar o tamanho dos objectos. A capacidade de aumentar só tem valor prático se for acompanhado de um aumento do poder de resolução. Este limite de resolução depende essencialmente da objectiva, já que as oculares não podem acrescentar detalhes à imagem, pois a sua função é aumentar de tamanho dessa imagem, que é projectada no seu plano de focagem pela objectiva.

**14 Discutir** com os outros grupos e o professor as conclusões obtidas nos pontos anteriores. **Corrigir, se necessário.**

**15** Preparar uma **apresentação oral** para expor ao plenário turma sobre o inferido.

**16** Avaliar a actividade experimental proposta e reflectir sucintamente sobre o grau de consecução dos objectivos, principais dificuldades encontradas e sugestões para as ultrapassar.

***Apesar da maioria das células escapar a nossa capacidade visual, existem células de dimensões avantajadas.***

**17** Proceder a uma pesquisa online de imagens de: óvulos humanos; hemácias e bactérias com vista à classificação dessas células com base no seu tamanho.

## **Bibliografia** (facultativo no guião do aluno)

[http://www.prof2000.pt/users/biologia/poder\\_resolvente.htm](http://www.prof2000.pt/users/biologia/poder_resolvente.htm)

### **Ficha técnica da uma Beleza Feérica**

Fotografias da autoria de Janice Carr, cedidas por William L. Nicholson, Cal Welbourn, e Gary R. Mullen ao *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), obtidas através da [Public Health Image Library \(PHIL\)](#).

### **Referências**

(ref1) D. E. Rounsevell & Penelope Greenslade (1988). *Cuticle structure and habitat in the Nanorchestidae (Acari: Prostigllnata)*. *Hydrobiologia*, Volume 165, Pages 209-212. [Lição DOI](#).

Disponível em [http://www.caisdegaia.blogspot.com/2007\\_04\\_01\\_archive.html](http://www.caisdegaia.blogspot.com/2007_04_01_archive.html)

Procedimentos experimentais e folhas de apoio às aulas práticas de BIOLOGIA CELULAR I-  
BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR. Disponível em  
[http://www2.fc.up.pt/pessoas/aseneca/Protocolos%20BCI\\_BCM%202005-06.pdf](http://www2.fc.up.pt/pessoas/aseneca/Protocolos%20BCI_BCM%202005-06.pdf)