

PREPARO DE LÂMINAS PERMANENTES PARA ENSINO DE HISTOLOGIA ANIMAL E VEGETAL SEM A UTILIZAÇÃO DE MICROTOMIA¹

Geovanna Carla Zacheo COELHO²

Renan Alex LEÃO³

Heitor Sillos Morais de Castro e SOUZA⁴

Andreia Estela Moreira de SOUZA⁵

Dagmar Aparecida de Marco FERRO⁶

RESUMO

O processo de ensino-aprendizado das disciplinas Histologia Animal e Vegetal no ensino superior é geralmente feito pela associação entre o componente teórico e o prático, sendo este último realizado pela observação dos tecidos em microscópio óptico. Para essa análise, é necessária a confecção de lâminas delgadas de tecidos que formam os órgãos, denominadas lâminas histológicas. Embora a Fundação Municipal de Educação e Cultura (FUNEC) não apresente um micrótomo para cortes ultrafinos de tecidos animais e vegetais, muitos tipos de lâminas permanentes que estão em falta ou inexitem no laboratório de microscopia podem ser produzidos dispensando essa aparelhagem, como lâminas de esfregaço sanguíneo humano e de outros vertebrados, grãos de pólen de diferentes espécies de plantas, grãos de amido, entre outras. O objetivo desse trabalho foi preparar lâminas histológicas permanentes para ensino de Histologia Animal e Vegetal sem o auxílio de microtomia, restaurando e implementando o acervo histológico da FUNEC e estabelecendo um acervo na área de histologia vegetal, até então inexistente. Para o graduando em licenciatura em Ciências Biológicas, o aprendizado nesse aspecto é de grande importância, tanto para a formação científica, como para a formação como educador, pois possibilita a busca por metodologias de ensino mais dinâmicas e atrativas.

Palavras-chave: Lâminas histológicas. Metodologia de ensino. Ensino de biologia.

INTRODUÇÃO

Histologia é o ramo da anatomia que estuda os tecidos animais e vegetais. O termo histologia vem do grego: *hystos* = tecido + *logos* = estudos, e compreende desde a origem, estrutura (tipos diferenciados de células) e funcionamento dos tecidos. Uma vez que o corpo de um organismo multicelular é constituído por diferentes tipos de células, especializadas em realizar diversas funções, as células com interdependência morfológica e funcional organizam-se em grupos, constituindo os tecidos. Alguns tecidos são formados por células que possuem a mesma estrutura, outros são formados por células que têm diferentes formas e

¹Trabalho do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul do Sul – PIBIC/FUNEC

²Graduando em Ciências Biológicas, Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, geovanna.carla@hotmail.com

³Graduando em Ciências Biológicas, Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, renan.alex.leao@gmail.com

⁴Graduando em Ciências Biológicas, Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, heitor_es6@hotmail.com

⁵Professora, doutora, Docente das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, ae_moreira@yahoo.com.br

⁶Professora, doutora, Docente das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, dagmarferro@yahoo.com.br

funções, mas que juntas colaboram na realização de uma função geral (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

O Processo ensino-aprendizado de Histologia no ensino superior é geralmente feito pela associação entre o componente teórico e o prático, sendo este último realizado pela observação dos tecidos em microscópio óptico, para a visualização da estrutura celular, matriz extracelular e fibras características de cada tipo de tecido. Para a análise sob microscopia óptica, é necessária a confecção de lâminas delgadas dos tecidos que formam os órgãos, sendo estas denominadas lâminas histológicas, que irão propiciar a visualização efetiva do conteúdo teórico ministrado pelo professor em sala de aula (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

A necessidade de realização de aulas práticas, para tornar o ensino de Biologia mais dinâmico e atrativo, vem sendo fonte de discussão tanto no nível superior como para a educação básica, como uma proposta de inovação dos currículos escolares (GOMES; BORGES; JUSTI, 2008; NUNES et al., 2006). A experimentação é um dos grandes problemas do ensino atual, quer pela ausência de laboratórios em muitas escolas e institutos de educação, quer pela inexperiência dos professores, ou ainda pelos currículos sobrecarregados destes (KRASILCHIK, 2004).

Segundo Krasilchik (2004), a disciplina de biologia, ensinada no ensino fundamental e médio, pode ser uma das mais relevantes e merecedoras da atenção dos alunos, ou uma das disciplinas mais insignificantes e pouco atraentes, dependendo da metodologia de ensino abordada.

No ensino de biologia, a experimentação é de suma importância e praticamente inquestionável (MOREIRA; DINIZ, 2003; PEDRANCINI et al., 2007), uma vez que os fenômenos acontecem naturalmente e os materiais estão disponíveis na própria natureza, sendo a experimentação excelente para o contato direto com material biológico e fenômenos naturais, incentivando o envolvimento, a participação, o trabalho em equipe, propiciando a transposição didática entre o conteúdo teórico e o cotidiano do aluno (LEPIENSKI; PINHO, 2013; PACHECO, 2000).

Observa-se que o ensino de Biologia ainda está restrito, na maioria das instituições, às aulas expositivas com mínima participação dos alunos. Neste sentido, as atividades em laboratório podem funcionar como um contraponto às aulas teóricas e como um poderoso catalisador no processo de aquisição de novos conhecimentos, pois a vivência de certa experiência facilita a aprendizagem (POSSOBON; OKADA; DINIZ, 2003).

Dessa forma, as aulas práticas/experimentais são uma modalidade pedagógica de vital importância, principalmente no que se refere à área de Ciências e Biologia, e os futuros

educadores precisam ter contato com metodologias de ensino que os capacitem à aplicação futura de aulas práticas na educação básica.

O objetivo desse trabalho foi preparar lâminas histológicas permanentes para ensino de histologia animal e vegetal sem o auxílio de micrótomo, possibilitando a restauração e implementação do acervo histológico da FUNEC, bem como constituir uma ferramenta de aprendizagem para a prática docente.

METODOLOGIA

Relação das lâminas permanentes preparadas

As lâminas preparadas no desenvolvimento do projeto foram provenientes de tecidos e estruturas animais e vegetais que dispensam o uso do micrótomo, em um número mínimo de 40 exemplares. Foram preparadas as seguintes lâminas histológicas:

- 1- tecidos animais: esfregaço de sangue humano (*Homo sapiens*); esfregaço de sangue de galinha (*Gallus gallus*) e esfregaço de sangue de tilápia (*Oreochromis niloticus*);
- 2- tecidos vegetais: Grãos de pólen de *Hibiscus rosa-sinensis*; Epiderme inferior de *Tradescantia pallida purpurea*; Grãos de Amido de Milho (*Zea mays*) e Epiderme de Cebola (*Allium cepa*).

Metodologia para preparo das lâminas histológicas

a) Lavagem prévia das Lâminas e Lamínulas

As lâminas e lamínulas foram previamente lavadas com sabão de coco ou detergente, enxaguadas em água destilada, secas e mantidas em álcool 70%.

b) Confeção dos esfregaços de Sangue Humano, de Galinha e de Peixe.

Inicialmente foram preparados os corantes a serem utilizados para a coloração do esfregaço:

Hematoxilina de Harris (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983):

Hematoxilina _____	2,5 g
Álcool 100% _____	25 ml
Alúmen de amônio ou potássio _____	50 g
Água destilada _____	500 ml
Óxido vermelho de mercúrio _____	1,25 g

Ácido acético _____ 20 ml

A hemotoxilina foi dissolvida no álcool e o alúmen na água destilada (previamente aquecida a 60°C). Posteriormente, as duas soluções foram misturadas e aquecidas até a fervura (aproximadamente 98°C). O óxido de mercúrio foi adicionado à solução que foi resfriada a temperatura ambiente, mergulhando-se o frasco em água corrente. O ácido acético foi então colocado na solução fria e filtrada.

Preparo do Corante Eosina (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983):

Eosina solúvel em água _____ 1 g

Água destilada _____ 100 ml

Para a coleta do sangue humano foi realizada punção da polpa do dedo com o auxílio de uma lanceta. Para coleta de sangue de galinha foi retirado o sangue da coxa da ave, sem o sacrifício desta e na coleta de sangue de tilápia foi realizada punção na brânquia (guelra) do animal.

As amostras de sangue assim obtidas foram colocadas aproximadamente a 1 ou 2 cm da extremidade da lâmina e esfregadas com o auxílio de outra lâmina histológica em um ângulo de 45°, de modo que a gota de sangue se estenda numa camada delgada e uniforme. A secagem foi por agitação da lâmina ao ar. Após isso, foi feita a coloração com Hematoxilina/Eosina, cobertura da lâmina com lamínula e selagem com bálsamo do Canadá, pingando-se gotas do selante em volta de toda a lamínula.

c) Grãos de Pólen de *Hibiscus rosa-sinensis*

Foram coletadas flores da espécie *Hibiscus rosa-sinensis* com grãos de pólen maduros, ou seja, com anteras abertas. As anteras foram extraídas com bisturi e maceradas em placa de petri para a dispersão dos grãos de pólen, logo em seguida foram desidratados com álcool de 10% e centrifugados para que houvesse maior concentração de pólen nas lâminas. Após retirada do sobrenadante, foi adicionado álcool absoluto e procedeu-se à coloração com Cristal Violeta a 15% e selagem da lamínula com bálsamo do Canadá.

d) Grãos de Amido de Milho (*Zea mays*)

Um grama de amido de milho comercial foi diluído em 5 ml de água em temperatura ambiente e centrifugado em baixa rotação para a retirada do sobrenadante. O concentrado foi diluído novamente em uma solução de álcool a 70% e iodo a 2% para fixação e coloração. O material foi coletado e disperso sobre a lâmina histológica, selado com bálsamo do Canadá e observado ao microscópio para averiguar qualidade de dispersão e coloração.

e) Epiderme da *Tradescantia pallida purpurea*

Inicialmente, foi preparado o corante Eosina/ Azul de Metileno sendo feita a pesagem de 0,5g do pó eosina azul de metileno(corante de May-Grunvald), em seguida diluído em 200 ml de metanol, finalizando por filtragem.

Para a obtenção da epiderme superior e estômatos, uma fina película da epiderme inferior da folha de *Tradescantia* foi retirada com o auxílio de uma pinça e em seguida mergulhada em álcool 100% por 1 hora para desidratação, a coloração foi realizada com azul de metileno e montada em lâminas histológicas e lamínulas e selada com bálsamo de Canadá.

f) Epitélio da Cebola.

O Corante Safranina, utilizado nessa metodologia, foi preparado diluindo-se 1g de safranina em 100 ml de álcool 95%. A preparação foi diluída novamente em água destilada (1:1) no momento de uso.

Para o preparo do epitélio de cebola foi retirada, da parte inferior da túnica, uma fina camada da epiderme que foi desidratada sequencialmente em álcool (10 a 100%), posteriormente corada com safranina e selada com balsamo de Canadá.

Observação ao Microscópio Óptico

Para averiguar a qualidade de produção e a facilidade de observação das principais estruturas durante todo o roteiro de preparo das lâminas, foi feito o acompanhamento com observação ao microscópio óptico, com aumento de 400 e 1000 vezes (objetiva de imersão).

RESULTADOS

A histologia constitui uma disciplina básica para todos os cursos da saúde, bem como para o curso de Licenciatura em Ciências Biológicas, no qual além do estudo de tecidos, é objetivo da disciplina explicitar as metodologias de preparo de lâminas permanentes, preparando o graduando para a sua futura práxis pedagógica.

Devido o constante uso pelos vários cursos da Instituição, diversas lâminas foram acidentalmente quebradas ao longo do tempo durante as aulas práticas, sendo muitas não repostas, levando a um déficit no acervo histológico institucional.

A presença de um curso de Graduação em Ciências Biológicas na Instituição fornece alunos capacitados para o preparo dessas lâminas, evitando gastos com a compra de lâminas prontas de outros laboratórios, além de constituir excelente campo para a prática de ensino na disciplina. A ausência de micrótomo levou a uma limitação no preparo dessas lâminas,

constituindo, no entanto, uma oportunidade de buscas de estratégias para produção de materiais de baixo custo.

No presente estudo, foram preparadas 40 lâminas de cada uma das amostras citadas, realizando a ampliação e a reposição de lâminas no acervo histológico da Fundação Municipal de Educação e Cultura (figura 1), prontas para serem utilizadas nas aulas práticas dos cursos de graduação e nos projetos realizados junto às escolas municipais e estaduais, visando à melhoria no processo de ensino aprendizagem.

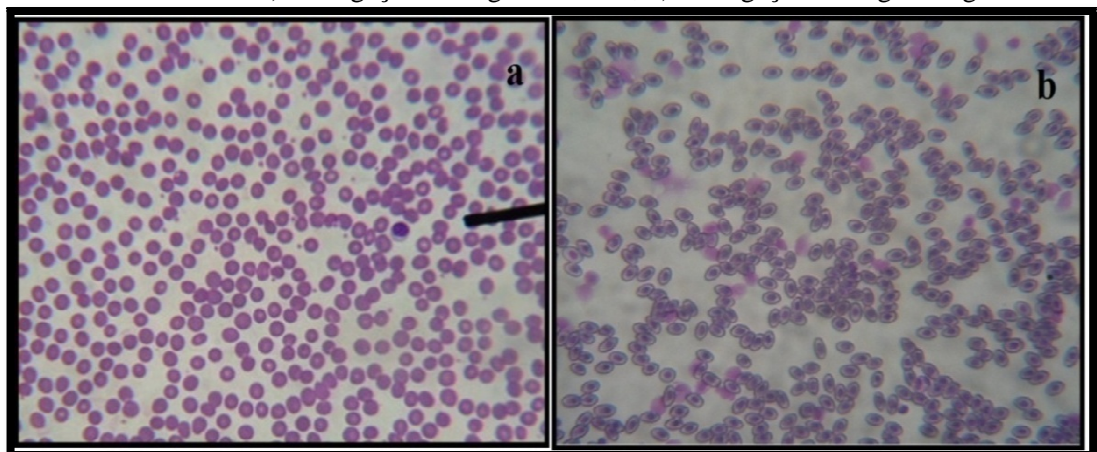
Figura 1 - Lotes de lâminas histológicas permanentes de esfregaço sanguíneo acondicionadas em laminários próprios para este fim.



Fonte: Dos próprios autores

As lâminas mais utilizadas pelos alunos e, por conseguinte, danificadas ao longo do tempo, são as de esfregaço sanguíneo humano e de galinha. Foram preparadas 40 lâminas de cada um desses tecidos para suprir esse déficit e possibilitar a continuidade das aulas práticas (figura 2).

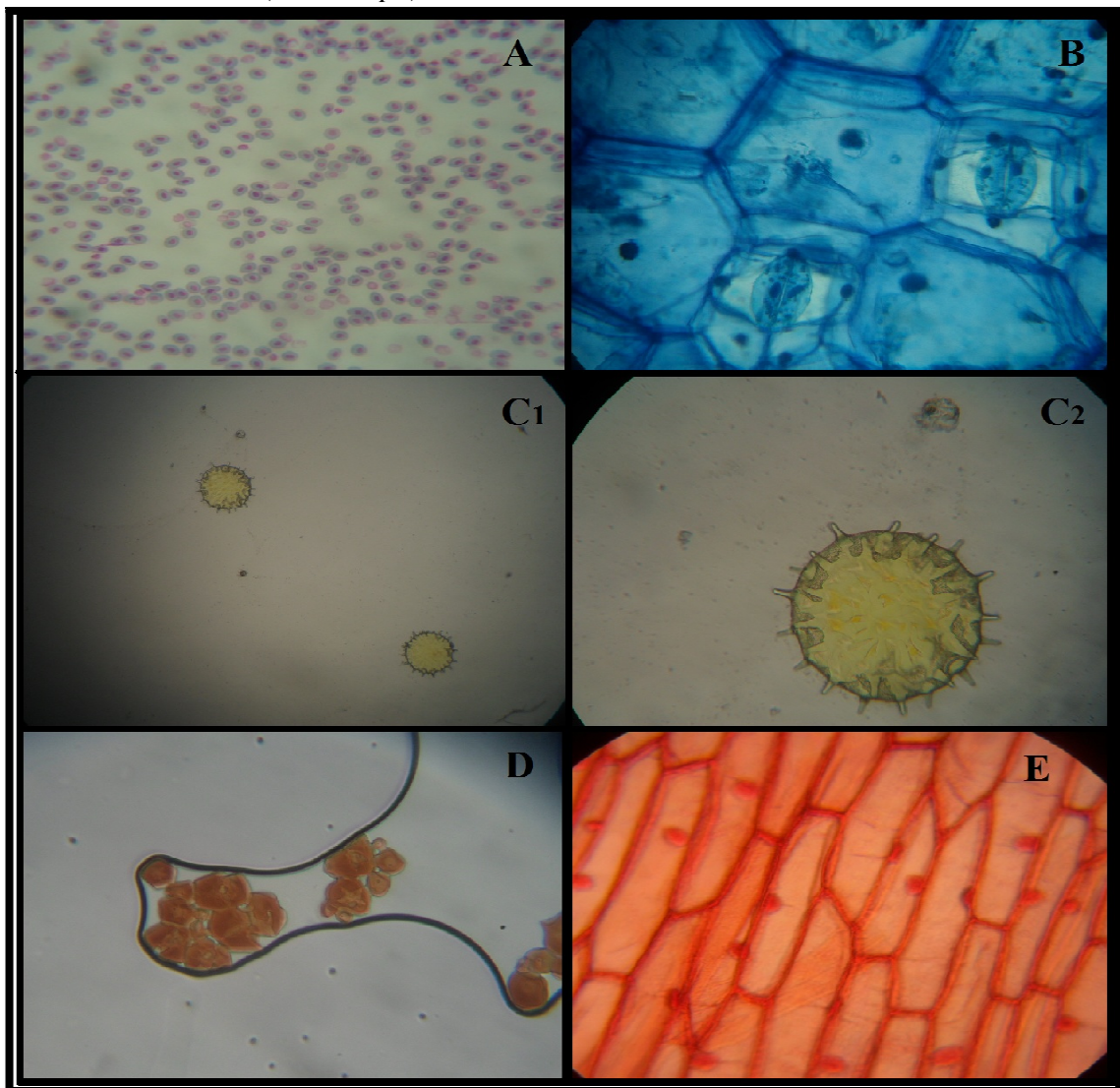
Figura 2 - Lâminas de esfregaço sanguíneo visualizadas ao microscópio óptico no aumento de 400 vezes. a) Esfregaço de sangue humano; b) Esfregaço de sangue de galinha



Fonte: Dos próprios autores

Além disso, o acervo histológico foi ampliado, possuindo agora cinco novos tipos de lâminas (Figura 3) sendo, na histologia animal, esfregaço sanguíneo de peixe, e na histologia vegetal, epiderme de *Tradescantia*, grãos de pólen de *Hibiscus*, grãos de amido de milho e epitélio de cebola, o que proporcionará novas possibilidades de abordagens didáticas. Todas as lâminas passaram por análise em microscópio óptico para o controle de qualidade, no qual foram analisadas quanto à qualidade, sendo consideradas apropriadas para o estudo do respectivo tecido.

Figura 3 – Lâminas adicionadas ao acervo de histologia visualizadas ao microscópio óptico. A) esfregaço sanguíneo de peixe (*Oreochromis niloticus*); B) epiderme de *Tradescantia*; C) 1 e 2 grãos pólen de *Hibiscus*; D) grão de amido de milho (*Zea mays*) e E) epiderme de cebola (*Allium cepa*).



Fonte: Dos próprios autores

A prática no preparo das lâminas permanentes e o processo de análise contribuíram significativamente para a formação dos pesquisadores na área de estudo de tecidos, proporcionando experiência na manipulação de materiais biológicos, prática no uso do microscópio e utilização de materiais de baixo custo que permitissem o estudo de alguns tipos de tecidos e células, com a possibilidade de repetição dos experimentos em escolas públicas na prática docente dos futuros profissionais, constituindo elementos facilitadores do processo de ensino-aprendizagem em Ciências e Biologia.

CONCLUSÃO

O presente trabalho possibilitou a ampliação e reposição de lâminas histológicas do acervo presente no laboratório de microscopia da instituição, o que irá proporcionar uma melhoria na qualidade das aulas práticas ministradas para todos os cursos de Saúde e de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Além disso, a aplicação dos conteúdos teóricos visualizados na disciplina de histologia pelos pesquisadores contribuiu sobremaneira para a sua futura atuação profissional, possibilitando a busca por metodologias mais dinâmicas e atrativas para o processo de ensino-aprendizagem em Ciências e Biologia, além de prepará-los para a pesquisa científica.

PREPARATION OF PERMANENT SLIDES FOR TEACHING ANIMAL AND PLANT HISTOLOGY WITHOUT USING A MICROTOME

ABSTRACT

The process of teaching and learning disciplines Histology Animal and Plant in higher education is usually done by the association between the theoretical and the practical component, the latter being carried out by observation of tissues in optical microscope. For this analysis it is necessary to the production of thin sections of tissues that form the organs, called histological slides. Although the Fundação Municipal de Educação e Cultura (FUNEC) does not present a microtome for ultrathin sections of plant and animal tissues, many types of permanent slides that are missing or do not exist in the microscopy laboratory can be produced dispensing equipment such as smear slides human blood and other vertebrates, pollen of different species of plants, starch grains, among others. The objective was to prepare permanent histological slides for teaching Histology Animal and Plant without the aid of microtome, restoring and implementing the histological collection of FUNEC and establishing a collection in plant histology area, where none exists. For undergraduate in Biological Sciences in learning this aspect was of great importance both for scientific training, and for training as an educator, it enabled the search for more dynamic and attractive teaching methodologies.

Keywords: Histological slides. Teaching methodology. Biology education.

REFERÊNCIAS

- GOMES, A. D. T.; BORGES, A. T.; JUSTI, R. Processos e conhecimentos envolvidos na realização de atividades práticas: revisão da literatura e implicações para a pesquisa, **Investigações em Ensino de Ciências**, v. 13, n. 02, p.187-207, 2008. Disponível em <http://www.if.ufrgs.br/ienci/artigos/Artigo_ID194/v13_n2_a2008.pdf>. Acesso em: 18mar. 2013.
- JUNQUEIRA, L. C. U; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara, 2008.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 1983.
- KRASILCHIK, M. **Prática de ensino de biologia**. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2004.
- LEPIENSKI, L. M.; PINHO, K. E. P. **Recursos didáticos no ensino de biologia e ciências**. 2000. Disponível em: <<http://www.diadiaeducacao.pr.gov.br/portals/pde/arquivos/400-2.pdf?PHPSESSID=2009071511113042>>. Acesso em: 18 mar. 2013.
- MOREIRA, M. L.; DINIZ, R. E. S. O laboratório de biologia no ensino médio: infraestrutura e outros aspectos relevantes. In: **Universidade Estadual Paulista – Pró-Reitoria de Graduação. (Org.). Núcleos de Ensino**. São Paulo: Editora da UNESP, v. 1, p. 295-305, 2003. Disponível em: <file:///C:/Users/mdlima/Downloads/olabdebiologia.pdf.> Acesso em: 10 mar. 2013.
- NUNES, F. M. F. et al. Genética no ensino médio: uma prática que se constrói. **Genética na Escola**, v. 1, n. 1, p. 19-24, 2006.
- PACHECO, D. A experimentação no ensino de ciências. **Ciência e Ensino**, Campinas, v. 1, n. 2, 2000.
- PEDRANCINI, V. D. et al. Ensino e aprendizagem de Biologia no ensino médio e a apropriação do saber científico e biotecnológico. **Revista Eletrônica de Enseñanza de las Ciencias**, v. 6, n. 2, p. 299-309, 2007.
- POSSOBON, C. C. F.; OKADA, F. K.; DINIZ, R. E. S. As atividades práticas de laboratório no ensino de Biologia e Ciências: relato de uma experiência. In: **Universidade Estadual Paulista – Pró-Reitoria de Graduação. (Org.). Núcleos de Ensino**. São Paulo: Editora da UNESP, v. 1, p. 113-123, 2003.