

PRÁTICA Nº. 4.9

FORMATOS DE PLASMÓLISE

INTRODUÇÃO

A plasmólise é um fenômeno típico das células vegetais expostas a estresses hiperosmóticos. Nessa condição, a intensa perda de turgor provoca o destacamento do protoplasto da parede celular, o que é devido principalmente aos efeitos observados no vacúolo. Embora os efeitos da plasmólise sejam intensos e mudanças estruturais tornem-se necessárias para realizar um ciclo plasmolítico, o fenômeno é reversível e característico das células vegetais.

Dependendo do tipo de célula, da viscosidade do citoplasma e do componente osmótico utilizado, dois tipos de plasmólise podem ser obtidos. Quando a plasmólise é provocada pela imersão dos tecidos em soluções contendo moléculas indissociáveis, a plasmalema se descola por igual em toda a superfície de contato com a parede celular, resultando em uma figura arredondada (convexa) no interior da célula. Essa figura corresponde ao protoplasto, um volume delimitado pela plasmalema e que contém no seu interior o citoplasma e o núcleo. Entretanto, em plasmólise côncava, o descolamento da plasmalema é desuniforme, e a membrana plasmática não se separa completamente da parede celular, formando várias bolsas cavadas. Nessa condição, a adesão da membrana plasmática à parede ocorre na região dos plasmodesmas.

A observação desses dois tipos de plasmólise é possível com a utilização de sais específicos em soluções concentradas (hiperosmóticas). Quando solubilizados em água, sais de KNO_3 produzem íons com apenas uma carga (K^+ e NO_3^-) e, portanto, cada íon K^+ (monovalente) interage somente com a plasmalema ou com a parede celular. Em contraste, quando são utilizados sais de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, que em solução produzem íons com duas cargas (Ca^{2+} e 2NO_3^-), o íon Ca^{2+} (bivalente) consegue interagir tanto com as cargas negativas da plasmalema quanto com as da parede celular (uma carga positiva para cada superfície), servindo de ligação eletrostática entre essas duas estruturas celulares, originando, assim, várias bolsas cavadas com formato côncavo.

OBJETIVOS

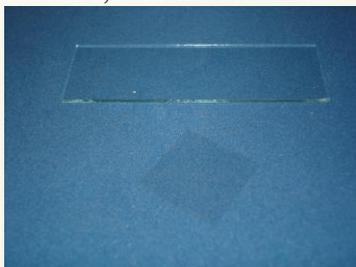
Observar o fenômeno da plasmólise, verificando a interação entre a plasmalema e a parede celular. Identificar as figuras de plasmólise e explicar a sua formação levando-se em conta os íons utilizados na solução externa. Relacionar o fenômeno da interação elétrica entre as superfícies subcelulares (plasmalema e parede celular) com a utilização de íons de carga dupla.

MATERIAIS

- Bulbos de cebola, folhas de zebrina (*Tradescantia zebrina* Heynh., Commelinaceae) ou de elódea (*Elodea canadensis* Michx., Hydrocharitaceae)



- Lâmina, lamínula



- Placas de Petri



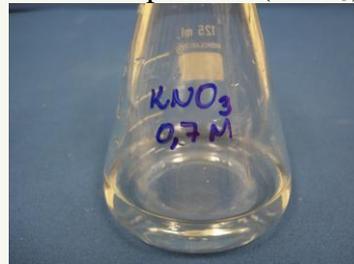
- Vidro de relógio



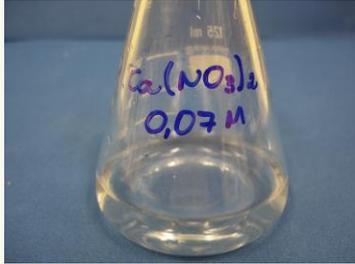
- Microscópio óptico



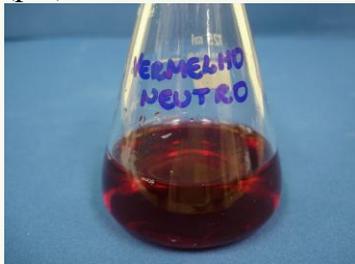
- Nitrato de potássio (KNO_3) 0,7M



- Nitrato de cálcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2]$ a 0,7 M



- Vermelho Neutro (corante) a 0,005% (p/v)



- Lâmina de barbear



- Pincel



- Pinça



PROCEDIMENTOS

Com o auxílio de uma pinça e uma lâmina de barbear, retire porções das epidermes da parte externa dos catafilos (folhas modificadas) que formam os bulbos de uma cebola. As epidermes internas dos bulbos da cebola se destacam mais facilmente, porém não são adequadas para a obtenção das figuras de plasmólise.

Coloque os cortes obtidos em água destilada por dez minutos em recipiente de vidro. Após esse procedimento, retire os cortes e transfira-os para outro recipiente com água adicionada do corante vermelho-neutro. Uma pequena quantidade de vermelho-neutro é suficiente para que a água adquira coloração vermelha com a intensidade adequada. Deixe os cortes mergulhados no corante por aproximadamente 12 h. Alternativamente, é possível utilizar cortes paradérmicos da superfície abaxial de folhas de zebrina. Nesse material, não é necessária a adição de vermelho-neutro, uma vez que as suas células acumulam antocianinas nos vacúolos. Nessa aula, também é possível a utilização de folhas de elódea.

Em seguida, transfira os cortes para outros dois recipientes contendo, respectivamente, nitrato de potássio (KNO_3) ou nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$), ambos a 0,7 M. Os cortes das epidermes devem ser mantidos por 20 min em cada um dos recipientes. Após esse intervalo, é possível observar-se ao microscópio óptico as diferentes figuras de plasmólises obtidas: a convexa, utilizando-se o KNO_3 , e a côncava, utilizando-se o $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$.