

## Protocolo experimental

### **Coração Transparente: Acelera ou Desacelera?**

#### **Enquadramento Teórico**

A dáfnia é um microcrustáceo de água doce, com cerca de 3-5 mm de comprimento que habita ecossistemas de água doce dos cinco continentes. É um organismo filtrador que se alimenta de pequenas partículas em suspensão na água, como por exemplo microalgas verdes. Além disso, serve de alimento a várias espécies de peixes pequenos, larvas de peixes e larvas de insetos. A dáfnia é bastante sensível a uma grande variedade de substâncias como, por exemplo, metais, pesticidas, detergentes, fármacos, entre outros. Como crustáceo, possui uma carapaça que sofre muda periódica, permitindo assim o crescimento em comprimento do organismo. Esta carapaça é transparente facilitando a visualização microscópica dos seus órgãos internos. Por estas razões, entre outras, é muito utilizada como modelo biológico em estudos de fisiologia, ecologia, e toxicologia ambiental.

#### **Objetivos**

Esta atividade tem como objetivos prever, testar e analisar a influência de algumas substâncias comuns (ex. cafeína, nicotina, álcool) no ritmo cardíaco de dáfnia, e permitir a observação, em tempo real, do efeito das drogas num organismo vivo (estimulantes ou depressoras). Este protocolo enquadra-se na Área Curricular de Ciências da Natureza do 2º Ciclo do Ensino Básico.

## Material

- Gobelé com dáfnias (o CIIMAR pode fornecer as dáfnias mediante pedido atempado)
- 1 Chávena de café de 45 mL
- 1 Garrafa de cerveja de 33 cl
- 6 Cigarros
- Microscópio ótico / Lupa binocular
- Lâminas ou lâminas escavadas e lamelas
- Pinça
- Gobelés
- Pipetas de plástico
- Papel de filtro
- Papel de limpeza
- Cronómetro
- 3 Provetas de 100 mL
- 1 Passador
- Recipiente de vidro
- 3 Frascos de vidro de 250 mL
- Água destilada

## Procedimento

### A. Preparação de Soluções

**Nota:** Antes de realizar a atividade, é aconselhável preparar todas as soluções experimentais (substâncias), com cerca de 24 h de antecedência.

- Solução cafeína (café 30%):
  1. Com uma proveta, medir 30 mL (2,2 mg de cafeína por mL) de café e colocar num frasco. Um café forte contém em média, 100 mg de cafeína por chávena (45 mL).
  2. Adicionar água destilada até perfazer 100 mL, tapar o frasco e agitar.
  
- Solução de álcool (cerveja 30%):

1. Deixar a garrafa de cerveja aberta durante a noite (para permitir que o gás dissipe), antes de fazer a solução.
2. Com uma proveta, medir 30 mL de cerveja e colocar num frasco.
3. Adicionar água destilada até perfazer 100 mL e agitar.

▪ Solução Nicotina (cigarro 30%)

1. Abrir 6 cigarros e colocar o seu conteúdo num recipiente.
2. Adicionar 500 mL de água bastante quente ao tabaco de 6 cigarros (1.1 mg nicotina/cigarro) e aguardar entre 15 a 20 minutos.
3. Filtrar a solução com um coador.
4. Com uma proveta, medir 100 mL da infusão e colocar num frasco.
5. Adicionar água destilada até perfazer 200 mL e agitar.

B. Elaboração da Preparação Microscópica e Observação ao Microscópio Optico

1. Com a ajuda de uma pinça colocar um pedaço de algodão na depressão da lâmina escavada (apenas o suficiente para aprisionar a Dáfnia). Nota: poderá usar em alternativa uma lâmina não escavada.
2. Com uma pipeta plástica adicionar 2 gotas da água do gobelé com dáfnias.
3. Usando a mesma pipeta, recolher uma dáfnia e colocá-la em cima dos fios de algodão (evitar colocar mais do que duas gotas de água com a dáfnia).
4. Colocar a preparação na platina do microscópio ótico (ou em alternativa na Lupa binocular).
5. Mover o parafuso macrométrico e observar a preparação com uma objetiva de 10x.
6. Utilizando apenas o parafuso micrométrico, corrigir a focagem até obter uma imagem nítida.
7. Observar a anatomia interna da dáfnia, prestando particular atenção à localização do coração.

C. Contagem dos Batimentos Cardíacos - Controlo

1. Observar novamente a dáfnia ao microscópio.
2. Para determinar o ritmo cardíaco da Dáfnia, um aluno deve bater com a ponta do lápis numa folha de papel por cada batimento cardíaco e outro aluno deve controlar o tempo (10 segundos), com um cronómetro. (Nota: As contagens devem ser realizadas rapidamente. Se as contagens demorarem muito tempo, deve adicionar-se mais uma ou duas gotas de água à preparação).
3. No final dos 10 segundos, contar o número de pontos na folha de papel e multiplicar a contagem obtida por 6, para determinar o número de batimentos por minuto (BPM).
4. Registrar este valor no quadro I da folha de observações. (Nota: O ritmo cardíaco das dáfnias varia entre 200 a 300 BPM, se os alunos obtiverem valores inferiores ou superiores a estes limites, as contagens devem ser repetidas.
5. Repetir o procedimento mais duas vezes.
6. Somar os 3 valores obtidos para o ritmo cardíaco (BPM) e calcular a média do ritmo cardíaco (BPM) para a dáfnia em condições controlo (água).

D. Adição da substância e contagem dos batimentos cardíacos.

1. Retirar a preparação do microscópio.
2. Usando uma pipeta de plástico colocar uma ou duas gotas da solução a ser testada, por exemplo, do lado direito da dáfnia, enquanto com uma tira de papel de filtro, se absorve a água em excesso, pelo lado esquerdo.
3. Aguardar um minuto para que a solução se difunda.
4. Colocar novamente a preparação no microscópio e observar a dáfnia, com baixa intensidade luminosa.
5. Efetuar a contagem de batimentos cardíacos da forma indicada em B
6. Registrar os valores obtidos no quadro II da ficha de observações.
7. Repetir o procedimento para as restantes soluções.
8. Classificar cada uma das soluções como Estimulante ou Depressora.

## Coração Transparente: Acelera ou Desacelera?

### Registo da experiência

1. Formula e indica a hipótese a testar nesta experiência.
2. Preenche os quadros seguintes com os resultados que obtiveste.

**Quadro I:** Ritmo cardíaco da dáfnia na solução controlo

Solução		BPM (Ritmo Cardíaco por Minuto)		
Ritmo cardíaco/ 10 seg.	1ª contagem		X 6	
	2ª contagem		X 6	
	3ª contagem		X 6	
<b>Média do Ritmo Cardíaco/ min.</b>		$(1^a+2^a+3^a)/3$		

**Quadro II:** Ritmo cardíaco da dáfnia nas várias soluções

Solução	Nicotina (cigarro 30%)	Álcool (Cerveja 30 %)	Cafeína (café 30%)
BPM (Controlo-Água) A			
BPM (Solução) B			
% Variação BPM $[(B-A)/A] \times 100$			
Classificação			

