

Fig. 4.43 Comparação entre diferentes microscópios. **A.** No esquema podem ser reconhecidas algumas diferenças entre o microscópio de luz e o microscópio eletrônico de transmissão. As lentes do microscópio de luz são feitas de vidro, enquanto as dos microscópios eletrônicos são bobinas eletromagnéticas. As amostras são inseridas no interior dos microscópios eletrônicos, o qual se encontra em vácuo. **B.** Microscópio eletrônico de transmissão.

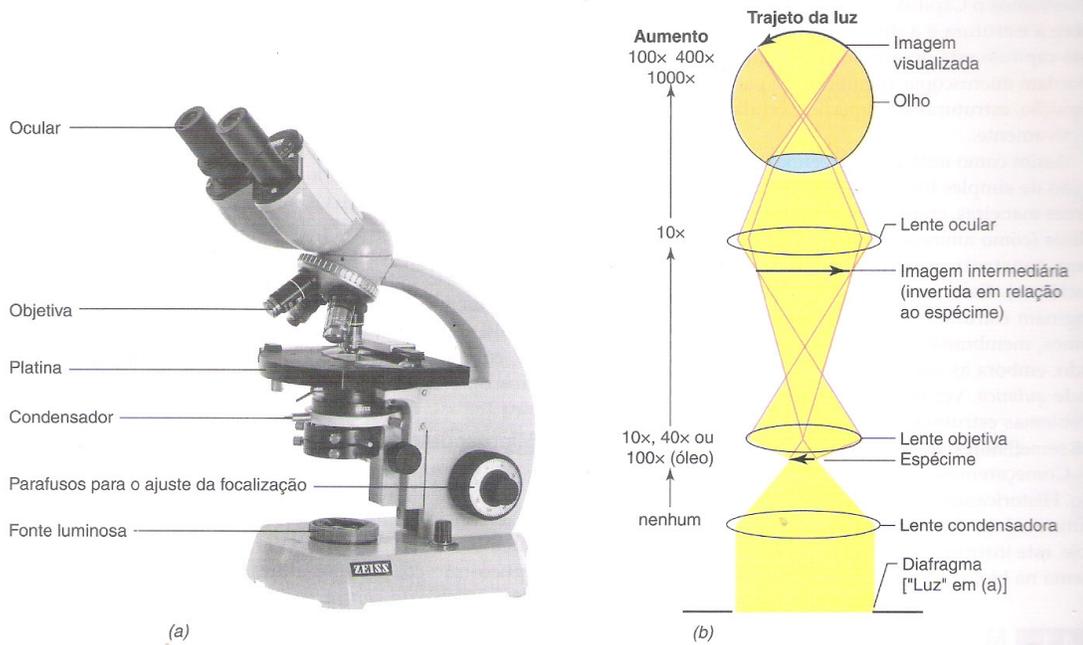
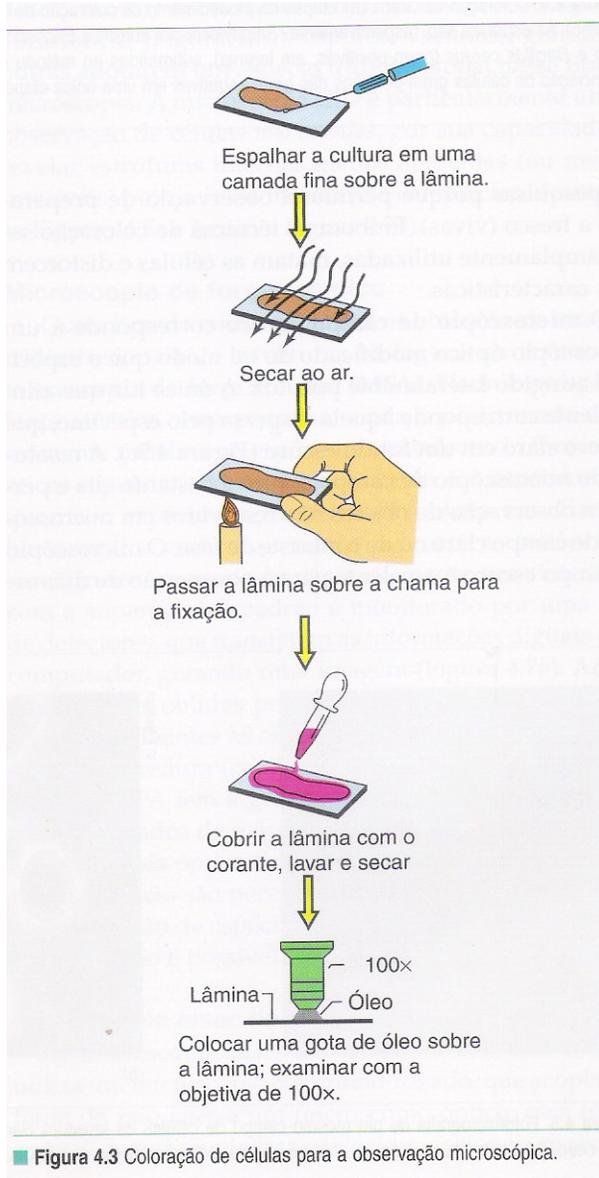


Figura 4.1 (a) Microscópio óptico composto. Algumas partes importantes do microscópio se encontram identificadas. (b) Percurso da luz através de um microscópio óptico composto. Além das oculares de 10x, existem outras lentes com aumentos de 15-30x.



■ Figura 4.3 Coloração de células para a observação microscópica.

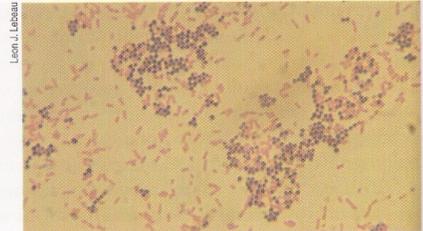
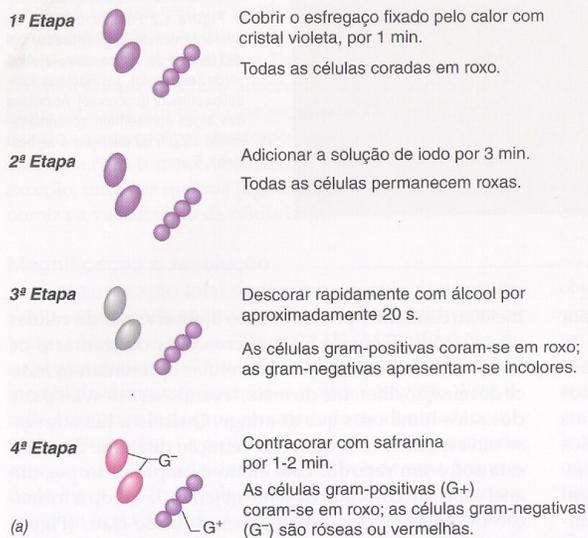
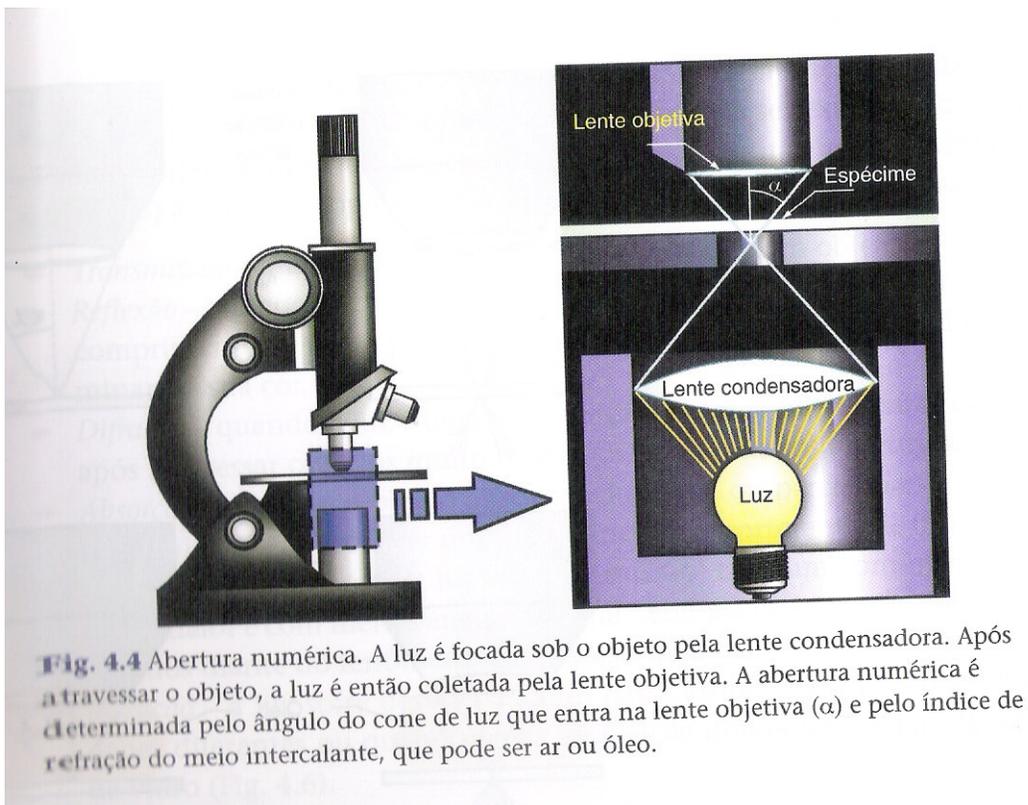


Figura 4.4 Coloração de Gram. (a) Etapas do procedimento de coloração de Gram. (b) Fotomicrografia de *Bacteria* gram-positivas (azul-roxo) e gram-negativas (rosa-vermelho). As espécies são, respectivamente, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. (c) Fotomicrografia de células de *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negativas, em verde) e *Bacillus cereus* (gram-positivas, em laranja), submetidas ao método de coloração fluorescente de etapa única, LIVE Bac Light™. Esse método permite a diferenciação de células gram-positivas das gram-negativas em uma única etapa de coloração.



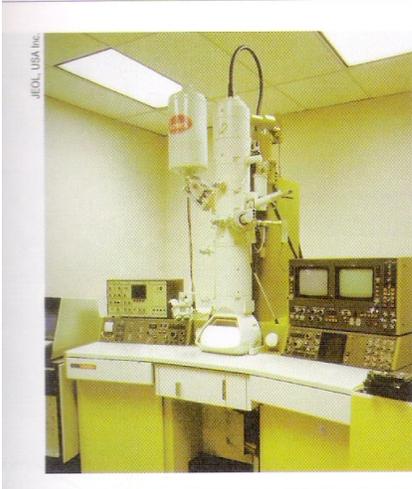


Figura 4.9 Microscópio eletrônico. Este instrumento realiza as funções de microscópio eletrônico de transmissão e de varredura.

éicos (Figura 2.4b). No entanto, como os feixes de elétrons apresentam baixa penetrabilidade, uma única célula pode ser muito espessa para ser visualizada diretamente. Conseqüentemente, técnicas especiais de cortes finos são necessárias na preparação de espécimes a serem enviados ao microscópio eletrônico. Uma única célula bacteriana, por exemplo, pode ser cortada em várias seções muito finas (20-60 nm), com a utilização de uma lâmina especial, sendo examinadas individualmente ao microscópio eletrônico (Figura 4.10a). Para obtenção de uma imagem de rastreamento suficiente, as preparações são tratadas com

corantes especiais para microscópio eletrônico, tais como ácido ósmico, permanganato, sais de urânio, lantânio ou chumbo. Como essas substâncias apresentam átomos de alta massa atômica, dispersam bem os elétrons e conseqüentemente melhoram o contraste (Figura 4.10a).

Microscopia eletrônica de varredura

Caso se deseje somente observar as características externas de um organismo, cortes ultrafinos não são necessários; as células intactas ou componentes celulares podem ser observados diretamente por MET, utilizando-se uma técnica denominada *coloração negativa* (ver, por exemplo, Figura 4.39). Alternativamente, pode-se empregar o microscópio eletrônico de varredura (MEV) (Figuras 4.9 e 4.10b). Para a utilização deste equipamento, o espécime deve ser recoberto com uma fina camada de um metal pesado, como o ouro. O feixe de elétrons do MEV é direcionado para o espécime, percorrendo-o. Os elétrons dispersos pelo metal são coletados, ativando um “écran” que produz uma imagem (Figura 4.10b). Na MEV, até mesmo espécimes relativamente grandes podem ser observados, sendo a profundidade do campo bastante satisfatória. Uma grande faixa de aumentos pode ser obtida com o MEV, desde 15x até cerca de 100.000x; sendo a superfície do objeto visualizada. Todos os microscópios eletrônicos são equipados com uma câmera, que permite fotografar as imagens (*micrografias eletrônicas*).

✓ 4.3 Verificação de conceitos

Os microscópios eletrônicos apresentam poder de resolução muito maior que os microscópios ópticos, com limite de resolução de aproximadamente 0,2 nm. Dois principais

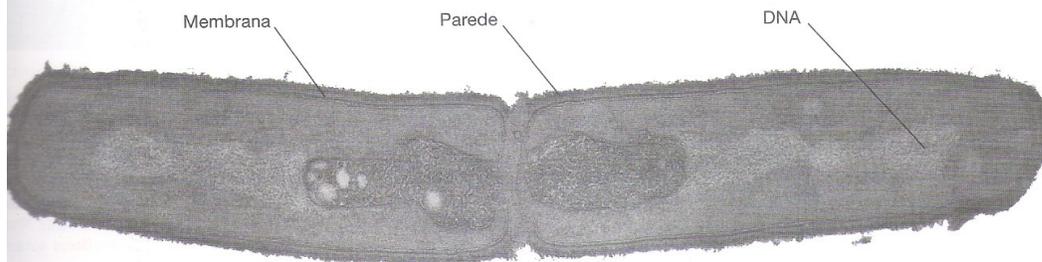
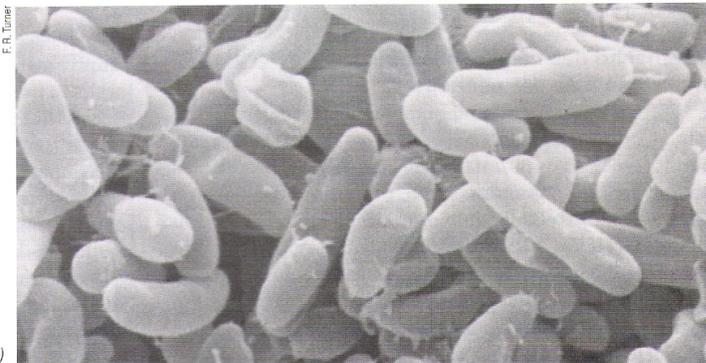


Figura 4.10 Micrografias eletrônicas de células bacterianas observadas ao microscópio (a) de transmissão e (b) de varredura. (a) Seção fina de uma bactéria gram-positiva, *Bacillus subtilis*. A célula acabou de se dividir; duas novas envolturas por membrana estão ligadas à parede celular. Observe a região clara central (DNA ou nucleóide). Esta célula tem aproximadamente 0,8 μm de diâmetro. (b) As células da bactéria fototrófica *Rhodovibrio sodomensis*. Esta célula tem aproximadamente 0,75 μm de largura. Como a MEV permite visualizar o campo em profundidade, proporcionando uma excelente imagem tridimensional.



(b)

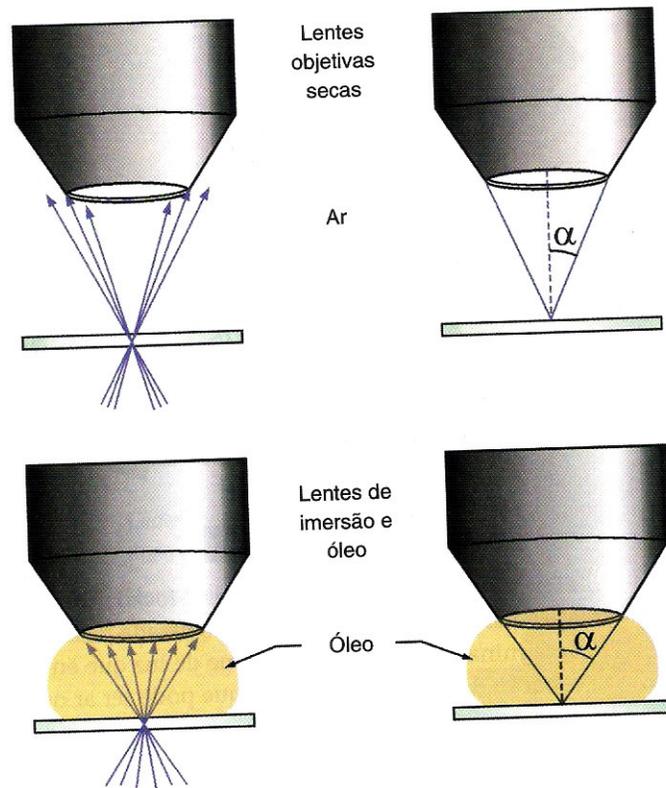


Fig. 4.5 Lentes de imersão e resolução. Nesta ilustração vemos que a luz que atravessa a lâmina de vidro e o objeto a ser analisado sofre um desvio (refração) causado pela diferença no índice de refração do ar em relação ao do vidro. Alguns raios se perdem para fora da abertura da lente objetiva. Além disso, o ângulo α será menor, diminuindo o poder de resolução. Quando se utiliza uma lente de imersão em óleo, dois fenômenos ocorrem: (a) a distância focal da objetiva é menor (a lente praticamente encosta no objeto), o que aumenta sensivelmente o ângulo α ; (b) com o uso do óleo de imersão como meio intercalante os raios luminosos não sofrem desvios, aumentando a qualidade da imagem.