



**ANA SOFIA GOMES
DA SILVA FRANCO
GABRIEL**

**BIOTECNOLOGIA: CONCEPÇÃO E VALIDAÇÃO DE
TRABALHOS PRÁTICOS**



Universidade de Aveiro Departamento de Biologia
Ano 2012

**ANA SOFIA GOMES
DA SILVA FRANCO
GABRIEL**

**BIOTECNOLOGIA: CONCEPÇÃO E VALIDAÇÃO DE
TRABALHOS PRÁTICOS**

Tese apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Biologia, realizada sob a orientação científica da Doutora Maria da Conceição Lopes Vieira dos Santos, Professora associada com agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro e co-orientação da Doutora Maria Arminda Pedrosa e Silva Carvalho, Professora auxiliar do Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra

Dedico este trabalho aos meus pais, irmã e ao Luís pelo incansável apoio.

o júri

presidente

Prof. Doutor Joaquim José Borges Gouveia

Professor catedrático do Departamento de Economia, Gestão e Engenharia Industrial da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Amadeu Mortágua Velho da Maia Soares

Professor catedrático do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Prof. Doutora Maria da Conceição Lopes Vieira dos Santos

Professora associada com agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro (orientadora)

Prof. Doutor Fernando José Mendes Gonçalves

Professor associado com agregação do Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro

Prof. Doutor Ulisses Manuel Miranda Azeiteiro

Professor auxiliar com agregação do Departamento de Ciências e Tecnologia da Universidade Aberta

Prof. Doutora Maria Arminda Pedrosa e Silva Carvalho

Professora auxiliar do Departamento de Química da Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra (co-orientadora)

Prof. Doutor Luís Gonzaga Pereira Dourado

Professor auxiliar do Instituto de Educação e Psicologia da Universidade do Minho

Prof. Doutora Paula Bacelar Valente da Costa Nicolau

Professora auxiliar do Departamento de Ciências e Tecnologia da Universidade Aberta

agradecimentos

Estas palavras têm por objectivo manifestar o meu agradecimento a todos aqueles que tornaram directa ou indirectamente possível a realização deste trabalho.

Em primeiro lugar, à Professora Doutora Maria da Conceição Santos, pela confiança que depositou em mim e por toda a ajuda prestada na concretização da parte laboratorial. Agradeço, também, à Professora Doutora Maria Arminda Pedrosa por todos os ensinamentos em educação em ciências, particularmente em relação ao trabalho prático numa perspectiva investigativa. Agradeço a ambas, com total estima e consideração, pelo apoio prestado nos momentos mais difíceis, pela paciência e compreensão com que respeitaram os meus tempos, e por todas as críticas e sugestões que foram dadas na revisão e apresentação desta dissertação.

Às minhas grandes amigas e colegas de laboratório, Gina Brito, Albertina Lopes e Ana Margarida Capelo, pelo companheirismo e simpatia sempre demonstradas. Agradeço em especial à Gina Brito pelo apoio e ajuda prestada na micropropagação de plantas, à Albertina Lopes nos trabalhos realizados com DNA e à Ana Margarida Capelo pelas sugestões na parte da educação em ciências.

À Professora Doutora Sónia Mendo pelos ensinamentos e ajuda prestada nos trabalhos de microbiologia e à colega Sofia Brites pelo apoio e parceria nas actividades realizadas em conjunto.

Aos colegas de laboratório João Loureiro e Glória Pinto pelo companheirismo.

Aos técnicos Armando Lopes pela ajuda na aclimatização de plantas e Maria Helena Dias pelo apoio nos trabalhos de microbiologia.

Ao Presidente e Vice-Presidente da Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça, respectivamente, professores Gaspar Vaz e Dulce Lopes, agradeço toda a ajuda e apoio prestados para a realização da acção de formação desenvolvida neste trabalho.

Aos professores que participaram na acção de formação, pelo interesse, entusiasmo e empenho manifestado nos trabalhos propostos.

Aos meus pais e irmã que me encorajaram a realizar e a finalizar este trabalho, pela força, coragem e apoio sempre prestados nos momentos difíceis, e pela compreensão do tempo que não lhes dediquei.

Ao Luís Dias pela colaboração prestada na realização deste trabalho, assim como, pelo encorajamento e paciência que sempre me dispensou.

A todos aqueles cujo nome não referi e que me dispensaram a sua atenção e ajuda. Muito obrigada.

palavras-chave

Actividades laboratoriais, biologia, biotecnologia, cultura *in vitro*, educação em ciências, electroforese, enzimas, extracção de DNA, fermentação alcoólica, formação contínua de professores de ciências, microbiologia, inter-relações CTS, trabalho prático numa perspectiva investigativa.

resumo

É hoje geralmente aceite que a educação em ciências, além da aprendizagem de conhecimento conceptual e procedimental, deve promover nos alunos o desenvolvimento de competências investigativas, ou seja, competências para identificar, formular e resolver problemas. Porém, o desenvolvimento de actividades práticas de natureza investigativa é difícil, pela carência, ou mesmo ausência, de vivências dos professores em investigações, sobretudo em projectos aplicáveis nas práticas lectivas. A frequente falta de formação inicial e contínua dos professores de ciências, relativamente ao desenvolvimento de competências indispensáveis à implementação desta perspectiva de trabalho prático, constitui um obstáculo à concretização de inovações educativas preconizadas para a educação em ciências, referidas em documentos aprovados e publicados pelo Ministério da Educação, em particular, orientações curriculares e programas disciplinares.

A abordagem de temáticas em biotecnologia configura-se como uma necessidade das sociedades actuais, de modo que, atendendo aos avanços que se têm vindo a verificar nesta área, deverá integrar-se em educação científica formal, relacionando-a com a vida quotidiana dos cidadãos. Além de componentes científicas inovadoras, os seus desenvolvimentos têm diversas implicações, designadamente éticas, políticas, económicas e sociais.

A investigação apresentada nesta dissertação insere-se neste quadro, a qual se baseou no seguinte problema: “*Partindo de temáticas em biotecnologia, como estimular o desenvolvimento de trabalho prático numa perspectiva investigativa por professores de Biologia e/ou Geologia?*”. Definiram-se dois objectivos gerais: 1) testar, conceber e otimizar actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia, transponíveis para contextos educativos dos ensinos básico e secundário, desmistificando a complexidade associada ao trabalho prático nesta área; 2) conceber, implementar e avaliar uma acção de formação para professores de Biologia e/ou Geologia, na modalidade de Oficina de Formação, visando em contextos escolares e em temáticas de biotecnologia, desenvolver percursos investigativos.

A acção de formação “*Desenvolvimento de actividades práticas em biotecnologia numa perspectiva investigativa: um contributo na (re)orientação de ensino e aprendizagem de ciências*” estimulou os professores-formandos a participarem activamente num programa que integrava abordagens inovadoras de trabalho prático, e criou condições para, com orientação e apoio, desenvolverem percursos investigativos a partir de situações-problema em temáticas de biotecnologia.

resumo

Na generalidade, as reflexões dos professores-formandos sobre os percursos investigativos planeados e implementados, e os ganhos a nível profissional e/ou pessoal, além de referências elogiosas à estrutura e sequência das actividades propostas na formação, realçaram os seguintes aspectos positivos: a) o enriquecimento de conhecimentos científico-tecnológicos em biotecnologia; b) a oportunidade de reflexão sobre as suas práticas e a necessidade de uma nova forma de olhar para o trabalho laboratorial e experimental e para o seu papel nas aulas de ciências; c) as potencialidades de trabalho prático numa perspectiva investigativa em termos de mobilização de competências de natureza conceptual e processual; d) o desenvolvimento de competências técnicas e processuais necessárias à implementação de percursos investigativos com recurso a procedimentos em biotecnologia.

Do presente estudo decorrem implicações educacionais que se esperam pertinentes para a formação de professores de ciências e elaboração de recursos didácticos, designadamente manuais escolares, assim como, para a gestão dos programas disciplinares. Este estudo permitiu, ainda, apresentar propostas para futuras investigações.

keywords

Alcoholic fermentation, biology, biotechnology, electrophoresis, enzymes, DNA extraction, in-service science teachers' education, *in vitro* culture, laboratory activities, microbiology, practical work in an investigative perspective, science education, STS relationships.

abstract

It is currently recognised that science education, besides providing the learning of conceptual and procedural knowledge, must endorse in the students the development of research competences, i.e., the competences to identify, formulate and solve problems. However, the development of practical activities of research nature are difficult, by the shortage, or even absence, of teachers' experiences in research, mostly in projects applicable to teaching practices. The recurrent lack of initial and continuing training of science teachers, for the development of skills needed to implement this perspective of practical work, is an obstacle to the implementation of educational innovations promoted for science education, and reported in documents published by the Ministry of Education, in particular, in curricular guidelines and in disciplinary programs.

Approaching themes in biotechnology seems to be a necessity of modern society, so that, given the advances that have been observed in this field, it shall be integrated into formal scientific education, and be connected with the everyday lives of citizens. In addition to innovative scientific components, its exploitation has several implications, namely ethical, political, economic and social ones.

The investigation presented in this thesis fits into this framework, which was based on the following problem: "*Using the thematic of biotechnology, how to stimulate the development of practical work within an investigative perspective for teachers of biology and/or geology?*". We defined two general objectives: 1) to test, design and optimize laboratorial and experimental activities in biotechnology, transferable to educational contexts of primary and secondary education, demystifying the complexities associated with practical work in this area; 2) to design, implement and evaluate a training action for teachers of biology and/or geology, in the form of training workshop, aiming at developing investigative pathways, in school contexts and using themes of biotechnology.

The training action "*Development of practical activities in biotechnology within an investigative perspective: a contribute to the (re)orientation of teaching and learning in sciences*" encouraged teachers to participate actively in a program that integrated innovative approaches into practical work, and created conditions in order to, with guidance and support, develop investigative pathways using problem-situations in biotechnology issues.

abstract

Overall, the teachers reflected on: the planned and implemented investigative pathways; the incomes at a professional and/or personnel levels. These reflections and the positive references to the structure and sequence of the proposed activities highlighted the following aspects: a) the enrichment of scientific and technological knowledge in biotechnology; b) the opportunity to reflect on their practices and the need for a new way of looking at the laboratorial and experimental work and their role in science classes; c) the potential for practical work in an investigative perspective in terms of mobilization of expertise; d) the development of measures to implement investigative routes using procedures in biotechnology.

From the present study educational implications emerged that one hopes to be appropriate to the training of science teachers and to the elaboration of teaching resources, including scholar manuals, as well as for the management of course programs. This study also allowed to present proposals for future research.

CAPÍTULO 1 – CONTEXTUALIZAÇÃO E APRESENTAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

1.1. Introdução.....	3
1.2. Contextualização da investigação.....	3
1.2.1. Biologia/Biotecnologia no contexto das finalidades de educação em ciências.....	3
1.2.2. Actividades laboratoriais em educação científica formal.....	10
1.2.3. Finalidades de trabalho prático em educação em ciências nos currículos de Ciências Naturais e de Biologia e/ou Geologia.....	13
1.3. Apresentação da investigação	17
1.3.1. Problema e objectivos.....	17
1.3.2. Plano global	19
1.4. Plano geral da dissertação.....	21

CAPÍTULO 2 – REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Introdução.....	25
2.2. Fundamentos de biotecnologia.....	25
2.2.1. O que é biotecnologia.....	25
2.2.2. Biotecnologia vegetal – micropropagação de plantas.....	28
2.2.2.1. Cultura de plantas <i>in vitro</i>	28
2.2.2.2. Componentes nutricionais dos meios de cultura.....	30
2.2.2.3. Fases da micropropagação.....	34
2.2.2.4. Espécie modelo: <i>Brassica oleracea var. botrytis</i> L.....	38
2.2.3. Engenharia genética – algumas técnicas e aplicações.....	39
2.2.3.1. DNA.....	39
2.2.3.2. Tecnologia do DNA recombinante.....	41
2.2.3.3. Transferência de genes para células vegetais – plantas transgénicas....	45
A) Transformação mediada por vectores.....	46
B) Transferência directa.....	49
2.2.3.4. Práticas de engenharia genética.....	50
A) Em medicina.....	50
B) Em agricultura e protecção ambiental.....	52
2.2.3.5. Aspectos sociais, éticos e de segurança.....	55
2.2.4. Microbiologia e indústrias.....	56
2.2.4.1. Nutrição e crescimento de microrganismos.....	56
2.2.4.2. Produtos de microbiologia industrial.....	61
A) Microrganismos do solo e produção de antibióticos.....	62
B) Enzimas microbianas e indústria alimentar.....	66

C) Leveduras em processos de fermentação alcoólica.....	69
2.2.4.3. Controlo antimicrobiano por agentes físicos e químicos.....	70
2.3. Trabalho prático em educação em ciências e formação de professores	73
2.3.1. Clarificação de termos relacionados com trabalho prático.....	73
2.3.2. Tipos de actividades laboratoriais.....	76
2.3.3. Níveis de abertura de actividades laboratoriais.....	80
2.3.4. Objectivos de trabalho laboratorial.....	86
2.3.5. Abordagens tradicionais de trabalho laboratorial.....	90
2.3.6. Trabalho prático em diferentes perspectivas de ensino de ciências.....	93
2.3.6.1. Perspectiva de ensino por transmissão-recepção.....	93
2.3.6.2. Perspectiva de ensino por descoberta.....	95
2.3.6.3. Perspectiva de ensino com orientação construtivista.....	97
2.3.7. Perspectiva investigativa de trabalho prático em educação em ciências.....	102
2.3.7.1. Importância da integração de inter-relações CTS em contextos de trabalho prático investigativo.....	102
2.3.7.2. Investigações e trabalho prático orientado por problemas.....	106
2.3.8. Os professores no contexto da educação em ciências.....	118
2.3.8.1. Concepções e práticas dos professores de ciências.....	118
2.3.8.2. Formação contínua para a mudança de práticas dos professores.....	122

CAPÍTULO 3 – METODOLOGIAS

3.1. Introdução.....	129
3.2. Actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia.....	129
3.2.1. Enquadramento curricular das actividades laboratoriais e experimentais.....	129
3.2.2. Procedimentos testados, concebidos e optimizados.....	131
3.2.2.1. Biotecnologia vegetal – cultura <i>in vitro</i> de couve-flor e de violeta africana.....	131
3.2.2.2. Manipulação de DNA e engenharia genética.....	135
A) Extração de DNA de células vegetais e avaliação da sua qualidade por electroforese em gel de agarose.....	136
B) Digestão de DNA por enzimas de restrição.....	140
C) Transformação genética mediada por <i>Rhizobium radiobacter</i>	142
3.2.2.3. Microbiologia.....	144
A) Bactérias do solo.....	144
A1) Detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	144

A2) Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	148
A3) Detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.....	150
B) Enzimas microbianas na indústria alimentar.....	153
B1) <i>Peeling</i> enzimático de citrinos.....	153
B2) Acção enzimática na produção de sumo de maçã.....	154
B3) Acção da lactase sobre o leite por imobilização da enzima.....	155
C) Estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase.....	157
D) Leveduras em processos de fermentação alcoólica.....	161
3.3. Acção de formação para professores de Biologia e/ou Geologia.....	163
3.3.1. Contextualização.....	163
3.3.2. Selecção e caracterização da amostra – o grupo de professores-formandos.....	169
3.3.3. Técnicas de recolha de dados – instrumentos utilizados.....	171
3.3.4. Enquadramento dos contextos problemáticos em dimensões de educação <i>em, sobre e pelas</i> ciências.....	175
3.3.5. Descrição das sessões de formação e actividades propostas.....	177

CAPÍTULO 4 – APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. Introdução.....	187
4.2. Apresentação de dados e discussão dos resultados das actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia.....	187
4.2.1. Biotecnologia vegetal.....	187
4.2.1.1. Cultura <i>in vitro</i> de couve-flor.....	187
4.2.1.2. Cultura <i>in vitro</i> de violeta africana.....	194
4.2.2. Manipulação de DNA e engenharia genética.....	202
4.2.2.1. Extracção de DNA de células vegetais e avaliação da sua qualidade por electroforese em gel de agarose.....	202
4.2.2.2. Digestão de DNA por enzimas de restrição.....	204
4.2.2.3. Transformação genética mediada por <i>Rhizobium radiobacter</i>	206
4.2.3. Microbiologia.....	207
4.2.3.1. Bactérias do solo.....	207
A) Detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	207
B) Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	210
C) Detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.....	211
4.2.3.2. Enzimas microbianas na indústria alimentar.....	213

A) <i>Peeling</i> enzimático de citrinos.....	213
B) Acção enzimática na produção de sumo de maçã.....	213
C) Acção da lactase sobre o leite por imobilização da enzima.....	214
4.2.3.3. Estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase.....	215
4.2.3.4. Leveduras em processos de fermentação alcoólica.....	217
4.3. Apresentação de dados e discussão dos resultados da acção de formação.....	219
4.3.1. Pontos de vista dos professores-formandos antes da oficina de formação – respostas ao questionário de diagnóstico.....	219
4.3.1.1. Parte I do questionário de diagnóstico.....	219
4.3.1.2. Parte II do questionário de diagnóstico.....	222
4.3.2. Actividades desenvolvidas pelos professores-formandos na oficina de formação	243
4.3.2.1. Significados atribuídos a trabalho prático, laboratorial, experimental e de campo e suas inter-relações.....	243
4.3.2.2. Concepção e planificação de percursos investigativos.....	248
A) Contextos problemáticos e problematização.....	248
B) Planos de investigação e desenhos experimentais.....	254
4.3.2.3. Percursos investigativos implementados.....	256
4.3.3. Avaliação da oficina de formação pelos professores-formandos.....	266
4.3.3.1. Análise das respostas ao questionário de avaliação.....	266
4.3.3.2. Análise dos relatórios críticos.....	282

CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES

5.1. Introdução.....	293
5.2. Conclusões.....	293
5.2.1. Conclusões referentes aos trabalhos práticos em biotecnologia.....	293
5.2.1.1. Actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia.....	293
5.2.1.2. Exequibilidade das actividades laboratoriais e experimentais nas escolas portuguesas.....	297
5.2.2. Conclusões referentes à oficina de formação.....	300
5.2.2.1. Impacto da formação em concepções dos professores-formandos relativas a trabalho prático	300
5.2.2.2. Avaliação da oficina de formação.....	302
5.3. Limitações da investigação.....	305
5.4. Implicações educacionais.....	306
5.5. Propostas para futuras investigações.....	310

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	313
LEGISLAÇÃO CONSULTADA	341
SÍTIOS DA INTERNET CONSULTADOS	345
ANEXOS	349
ANEXO 1 – Meios de cultura e soluções.....	351
ANEXO 2 – Procedimento 1A: Desinfecção e inoculação dos explantes de couve-flor para a indução de rebentos.....	355
ANEXO 3 – Procedimento 1B: Desinfecção e inoculação dos explantes de violeta africana para a indução de rebentos.....	358
ANEXO 4 – Procedimento 2: Transferência dos rebentos para o meio de enraizamento.....	361
ANEXO 5 – Procedimento 3: Transferência das plântulas para o substrato de transplante e aclimatização.....	362
ANEXO 6 – Procedimento 4A: Extração de DNA de germen de trigo (procedimento simples).....	364
ANEXO 7 – Procedimento 4B: Extração de DNA de morango (procedimento simples).....	366
ANEXO 8 – Procedimento 5A: Extração de DNA de cebola para electroforese.....	368
ANEXO 9 – Procedimento 5B: Extração de DNA de germen de trigo para electroforese.....	372
ANEXO 10 – Procedimento 6: Electroforese em gel de agarose.....	376
ANEXO 11 – Procedimento 7: Digestão do DNA lambda pela <i>EcoRI</i> e <i>PstI</i>	381
ANEXO 12 – Procedimento 8: Transformação genética de raiz de cenoura mediada por <i>Rhizobium radiobacter</i>	384
ANEXO 13 – Procedimento 9: Isolamento de bactérias do solo.....	386
ANEXO 14 – Procedimento 10: Obtenção de isolados bacterianos.....	388
ANEXO 15 – Procedimento 11: Detecção da actividade antibiótica.....	389
ANEXO 16 – Procedimento 12: Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	392
ANEXO 17 – Procedimento 13: Detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.....	395
ANEXO 18 – Procedimento 14: <i>Peeling</i> enzimático de citrinos.....	397
ANEXO 19 – Procedimento 15: Acção enzimática na produção de sumo de maçã.....	399
ANEXO 20 – Procedimento 16: Acção da lactase sobre o leite por imobilização da enzima..	401
ANEXO 21 – Procedimento 17: Extração da catalase.....	403
ANEXO 22 – Procedimento 18: Estudo da concentração de enzima na actividade enzimática.....	404

ANEXO 23 – Procedimento 19: Estudo da concentração de substrato na actividade enzimática.....	406
ANEXO 24 – Procedimento 20: Efeito da variação da temperatura na actividade enzimática.....	408
ANEXO 25 – Procedimento 21: Efeito da variação do pH na actividade enzimática.....	410
ANEXO 26 – Procedimento 22: Estudo do tipo de substrato no rendimento da fermentação alcoólica.....	412
ANEXO 27 – Procedimento 23: Efeito da variação da temperatura no rendimento da fermentação alcoólica.....	414
ANEXO 28 – Questionário de diagnóstico.....	415
ANEXO 29 – Questionário de avaliação da oficina de formação.....	424
ANEXO 30 – Relatório crítico.....	430
ANEXO 31 – Questionários e relatório crítico: tipos, modalidades e objectivos das questões.....	432
ANEXO 32 – Fichas individuais dos professores-formandos.....	434
ANEXO 33 – Declaração de aceitação de colaboração na investigação.....	437
ANEXO 34 – Actividades 1A e 1B.....	438
ANEXO 35 – Actividade 2.....	442
ANEXO 36 – Actividade 3 – Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos.....	443
ANEXO 37 – Actividade 3 – Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica.....	447
ANEXO 38 – Actividade 3 – Menos radicais livres, mais vida...o caso da catalase.....	452
ANEXO 39 – Actividade 3 – Cultura de tecidos <i>in vitro</i> – uma estratégia para a multiplicação de plantas em larga escala.....	456
ANEXO 40 – Actividade 3 – Consumo de alimentos geneticamente modificados e segurança alimentar.....	461
ANEXO 41 – Actividade 4 – Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos.....	467
ANEXO 42 – Actividade 4 – Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica.....	469
ANEXO 43 – Actividade 4 – Menos radicais livres, mais vida...o caso da catalase.....	471
ANEXO 44 – Actividade 4 – Cultura de tecidos <i>in vitro</i> – uma estratégia para a multiplicação de plantas em larga escala.....	473
ANEXO 45 – Actividade 4 – Consumo de alimentos geneticamente modificados e segurança alimentar.....	475
ANEXO 46 – Actividade 5 – Estrutura de uma planificação de actividades práticas.....	478
ANEXO 47 – Estrutura de um Vê de Gowin.....	481
ANEXO 48 – Guião de percursos investigativos.....	482
ANEXO 49 – Resumo das sessões de formação.....	484

ANEXO 50 – Actividade 2 – Mapas de conceitos construídos pelos grupos de trabalho relativos a TP, TL, TE e TC.....	492
ANEXO 51 – Actividade 4 – Respostas dos grupos de trabalho.....	494
ANEXO 52 – Percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 1.....	498
ANEXO 53 – Percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 2.....	502
ANEXO 54 – Percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 3.....	505
ANEXO 55 – Percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 4.....	509
ANEXO 56 – Assiduidade dos professores-formandos nas sessões de formação.....	513

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 – Plano global da investigação.....	20
Figura 2.1 – Estrutura da parte floral da couve-flor.....	38
Figura 2.2 – Modelo da dupla hélice da molécula de DNA.....	40
Figura 2.3 – Ferramentas chave da engenharia genética: enzimas de restrição (<i>EcoRI</i>) e DNA ligase.....	41
Figura 2.4 – Princípios fundamentais da tecnologia do DNA recombinante.....	43
Figura 2.5 – Vectores de clonagem utilizados na tecnologia do DNA recombinante.....	44
Figura 2.6 – Representação esquemática da estrutura do plasmídeo Ti de <i>Rhizobium radiobacter</i>	47
Figura 2.7 – Modificação genética de plantas.....	48
Figura 2.8 – Métodos de isolamento de culturas puras.....	58
Figura 2.9 – Curva de crescimento típica de uma população microbiana em sistema fechado.....	60
Figura 2.10 – Formação de metabolitos primários e secundários.....	61
Figura 2.11 – Isolamento de microrganismos produtores de antibióticos.....	65
Figura 2.12 – Método de difusão em agar para avaliação da actividade antibiótica.....	72
Figura 2.13 – Relações entre investigações, trabalho prático, laboratorial, experimental e de campo.....	75
Figura 2.14 – Categorias de Bloom para os objectivos educativos do domínio cognitivo.....	81
Figura 2.15 – Grau de abertura de actividades laboratoriais.....	82
Figura 2.16 – Esquematização das perspectivas EPTR – ensino por transmissão-recepção, EPD – ensino por descoberta, EMC – ensino por mudança conceptual e EPI – ensino por investigação.....	101
Figura 2.17 – Diagrama de um ciclo de investigação.....	112
Figura 3.1 – Detecção da produção de antibióticos pela técnica de sobrecamada (A) e técnica de riscado (B).....	145

Figura 3.2 – Sequência de discos de papel de filtro embebidos com antibióticos, antissépticos e desinfetantes nas placas de Petri inoculadas por incorporação (A) e espalhamento com a zaragatoa (B).....	149
Figura 3.3 – Zonas de hidrólise do amido em torno de bactérias produtoras de amilases, após adição do soluto de Lugol (resultado positivo).....	151
Figura 3.4 – Estrutura da laranja.....	153
Figura 3.5 – Estrutura da parede celular de células vegetais.....	154
Figura 3.6 – Montagem do fermentador.....	161
Figura 3.7 – Traços gerais dos percursos investigativos desenvolvidos com e pelos professores-formandos na OF.....	166
Figura 3.8 – Enquadramento dos contextos problemáticos para desenvolvimento de percursos investigativos em dimensões de educação <i>em, sobre e pelas</i> ciências.....	176
Figura 3.9 – Fases do programa da OF e actividades desenvolvidas em cada fase.....	177
Figura 4.1 – Curva de crescimento dos explantes de couve-flor em meio MS com cinetina (2,5 mg/L).....	191
Figura 4.2 – Evolução dos explantes de couve-flor.....	192
Figura 4.3 – Aclimatização num estufim e transferência das plantas de couve-flor para o campo.....	193
Figura 4.4 – Fases da micropropagação da couve-flor.....	193
Figura 4.5 – Evolução dos explantes de violeta africana até à fase de aclimatização das plântulas.....	196
Figura 4.6 – Fases da micropropagação da violeta africana.....	197
Figura 4.7 – Curva de crescimento dos rebentos de violeta africana em meio MS com BAP (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L).....	198
Figura 4.8 – Comparação da curva de crescimento dos explantes de couve-flor (meio MS com cinetina) com rebentos de violeta africana (meio MS com BAP e IBA), durante cinco semanas, após o cálculo da massa inicial.....	199
Figura 4.9 – Efeito do <i>adubo líquido universal KB[®]</i> na micropropagação da violeta africana.....	200
Figura 4.10 – Curva de crescimento dos rebentos de violeta africana em meio de cultura com <i>adubo líquido universal KB[®]</i> acrescido de cinetina (2,5 mg/L).....	201
Figura 4.11 – Resultados da extracção de DNA e da electroforese em gel de agarose.....	203
Figura 4.12 – Resultados da digestão do DNA lambda após a electroforese.....	205
Figura 4.13 – Gráfico semi-logarítmico correspondente à curva-padrão do marcador λ /HindIII de massa molecular conhecida.....	206
Figura 4.14 – Desenvolvimento de um tumor em discos de raiz de cenoura, por infecção com <i>Rhizobium radiobacter</i> , em volta do cilindro central, na zona do câmbio vascular.....	207
Figura 4.15 – Colónias resultantes da técnica de espalhamento da suspensão de solo proveniente da diluição 10^{-3} em meio selectivo (A) e em meio complexo (B).....	208

Figura 4.16 – Detecção de bactérias produtoras de antibióticos pela inibição do crescimento da estirpe indicadora (<i>Micrococcus luteus</i>).....	209
Figura 4.17 – Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfetantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	211
Figura 4.18 – Detecção de bactérias do solo produtoras de amilases.....	212
Figura 4.19 – Aspecto exterior e interior da laranja após a acção da pectinase.....	213
Figura 4.20 – Volume de sumo de maçã produzido em função do tempo.....	214
Figura 4.21 – Grau de limpidez e volume de sumo de maçã obtido pela acção da pectinase e da celulase após 60 minutos de filtração.....	214
Figura 4.22 – Resultados do teste com tiras de detecção de glicose.....	215
Figura 4.23 – Quantificação da actividade enzimática da catalase em função da concentração de enzima (A), concentração de substrato (B), variação da temperatura (C) e do pH (D).....	216
Figura 4.24 – Rendimento fermentativo de diferentes tipos de substrato à temperatura ambiente.....	218
Figura 4.25 – Rendimento fermentativo a diferentes temperaturas utilizando a glicose como substrato.....	219
Figura 4.26 – Grau de conhecimento sobre inter-relações CTS e perspectivas investigativas de trabalho prático.....	221
Figura 4.27 – Importância da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.....	228
Figura 4.28 – Frequência da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.....	231
Figura 4.29 – Grau de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial habitualmente realizado nas aulas.....	233
Figura 4.30 – Grau de concordância/discordância com aspectos relacionados com trabalho experimental e laboratorial.....	235
Figura 4.31 – Grau de concordância/discordância relativamente a dificuldades sentidas aquando da implementação de trabalho experimental e laboratorial.....	237
Figura 4.32 – Modalidades de trabalho experimental e laboratorial realizadas no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.....	239
Figura 4.33 – Avaliação do trabalho experimental e laboratorial relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, afectivos e de competências manipulativas.....	240
Figura 4.34 – Solicitação de relatório aquando da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.....	242
Figura 4.35 – Contribuição das actividades 1A e 1B para a consecução de objectivos a atingir com a implementação de trabalho prático.....	245

Figura 4.36 – Inter-relações CTS estabelecidas pelos grupos de trabalho a partir dos contextos problemáticos seleccionados.....	250
Figura 4.37 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 1.....	258
Figura 4.38 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 2.....	260
Figura 4.39 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 3.....	263
Figura 4.40 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 4.....	265
Figura 4.41 – Grau de concordância/discordância relativamente aspectos referentes à OF..	266
Figura 4.42 – Auto-avaliação de competências desenvolvidas na OF.....	267
Figura 4.43 – Grau de dificuldade/facilidade percebida pelos professores-formandos na concretização de percursos investigativos.....	268
Figura 4.44 – Avaliação do trabalho prático desenvolvido na OF relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, afectivos e de competências manipulativas.....	272
Figura 4.45 – Avaliação do trabalho prático relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, antes da OF (A) e depois da OF (D).....	274
Figura 4.46 – Grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na OF.....	279

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 – Composição do meio de Murashige & Skoog (MS) (1962).....	31
Tabela 2.2 – Sequência alvo e local de corte de algumas enzimas de restrição.....	42
Tabela 2.3 – Classificação dos meios de cultura.....	56
Tabela 2.4 – Biomassa e números aproximados de organismos de um solo fértil.....	63
Tabela 2.5 – Antibióticos de interesse comercial e respectivos microrganismos produtores..	64
Tabela 2.6 – Enzimas de origem microbiana e suas aplicações na indústria.....	69
Tabela 2.7 – Tipologia de actividades laboratoriais.....	78
Tabela 2.8 – Parâmetros a considerar na análise do grau de abertura de actividades laboratoriais.....	83
Tabela 2.9 – Níveis de abertura de actividades laboratoriais.....	84
Tabela 2.10 – Tipos de actividades prático-laboratoriais em função do nível de controlo do professor (P) e alunos (A) sobre várias dimensões estruturantes.....	85
Tabela 2.11 – Orientações de um guião para a realização de investigações.....	115
Tabela 3.1 – Enquadramento curricular, por disciplina e ano de escolaridade, das actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia.....	130
Tabela 3.2 – Condições de cultura testadas.....	133
Tabela 3.3 – Materiais, reagentes e equipamentos para a preparação de meios de cultura..	134

Tabela 3.4 – Materiais, reagentes e equipamentos para a desinfecção e inoculação dos explantes no meio de cultura.....	135
Tabela 3.5 – Materiais, reagentes e equipamentos para a transferência dos rebentos para o meio de enraizamento.....	135
Tabela 3.6 – Materiais, reagentes e equipamentos para a transferência de plântulas para o substrato de transplante e aclimatização.....	135
Tabela 3.7 – Materiais, reagentes e equipamentos para os procedimentos de extracção de DNA.....	139
Tabela 3.8 – Materiais, reagentes e equipamentos para a electroforese em gel de agarose.	140
Tabela 3.9 – Materiais, reagentes e equipamentos para a digestão do DNA lambda por enzimas de restrição.....	142
Tabela 3.10 – Materiais, reagentes e equipamentos para a transformação genética de discos de raiz de cenoura por <i>Rhizobium radiobacter</i>	143
Tabela 3.11 – Materiais, reagentes e equipamentos para a detecção e o isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos.....	147
Tabela 3.12 – Materiais, reagentes e equipamentos para a avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos.	150
Tabela 3.13 – Materiais, reagentes e equipamentos para a detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.....	152
Tabela 3.14 – Materiais, reagentes e equipamentos para o <i>peeling</i> enzimático de citrinos...	154
Tabela 3.15 – Materiais, reagentes e equipamentos para a produção de sumo de maçã.....	155
Tabela 3.16 – Materiais, reagentes e equipamentos para a acção da lactase sobre o leite...	157
Tabela 3.17 – Materiais, reagentes e equipamentos para a extracção da catalase.....	159
Tabela 3.18 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo da concentração de enzima na actividade da catalase.....	159
Tabela 3.19 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo da concentração de substrato na actividade da catalase.....	160
Tabela 3.20 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do efeito da variação da temperatura na actividade da catalase.....	160
Tabela 3.21 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do efeito da variação do pH na actividade da catalase.....	160
Tabela 3.22 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do tipo de substrato no rendimento da fermentação alcoólica.....	162
Tabela 3.23 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do efeito da variação da temperatura no rendimento da fermentação alcoólica.....	163
Tabela 3.24 – Descrição sumária das fases do programa da OF.....	168
Tabela 3.25 – Calendarização das sessões de formação.....	168
Tabela 3.26 – Caracterização do grupo de professores-formandos que frequentaram a OF.	170

Tabela 4.1 – Resultados obtidos nas fases da micropropagação de couve-flor.....	188
Tabela 4.2 – Cronologia da micropropagação de couve-flor.....	188
Tabela 4.3 – Efeito de auxinas e citocininas na micropropagação de couve-flor.....	189
Tabela 4.4 – Massas dos explantes de couve-flor ao longo de cinco semanas.....	190
Tabela 4.5 – Resultados obtidos nas fases da micropropagação de violeta africana.....	195
Tabela 4.6 – Cronologia da micropropagação de violeta africana.....	195
Tabela 4.7 – Massas dos rebentos de violeta africana ao longo de cinco semanas.....	198
Tabela 4.8 – Massas dos rebentos de violeta africana ao longo de quatro meses.....	201
Tabela 4.9 – Tamanho estimado de cada fragmento, em pares de bases, por comparação com a posição dos fragmentos de tamanho conhecido do marcador $\lambda/HindIII$ (VR – valor real e VE – valor estimado).....	204
Tabela 4.10 – Valor aproximado do tamanho dos fragmentos de DNA resultantes da digestão pelas enzimas <i>EcoRI</i> e <i>PstI</i>	206
Tabela 4.11 – Motivações profissionais e/ou pessoais para a inscrição na OF.....	220
Tabela 4.12 – Expectativas relativamente à OF.....	221
Tabela 4.13 – Concepções de trabalho prático.....	222
Tabela 4.14 – Concepções de trabalho laboratorial.....	224
Tabela 4.15 – Concepções de trabalho experimental.....	225
Tabela 4.16 – Relações entre trabalho prático, trabalho laboratorial e trabalho experimental.....	226
Tabela 4.17 – Justificações da importância de realizar trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.....	229
Tabela 4.18 – Justificações da frequência de realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.....	232
Tabela 4.19 – Justificações do grau de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial habitualmente realizado nas aulas.....	234
Tabela 4.20 – Tipo de relatório sugerido aos alunos.....	242
Tabela 4.21 – Justificações para a não solicitação de relatório aos alunos do 3º ciclo do ensino básico.....	243
Tabela 4.22 – Caracterização das actividades práticas analisadas pelos grupos de trabalho.....	244
Tabela 4.23 – Caracterização das Actividades 1A e 1B pelos grupos de trabalho.....	246
Tabela 4.24 – Significados atribuídos pelos grupos a trabalho prático, de campo, experimental e laboratorial.....	248
Tabela 4.25 – Questões de investigação formuladas pelos grupos de trabalho para desenvolvimento de percursos investigativos.....	251
Tabela 4.26 – Questões de investigação seleccionadas pelos grupos de trabalho, propostas de enquadramento curricular e previsões quanto ao interesse que despertariam nos alunos.....	253

Tabela 4.27 – Justificações para as dificuldades de concretização de percursos investigativos.....	270
Tabela 4.28 – Vantagens e desvantagens da realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa.....	276
Tabela 4.29 – Avaliação da OF: aspectos positivos e negativos.....	278
Tabela 4.30 – Justificações do grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na OF.....	280
Tabela 4.31 – Apreciação crítica do desempenho da formadora.....	281

APÊNDICES (EM CD-ROM)

APÊNDICE 1 – Apresentação em *PowerPoint*[®]: Enquadramento da Oficina de Formação no âmbito dos actuais *curricula* do ensino secundário.

APÊNDICE 2 – Apresentação em *PowerPoint*[®]: Trabalho prático: abordagens tradicionais *versus* orientações inovadoras.

APÊNDICE 3 – Bibliografia pré-seleccionada pela investigadora-formadora.

APÊNDICE 4 – Apresentação em *PowerPoint*[®] do percurso investigativo realizado pelo grupo de trabalho 1.

APÊNDICE 5 – Apresentação em *PowerPoint*[®] do percurso investigativo realizado pelo grupo de trabalho 2.

APÊNDICE 6 – Apresentação em *PowerPoint*[®] do percurso investigativo realizado pelo grupo de trabalho 3.

APÊNDICE 7 – Apresentação em *PowerPoint*[®] do percurso investigativo realizado pelo grupo de trabalho 4.

APÊNDICE 8 – Relatórios críticos dos professores-formandos.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,4-D: Ácido 2,4-diclorofenoxiacético

A: Adenina

AAAS: *American Association for the Advancement of Science*

ABA: Ácido abscísico

APD: Aprendizagem por descoberta

BAP: 6-benzilaminopurina

BSCS: *Biological Sciences Curriculum Study*

C: Citosina

CCPFC: Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua

CFAE: Centro de Formação de Associação das Escolas dos Concelhos de Alcobaça e Nazaré

CTS: Ciência-Tecnologia-Sociedade

DEB: Departamento da Educação Básica

DGIDC: Direção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular

DNA: Ácido desoxirribonucleico

DNAses: desoxirribonucleases

EDTA: Ácido etilenodiamino tetra-acético

EIBE: *European Initiative for Biotechnology Education*

EPD: Ensino por descoberta

EPI: Ensino por investigação

EPTR: Ensino por transmissão-recepção

EMC: Ensino por mudança conceptual

EUA: Estados Unidos da América

G: Guanina

G1, 2, 3, 4: Grupos 1, 2, 3 e 4

GA₃: Ácido giberélico

GAVE: Gabinete de Avaliação Educacional

GH: Hormona humana do crescimento

GM: Geneticamente modificada

IAA: Ácido 3-indol acético

IBA: Ácido 3-indol butírico

ICSU: *International Council for Science*

JOUE: Jornal Oficial da União Europeia

Kb: Quilobase

MS: Meio de cultura de Murashige & Skoog (1962)

np: não paginado

NAA: Ácido 1-naftaleno acético

NA: *Nutrient agar*

NB: *Nutrient broth*

NCBE: *National Centre for Biotechnology Education*

NRC: *National Research Council*

OCDE: Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico

OCT/MCT: Observatório das Ciências e das Tecnologias/Ministério da Ciência e da Tecnologia

OEI: Organização de Estados Iberoamericanos para a Educação, a Ciência e a Cultura

OF: Oficina de Formação

OGMs: Organismos geneticamente modificados

PF: Professor-formando ou professores-formandos

PISA: *Programme for International Student Assessment*

POER: Prevê-observa-explica-reflecte

PQND: Professor do Quadro de Nomeação Definitiva

PQZP: Professor do Quadro de Zona Pedagógica

pb: Par de bases

m/v: massa/volume

rDNA: DNA recombinante

RNA: Ácido ribonucleico

SBRT: Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas

T: Timina

Tampão TBE: Tampão TRIS/Borato/EDTA

Tampão TE: Tampão TRIS/EDTA

TC: Trabalho de campo

T-DNA: DNA transferido

TE: Trabalho experimental

TL: Trabalho laboratorial

TP: Trabalho prático

TSA: *Tryptic soy agar*

TSB: *Tryptic soy broth*

UV: Ultravioleta

UNESCO: Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura

v/v: volume/volume

VHB: Vírus da hepatite B

CAPÍTULO 1

CONTEXTUALIZAÇÃO E APRESENTAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

1.1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo contextualiza-se o trabalho desenvolvido no âmbito do projecto de doutoramento apresentado nesta dissertação. Além desta nota introdutória (1.1), o capítulo inclui três sub-capítulos, em que se abordam a contextualização da investigação (1.2), a sua apresentação (1.3) e o plano geral da dissertação (1.4).

Na contextualização da investigação (1.2) descrevem-se sumariamente as temáticas que enquadram os trabalhos desenvolvidos, designadamente: biologia/biotecnologia no contexto das finalidades de educação em ciências; actividades laboratoriais em educação científica formal e o seu enquadramento em documentos curriculares nacionais aprovados e publicados pelo Ministério da Educação, em particular, orientações curriculares e programas disciplinares. Em 1.3, além de se apresentar o plano global da investigação, definem-se o problema e os objectivos. Finalmente, em 1.4, descrevem-se, de forma sumária, os conteúdos dos capítulos que integram a dissertação.

1.2. CONTEXTUALIZAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

1.2.1. BIOLOGIA/BIOTECNOLOGIA NO CONTEXTO DAS FINALIDADES DE EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS

No mundo em geral e, particularmente no ocidente, a educação passa por uma época de reflexão (Martins *et al.*, 2000). A partir de meados do século XX, o crescente desenvolvimento científico e tecnológico conduziu a significativas modificações socioculturais, políticas e económicas, pelo que houve necessidade de reflectir sobre algumas questões: “porquê ensinar/aprender ciência; que ciência deve ser ensinada/aprendida; como é que a ciência deve ser ensinada/aprendida” (Martins *et al.*, 2000, p.169); “*para quê* educação em ciências nos diferentes níveis de escolaridade” (Pedrosa, 2001a, p.19).

No passado, assumia-se que a principal finalidade da educação em ciências nos ensinamentos básico e secundário era exclusivamente propedêutica, isto é, apenas direccionada para o prosseguimento de estudos a nível superior (Acevedo-Díaz, 2004). Esta ideia, claramente elitista, ainda hoje presente em alguns sistemas educativos, não corresponde às actuais necessidades pessoais e sociais dos alunos. Actualmente

verifica-se a diminuição de taxas de frequência no ensino secundário e, por outro lado, a maioria não prossegue estudos a nível superior em áreas ligadas às ciências, pelo que, para combater esta tendência parece pouco apropriado fundamentar um currículo de ciências vocacionado para uma minoria de alunos (Acevedo-Díaz, 2004), apesar da situação ser mais preocupante nas disciplinas de Física e Química (Martins, 2002; Martins *et al.*, 2000). No caso de Biologia, não tem havido diminuição na procura, sendo uma área de aceitação pública, uma vez que muitos dos temas polémicos e controversos da actualidade estão ligados a esta área das ciências (Martins, 2002; Martins *et al.*, 2000).

Estudos demonstraram que a curiosidade dos alunos pelas ciências diminui à medida que a escolaridade avança (Marques, 2005; Praia, 1999; Sagan, 1998), o que, sendo preocupante, constitui uma boa justificação para que se identifiquem razões que possam ajudar a esclarecer e explicar esta progressiva desmotivação (Praia, 1999). A este desinteresse dos alunos não serão alheias formas desajustadas de ensinar ciências, principalmente aquelas que, sobrevalorizando a memorização, parecem esquecer que é necessário, sobretudo, ganhar e desenvolver o gosto por aprender (*Ibid.*).

Acevedo-Díaz (2004) refere que a finalidade propedêutica da educação em ciências tem contribuído para a perda de interesse de muitos alunos pelas ciências, causando uma crise, sobretudo em países industrializados. O estudo realizado por Marques (2005) sobre atitudes de alunos do 10º ano face ao trabalho laboratorial (TL) na aprendizagem de ciências, mostra que as aulas de ciências são orientadas, principalmente, para a exposição teórica de conceitos e princípios científicos, o que terá levado mais de metade dos alunos inquiridos a considerá-las aborrecidas e a atribuir-lhes pouca aplicação na vida quotidiana. Valadares (2006) refere que o desequilíbrio, designadamente na relação entre teoria e prática, constitui uma das possíveis razões para a actual rejeição, por muitos alunos, do conhecimento científico, tal como é ensinado em contextos escolares. Verifica-se que, nem sempre, o ensino nestes contextos tem permitido aos alunos a apropriação de conhecimentos científicos que visem a sua compreensão e utilização como formas de pensamento exteriores a situações de ensino formal (Pedrancini *et al.*, 2007). Por outro lado, grande parte dos conhecimentos científicos aprendidos na escola acabam por ser rapidamente esquecidos, prevalecendo ideias de senso comum, por vezes, estáveis e resistentes, inclusivamente entre alunos universitários (*Ibid.*). Além disso, alunos e professores consideram que conceitos e princípios abordados em ensino das ciências se apresentam pouco relacionados entre si e, na prática, pouco úteis (Farinheira *et al.*, 2005). Estes aspectos contribuem para tornar

aborrecidas as disciplinas de ciências, constituindo argumentos que ajudam a explicar atitudes negativas que se geram nos alunos durante a escolaridade, com consequências ao nível da rejeição pelas ciências escolares e do desinteresse pelo prosseguimento de estudos em áreas de ciências, além do abandono dos estudos já iniciados (Banet, 2007).

Importa inverter esta situação, sendo indispensável repensar a educação nas diversas áreas disciplinares, incluindo as de ciências, relativamente ao papel que podem, e devem, desempenhar na formação dos alunos, enquanto cidadãos numa escola que se pretende inclusiva (Gabriel *et al.*, 2006). Nesta perspectiva, urge encontrar novos caminhos que conduzam a um ensino de ciências mais aliciante, motivador e consentâneo com o mundo da informação, do conhecimento e da mudança (Valadares, 2001; 2006). Só assim, será possível desenvolver o espírito científico imprescindível à valorização e compreensão da importância das ciências, através da promoção de ciências escolares úteis e válidas na formação de cidadãos informados, capazes de tomar decisões de forma fundamentada, relativamente a questões da vida real, relacionadas com ciências e tecnologias (Acevedo-Díaz, 2004).

Os desafios educativos que o futuro coloca, e a necessidade de estender a educação científica a todos, impõem considerar novas finalidades educativas para o ensino de ciências. Acevedo-Díaz (2004) sugere, além de finalidades propedêuticas, que o ensino das ciências valorize: a) o carácter útil e prático (conhecimentos de ciências com utilidade para a vida quotidiana); b) a participação democrática (conhecimentos e competências fundamentais, para que os cidadãos de forma responsável, possam participar na tomada de decisões sobre temas públicos e controversos de interesse social, relacionados com ciências e tecnologias); c) o desenvolvimento de competências gerais muito valorizadas no mundo do trabalho (trabalho em equipa, iniciativa, criatividade e competências de comunicação).

Biologia, apesar de ser considerada uma ciência secular, está em evolução vertiginosa, sendo, eventualmente, uma das ciências que mais evoluiu no século XX e das que mais influenciará o pensamento científico das futuras gerações (Veríssimo & Ribeiro, 2001). Deste modo, biologia tem vindo a ocupar uma posição de destaque, sem precedentes, na história das ciências (Pedrancini *et al.*, 2007). Biologia ocupa-se do estudo da vida, ou, talvez melhor, do estudo dos sistemas vivos, o qual, por força da sua complexidade, requer múltiplas abordagens e contributos de diversas disciplinas frequentemente designadas Ciências da Vida, uma nomenclatura útil, que permite distinguir biologia de ciências cujos objectos de estudo pertencem ao mundo inanimado (Veríssimo & Ribeiro, 2001).

Biodiversidade, genoma humano, clonagem, desenvolvimento sustentável, engenharia genética, entre outros, surgem em meios de comunicação social, quando novas descobertas são apresentadas por comunidades científicas, ou novos produtos são disponibilizados, ou ainda, quando originam situações problemáticas controversas que requerem forte envolvimento e participação de todos. Biologia apresenta-se, assim, como multidisciplinar e de acentuado impacto na sociedade (Chagas & Oliveira, 2005). As sociedades são cada vez mais confrontadas com questões de natureza científica e tecnológica com implicações imediatas na integridade física, ética, moral e económica dos cidadãos (Farinheira *et al.*, 2005; Mendes *et al.*, 2004), que exigem, além da intervenção de decisores políticos e especialistas nos temas em discussão, o debate pelos cidadãos (Cabo-Hernández *et al.*, 2006; Chagas & Oliveira, 2005) como membros de uma sociedade democrática. Constituem exemplos, a “utilização de células estaminais em investigação e tratamentos médicos, (...) de hormonas e antibióticos na produção animal” (Reis & Galvão, 2008, p.748) e “as polémicas que rodeiam a manipulação de gâmetas e embriões humanos, a clonagem, a utilização da informação genética dos indivíduos por entidades empregadoras e seguradoras, o consumo de alimentos transgénicos, a utilização de medicamentos experimentais ou a selecção dos processos de tratamentos de resíduos” (Mendes *et al.*, 2004, p.2), como a co-incineração.

Porém, a riqueza do debate depende do nível de conhecimentos de todos os envolvidos relativamente aos temas em discussão e da sua capacidade de reflexão (Chagas & Oliveira, 2005; Farinheira *et al.*, 2005). Assim, no domínio científico-tecnológico, os conhecimentos de cada cidadão devem permitir-lhe envolver-se em questões relacionadas com esses temas, visando a tomada de decisões de forma informada e fundamentada (Veiga, 2000). Um estudo realizado por Cabo-Hernández *et al.* (2006) com a finalidade de conhecer as opiniões e intenções de professores sobre a tomada de decisões e a participação social em quatro casos de aplicações biotecnológicas controversas (clonagem humana com fins reprodutivos, clonagem terapêutica, utilização de bactérias geneticamente modificadas para combater a contaminação por hidrocarbonetos e alimentos transgénicos), mostra que os inquiridos foram maioritariamente favoráveis à utilização pessoal da clonagem terapêutica e de bactérias geneticamente modificadas, e contra as restantes. No entanto, quando questionados sobre as mesmas aplicações biotecnológicas em outras pessoas, continuaram a manifestar-se contra a clonagem humana com fins reprodutivos, sendo maioritariamente favoráveis ao consumo de alimentos transgénicos. Estes resultados revelam diferentes níveis de preocupação consoante os centros de atenção, destacando-

se evidências de maiores preocupações sobre potenciais impactos quando a atenção se centra no indivíduo, comparativamente com a sociedade em geral.

Em regimes democráticos, pretende-se que os cidadãos valorizem as ciências e os seus contributos para a sociedade (não se pretende cidadãos complacentes, muito menos indiferentes ou desconfiados) e que disponham de conhecimentos científicos relevantes, pois só assim serão capazes de optar “de forma fundamentada, bem como tomar uma posição crítica relativamente a assuntos e argumentos que envolvem o conhecimento científico” (Martins *et al.*, 2000, p.169). Dito de outra forma, defende-se actualmente que o ensino de ciências deve promover, fundamentalmente, a formação de indivíduos cientificamente literatos (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006; Martins *et al.*, 2000).

Do ponto de vista educativo, biologia deve integrar a formação geral de todos, pois a capacidade “de formular opções (éticas, sócio-económicas e políticas) depende do grau de literacia, também biológica, do cidadão”, as quais são particularmente determinantes do futuro da Terra (Veríssimo & Ribeiro, 2001, p.134). Assim, “importa que os jovens fiquem preparados para enfrentar com confiança as questões científico-tecnológicas que a sociedade lhes coloca, que sejam capazes de ponderar criticamente os argumentos em jogo, de modo a formularem juízos responsáveis e, assim, participarem nos processos de tomada de decisão” (Mendes *et al.*, 2004, p.2). As sociedades ocidentais contemporâneas são fortemente apoiadas pelo desenvolvimento científico e tecnológico, pelo que a convivência com conceitos e formas científicas de pensar capacita os cidadãos para, melhor e mais activamente, participarem em processos de desenvolvimento social do qual são parte integrante (Farinheira *et al.*, 2005). É, pois, clara, a necessidade de se progredir no sentido de sociedades cientificamente literatas para exercícios plenos de cidadania (*Ibid.*).

Utilizam-se várias designações para literacia científica, como “compreensão pública das ciências”, “ciências para a cidadania” (Figueiroa, 2007, p.2) e alfabetização científica e tecnológica (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003; Acevedo-Díaz, 2004), cujo significado “consustancia uma dimensão cultural contemporânea” (Pedrosa & Mateus, 2001, p.145). Miller (1994) associa literacia científica a níveis de conhecimento científico e tecnológico que os cidadãos, também como consumidores, necessitam para conscientemente actuarem na sociedade: “scientific literacy should be viewed as the level of understanding of science and technology needed to function minimally as citizens and consumers in our society” (p.41). Esta definição, segundo o autor, implica: a) conhecimento de vocabulário científico e técnico básico; b) compreensão dos processos e métodos das ciências para

estudar a realidade; c) compreensão do impacto das ciências e tecnologias na sociedade. Segundo a OCDE (2006a), em termos individuais, literacia científica corresponde (Gave, 2007, p.6):

- “Ao conhecimento científico, e à utilização desse conhecimento para identificar questões, adquirir novos conhecimentos, explicar fenómenos científicos e elaborar conclusões fundamentadas sobre questões relacionadas com ciência;
- À compreensão das características próprias da ciência enquanto forma de conhecimento e de investigação;
- À consciência do modo como ciência e tecnologia influenciam os ambientes material, intelectual e cultural das sociedades;
- À vontade de envolvimento em questões relacionadas com ciência e com o conhecimento científico, enquanto cidadão consciente”.

Em áreas de biologia, e afins, é indispensável a integração de temas de biotecnologia e de engenharia genética no ensino formal, designadamente porque os “alunos aproveitam melhor a informação transmitida pelos meios de comunicação se dispuserem de uma base sólida de conhecimentos científicos adquiridos na escola” (Martins *et al.*, 2000, p.170). Assim, torna-se necessário que o que se ensina na escola tenha maior proximidade ao dia-a-dia dos alunos (Santos & Martins, 2009). No entanto, apesar do empenho, a nível mundial, na melhoria dos níveis de literacia científica, estes encontram-se abaixo dos níveis desejáveis (Martins *et al.*, 2000).

Em 1996/1997, o Observatório das Ciências e das Tecnologias/Ministério da Ciência e da Tecnologia (OCT/MCT, 1999) realizou um inquérito (por questionário) destinado à avaliação da cultura científica da população portuguesa entre os 15 e os 65 anos, no qual se solicitou aos inquiridos a classificação, como verdadeiras ou falsas, de afirmações apresentadas. Os resultados mostram um défice na cultura científica da população portuguesa. Por exemplo, somente 14% dos inquiridos consideraram falso que “os antibióticos destroem os vírus assim como as bactérias” e apenas 42% consideraram verdadeiro que “são os genes do pai que determinam o sexo do bebé”. Noutro inquérito realizado em 2000, utilizando outros indicadores e o questionário modificado, designadamente com a introdução de temas, como alimentos transgénicos, clonagem e resíduos tóxicos, verificou-se uma ligeira melhoria do nível médio de conhecimentos científicos dos portugueses, comparativamente com os do inquérito realizado em 1996/1997 (OCT/MCT, 2000). Esta melhoria é perceptível em diversos aspectos, como hábitos de leitura, visitas a instituições científicas e culturais, além de declarações de interesse por ciências e tecnologias. Porém, no domínio da auto-avaliação de

conhecimentos, os alimentos transgênicos corresponderam ao tema menos conhecido, uma vez que mais de metade dos inquiridos (56%) nunca terá ouvido falar do assunto. Neste estudo verificou-se, como referido por Miller (1994), que os níveis de literacia científica aumentam com a escolarização das populações, pelo que quanto maiores forem as qualificações, maior o nível de conhecimentos científicos.

Apesar dos resultados do OCT/MCT (2000) não se deverem exclusivamente à escola, esta terá a sua quota-parte de responsabilidade (Martins *et al.*, 2000), uma vez que o desenvolvimento de atitudes para com as ciências começa desde os primeiros anos de escolaridade, configurando, em grande parte, o futuro da alfabetização científica e tecnológica dos adultos (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003). Mais recentemente, o relatório do Eurobarómetro da Comissão Europeia sobre biotecnologia mostra que Portugal se inclui entre os países em que a maioria dos cidadãos nunca ouviu, leu ou conversou acerca de temas relacionados com biotecnologia, nem procurou informação disponível em diversas fontes de informação (Gaskell *et al.*, 2006).

O programa internacional PISA (*Programme for International Student Assessment*) pretende avaliar os níveis de literacia de alunos de 15 anos, desde o 7º ao 11º ano de escolaridade, nas áreas de leitura (central no estudo PISA 2000 e 2009), matemática (central no estudo PISA 2003) e ciências (central no estudo PISA 2006). Os resultados do relatório do estudo PISA 2006 mostram que “os alunos portugueses obtêm resultados de desempenho inferiores à média da OCDE” (Gave, 2007, p.12). O desempenho dos alunos em literacia científica atingiu 474 pontos no ciclo de 2006, inferior à média da OCDE (de 500 pontos), embora os resultados revelem melhorias comparativamente com os ciclos PISA de 2000 e 2003, com 459 e 468 pontos, respectivamente. Salienta-se que os resultados de 2006 se devem, sobretudo, ao fraco desempenho dos alunos dos 7º, 8º e 9º anos, uma vez que os do 10º ano revelaram desempenhos muito acima da média da OCDE. Particularmente, os alunos dos 7º e 8º anos “não possuem os conhecimentos e as competências mínimas exigidas para poderem realizar, com sucesso, o teste de ciências do programa PISA” (Gave, 2007, p.13).

Nos resultados de 2009, Portugal registou melhorias consideráveis, sendo o segundo país da OCDE que mais progrediu em ciências, passando de 474 para 493 pontos, e o quarto que mais progrediu em leitura e matemática (Gave, 2010), registando um aumento de cerca de 20 pontos em cada uma das três áreas avaliadas comparativamente com os resultados de 2006¹. Assim, pela primeira vez, desde que Portugal participa no programa PISA, os alunos atingem pontuações que se incluem na

¹ http://www.min-edu.pt/data/docs_destaquas/Apres_Gulb_Final.pdf [Acedido: 20/12/2010]

média da OCDE, situando-se em 21º lugar, no conjunto de 33 países da OCDE que participaram no estudo em 2009, enquanto no de 2000 ocupava o 25º lugar no conjunto de 27 países membros desta organização (Gave, 2010). Salieta-se ainda que, entre 2000 e 2009, verificou-se uma redução da percentagem de alunos de 15 anos a frequentar os 7º, 8 e 9º anos de escolaridade e um aumento dos que com a mesma idade frequentavam o 10º ano (*Ibid.*).

O desenvolvimento científico e tecnológico das últimas décadas conduziu a mudanças no modo de vida das sociedades e a novas formas de pensar sobre a educação formal em ciências no ensino básico (Galvão *et al.*, 2001; Galvão & Freire, 2004; Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006) e secundário (Mendes *et al.*, 2004; Mendes & Rebelo, 2004). A exigência social de cidadãos cientificamente literatos implica repensar e implementar metodologias de ensino e de aprendizagem, de modo que, contrariamente a metodologias tradicionais, se centrem mais nos alunos (Figueiroa, 2007) e sejam consentâneas com a promoção de literacia científica, enquanto finalidade essencial de educação em ciências. Para se conseguir uma alfabetização científica e tecnológica, de acordo com as finalidades educativas consentâneas com as necessidades pessoais e sociais dos alunos, Acevedo-Díaz (2004) propõe um ensino de ciências orientado segundo ideias de educação Ciência-Tecnologia-Sociedade (CTS) – referenciadas na literatura com diferentes terminologias, destacando-se perspectivas, enfoques, inter-relações, contextos, temas, orientações e movimento educativo (Martins, 2002). Cada vez mais, se avalia a qualidade da inovação em educação em ciências com base em inter-relações CTS, com propósitos de alfabetização científica e tecnológica de todas as pessoas (Acevedo-Díaz *et al.*, 2002). Por outro lado, ao nível da investigação em didáctica das ciências, estudos realizados por Chagas & Oliveira (2005) apontam como linhas de orientação prioritárias a desenvolver nos actuais currículos, além de inter-relações CTS, a resolução de problemas e o trabalho prático numa perspectiva investigativa.

1.2.2. ACTIVIDADES LABORATORIAIS EM EDUCAÇÃO CIENTÍFICA FORMAL

Trabalho laboratorial e trabalho experimental (TE) fazem parte de terminologia amplamente utilizada em contextos escolares, integram-se em trabalho prático (TP) (Leite, 2000; 2001; Leite & Figueiroa, 2004) e designam-se também por actividades laboratoriais e experimentais, respectivamente. Desde a introdução do estudo das

ciências nas escolas, no início de século dezanove, que a relevância de trabalho laboratorial é amplamente reconhecida, não apenas por professores e investigadores (Almeida, 2001), mas também por decisores de políticas educativas e de currículos, encontrando-se no centro de muitos debates em educação em ciências (Oliveira, 1999). Trabalho laboratorial constitui um recurso didáctico próprio do ensino das ciências (Barberá & Valdés, 1996).

Perales (1994) resume a importância de trabalho prático na seguinte afirmação: "la ciencia es una actividad eminentemente experimental, por lo que no cabe enseñarla de un modo exclusivamente teórico ya que esto supondría hurtar al alumno la verdadera naturaleza del conocimiento científico" (p.123). Sendo biologia uma ciência experimental, só pode ser "compreendida no quadro das interações permanentemente estabelecidas entre a teoria e a prática, entre as hipóteses e as experiências, entre as previsões e as observações, no contexto de um quadro teórico de referência" (Nobre, 1998, p.7). Deste modo, o seu ensino deverá integrar componentes teóricas e práticas, cuja interligação deve reflectir a dinâmica associada a uma visão moderna de biologia (*Ibid.*).

Praia (1999) defende que o trabalho laboratorial, ao proporcionar atitudes mais motivadoras para aprender, ajuda a melhorar ambientes de aprendizagem pobres e que pouco contribuem para veicular imagens adequadas das ciências, dos seus problemas, preocupações e contributos para a compreensão do mundo que nos rodeia. Além disso, os professores consideram importante a realização de trabalho laboratorial (Perales, 1994) e reconhecem que as aulas de ciências devem integrá-lo. Valorizam o "aprender fazendo", por partirem do pressuposto de que "quando se faz não se esquece" (Miguéns, 1999, p.78), chegando mesmo a culpabilizar-se quando não o realizam com a frequência desejada (Miguéns & Serra, 2000). Contudo, não é a quantidade de trabalhos laboratoriais propostos aos alunos que importa salientar, mas sim questões de contexto, objectivos e qualidade ou tipo de trabalho laboratorial a que o professor recorre nas suas práticas lectivas (Matos & Morais, 2004; Miguéns & Serra, 2000; Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006).

Os motivos para proporcionar aos alunos a realização de trabalhos laboratoriais relacionam-se com as potencialidades que se lhes reconhece para a consecução de objectivos relacionados com aprendizagens de conhecimentos conceptuais e procedimentais e de metodologias científicas, sobretudo no que respeita ao desenvolvimento de atitudes científicas e de competências em processos de resolução de problemas (Hodson, 2000; Wellington, 2000), e de pensamento crítico e criativo (Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006). Com base em investigações realizadas sobre trabalho

laboratorial, a adequação destes objectivos tem sido questionada (Barberá & Valdés, 1996; Hodson, 1990; 1993; 1994; 2000; Wellington, 1998; 2000), mostrando que os alunos beneficiam pouco com o tipo de actividades laboratoriais realizadas nas aulas (e.g. Barberá & Valdés, 1996).

Em geral, os professores consideram que as actividades laboratoriais são difíceis de preparar e avaliar, pelo que, normalmente, utilizam as sugestões apresentadas nos manuais escolares ou privilegiam aulas expositivas em substituição de aulas laboratoriais, de forma a evitarem “a realização de experiências que podem *dar mal*” (Veiga, 2000, p.553). Neste quadro, as actividades laboratoriais tradicionalmente realizadas nas disciplinas de ciências, pressupõem objectivos e etapas fornecidas pelo professor ou apresentadas em protocolos dos manuais escolares, remetendo os alunos ao papel de executantes de planos prescritos (Pedrosa, 2001a), além da observação, registo de resultados e/ou resolução de questões relacionadas com as observações efectuadas. Estas actividades traduzem-se, sobretudo, na realização de demonstrações e/ou verificações (Almeida, 1998; 2001), através da aprendizagem de factos particulares das ciências pela observação (Dourado, 2001b), com o principal objectivo de apoiar e comprovar teorias (García-Barros, 2000).

As demonstrações e/ou verificações que visam demonstrar, ilustrar ou verificar conceitos e teorias previamente ensinadas, correspondem a actividades complementares da transmissão de conteúdos (Almeida, 2001) e o seu valor é reconhecido sobretudo “por aqueles que defendem que é possível compreender melhor quando a prática permite observar aquilo que a teoria enuncia” (Veiga, 2000, p.547). Trata-se de actividades que podemos classificar como *aprender ciências*, de acordo com vários autores (e.g. Grau, 1994; Hodson, 1993; 1994; 2000), ou seja, cuja finalidade se restringe à compreensão e aprendizagem de conhecimento conceptual. Neste tipo de práticas critica-se o facto de indiciarem imagens simplistas das ciências (Pedrosa, 2001a), veiculando diversos mitos sobre as ciências e os seus processos de produção (Almeida, 2001; Hodson, 1993; Pedrosa, 2001a).

Salienta-se que os significados atribuídos a trabalho prático, trabalho laboratorial, trabalho de campo (TC) e trabalho experimental não são consensuais entre investigadores e professores de ciências, verificando-se ambiguidades na sua utilização (Dourado, 2001a; 2001b). Apesar de trabalho laboratorial e trabalho experimental terem significados diferentes, são utilizados indistintamente por professores de ciências, como se fossem sinónimos (Pedrosa, 2001a; Pedrosa & Dourado, 2000), com consequências diversas, por exemplo, ao nível da planificação de actividades experimentais. Em geral,

pressupõe-se que trabalho prático equivale necessariamente a trabalho laboratorial e que inclui sempre experimentação (Hodson, 1993; 1994). É, pois, indispensável clarificar estes termos e as relações entre eles.

Em contextos tradicionais, a utilização de actividades laboratoriais e experimentais considera-se pouco produtiva ou até contraproducente (Almeida, 1998; Hodson, 1994). Salienta-se, por isso, a necessidade de reorientar o trabalho prático como actividade investigativa, envolvendo identificação de problemas e sua resolução (Pedrosa, 2001a), através da criação de ambientes de aprendizagem favoráveis ao envolvimento efectivo dos alunos (Almeida, 1998). Propõe-se a reorientação de trabalho prático de acordo com um quadro conceptual sustentado por princípios epistemológicos contemporâneos, concordantes com teorias construtivistas da aprendizagem (Almeida, 1998; 2001; Cachapuz *et al.*, 2000; Gil-Pérez, 1993; Hodson, 1994; Leite, 2001; Mintzes *et al.*, 2000; Pedrosa, 2001a; Valadares, 2001; 2006) e que integrem resultados da investigação educacional (Miguéns & Serra, 2000). A reorientação de actividades laboratoriais e experimentais numa perspectiva investigativa e de resolução de problemas, além de recomendada por investigadores em educação em ciências, também se enquadra em propósitos actuais de política educativa, concretizados em documentos curriculares, que preconizam o desenvolvimento de práticas educativas coerentes com a natureza das ciências e centradas nos alunos.

1.2.3. FINALIDADES DE TRABALHO PRÁTICO EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS NOS CURRÍCULOS DE CIÊNCIAS NATURAIS E DE BIOLOGIA E/OU GEOLOGIA

Em Portugal, como noutros países do mundo, vivem-se reformas curriculares nos ensinos básico (Galvão & Freire, 2004) e secundário (Mendes & Rebelo, 2004; Mestre *et al.*, 2004), que incluem propostas inovadoras para a educação em ciências. Em termos gerais, perspectivas CTS para desenvolver literacia científica, educação para a cidadania, actividades práticas (nomeadamente laboratoriais, experimentais e de campo) numa perspectiva investigativa e de resolução de problemas, salientam-se como palavras-chave, centrais nos documentos curriculares oficiais resultantes das últimas revisões curriculares dos ensinos básico e secundário. Neste âmbito, destacam-se: a) a Lei de Bases do Sistema Educativo (Lei n.º 49/2005 de 30 de Agosto); b) o Currículo Nacional do Ensino Básico (DEB, 2001) e as Orientações Curriculares para o 3º Ciclo do Ensino Básico em Ciências Físicas e Naturais (Galvão *et al.*, 2001); c) o Documento Orientador

da Revisão Curricular do Ensino Secundário (DGIDC, 2003); d) os Programas de Biologia e Geologia do Ensino Secundário (Amador *et al.*, 2001; Amador & Silva, 2004; Mendes *et al.*, 2004); e) a Área de Projecto dos Cursos Científico-Humanísticos e Projecto Tecnológico dos Cursos Tecnológicos do 12º ano (DGIDC, 2006).

A Lei de Bases do Sistema Educativo estabelece que, ao nível dos objectivos do ensino básico, “sejam equilibradamente inter-relacionados o saber e o saber fazer, a teoria e a prática, a cultura escolar e a cultura do quotidiano” (artigo 7.º, alínea b). Para o ensino secundário referem-se como objectivos o “desenvolvimento do raciocínio, da reflexão e da curiosidade científica (...) para o eventual prosseguimento de estudos e para a inserção na vida activa” (artigo 9.º, alínea a) e “fomentar a aquisição e aplicação de um saber cada vez mais aprofundado assente no estudo, na reflexão crítica, na observação e na experimentação” (artigo 9.º, alínea c).

No 3º ciclo do ensino básico, as orientações curriculares reúnem-se num documento único para as Ciências Físicas e Naturais, que incluem as disciplinas de Ciências Naturais e Ciências Físico-Químicas (Galvão *et al.*, 2001). Para este ciclo de ensino preconiza-se o desenvolvimento de competências específicas, consideradas essenciais para a promoção de literacia científica nos domínios do conhecimento, raciocínio, comunicação e atitudes (DEB, 2001; Galvão *et al.*, 2001; Galvão & Freire, 2004). O desenvolvimento de competências nestes domínios requer processos educativos que permitam o envolvimento dos alunos em experiências educativas diferenciadas (DEB, 2001; Galvão *et al.*, 2001), como as que pressupõem trabalho de campo, actividades laboratoriais, debates, pesquisa e análise de informação, entre outras (Galvão & Freire, 2004; Mendes *et al.*, 2004). Estas actividades devem permitir o desenvolvimento de “atitudes inerentes ao trabalho em Ciência, como sejam a curiosidade, a perseverança e a seriedade no trabalho, respeitando e questionando os resultados obtidos, [e] a reflexão crítica sobre o trabalho efectuado” (DEB, 2001, p.133). Trabalho prático, designadamente de natureza investigativa e de resolução de problemas, é explicitamente referido em documentos oficiais para o ensino básico, destacando-se, entre outras, as seguintes recomendações:

- Em conhecimento – “(...) a actividade experimental dever ser planeada com os alunos, decorrendo de problemas que se pretende investigar e não constituem a simples aplicação de um receituário; (...) deve haver lugar a formulação de hipóteses e previsão de resultados, observação e explicação” (DEB, 2001, p.131-132);
- Em raciocínio – “sugerem-se, sempre que possível, situações de aprendizagem centradas na resolução de problemas, com interpretação de dados, formulação de

problemas e de hipóteses, planeamento de investigações, previsão e avaliação de resultados, estabelecimento de comparações, realização de inferências, generalização e dedução” (DEB, 2001, p.133; Galvão *et al.*, 2001, p.7).

Nos documentos curriculares oficiais para o ensino secundário, além da reestruturação das matrizes curriculares, com redefinição das disciplinas dos diversos cursos, destacam-se em especial as mudanças ao nível dos programas disciplinares (Mendes & Rebelo, 2004). Entre os objectivos propostos para o ensino secundário, salienta-se a melhoria da qualidade das aprendizagens, no que se refere à “aquisição de conhecimentos, o desenvolvimento das competências vocacionais, a capacidade de pensar cientificamente os problemas, a interiorização de uma cultura de participação e responsabilidade, a plena consciência das opções que potenciam a liberdade e o desenvolvimento dos alunos como indivíduos e como cidadãos” (DGIDC, 2003, p.5). A consecução destes objectivos requer uma profunda mudança nos métodos de ensino e aprendizagem (DGIDC, 2003), os quais, não se limitando à simples transmissão de conhecimentos, devem proporcionar ambientes de sala de aula “favoráveis à construção activa do saber e do saber fazer” (Amador *et al.*, 2001, p.4).

A relevância de trabalho prático é expressamente reconhecida nos princípios orientadores referidos em documentos curriculares oficiais para o ensino secundário que destacam, entre outros, “os princípios da articulação das aprendizagens teórico-práticas e da interacção da componente experimental com a componente expositiva” (DGIDC, 2003, p.15-16). Para viabilizar a realização de actividades práticas laboratoriais e experimentais, a nova organização curricular inclui uma unidade lectiva de noventa minutos acrescida de mais quarenta e cinco minutos (Portaria n.º 1322/2007, artigo 2.º) e o desdobramento das turmas em turnos (Amador *et al.*, 2001; Mendes *et al.*, 2004). Por outro lado, os alunos dos Cursos Científico-Humanísticos nas disciplinas de Biologia e Geologia são avaliados na componente prática ou experimental com um peso mínimo de 30% (Portaria n.º 1322/2007, artigo 9.º, ponto 6, alínea c).

A perspectiva investigativa de trabalho prático e de resolução de problemas é privilegiada nas sugestões metodológicas dos programas de Biologia e Geologia do ensino secundário, de que se destacam:

- “As actividades práticas, de carácter experimental, investigativo, ou de outro tipo, desempenham um papel particularmente importante na aprendizagem das ciências” (Amador *et al.*, 2001, p.7);

- “Atribui-se especial importância ao desenvolvimento de actividades que impliquem os alunos na planificação de percursos experimentais (com manipulação e controlo de variáveis)” (Mendes *et al.*, 2004, p.9);
- “Aplicar estratégias pessoais na resolução de situações problemáticas, o que inclui a formulação de hipóteses, o planeamento e a realização de actividades de natureza investigativa, a sistematização e a análise de resultados, assim como a discussão dessas estratégias e dos resultados obtidos” (Mendes *et al.*, 2004, p.5);
- “Valoriza-se que os processos de ensino e aprendizagem sejam centrados em problemáticas com significado para os alunos, ou seja, organizados numa perspectiva de resolução de problemas” (Mendes *et al.*, 2004, p.9);
- “Privilegiar actividades práticas suscitadas por situações problemáticas abertas que favoreçam a explicitação das concepções prévias dos alunos, a formulação e confrontação de hipóteses, a eventual planificação e realização de actividades experimentais e respectivo registo de dados, atribuindo uma especial ênfase à introdução de novos conceitos e à sua integração e estruturação nas representações mentais dos alunos” (Amador *et al.*, 2001, p.12).

Salienta-se, ainda, que a realização de trabalhos práticos de natureza investigativa não se limita aos programas disciplinares de Biologia e Geologia, uma vez que o 12^o ano de escolaridade dos Cursos Científico-Humanísticos inclui uma área curricular não disciplinar, “Área de Projecto”, de natureza interdisciplinar e transdisciplinar, que se caracteriza “como um espaço de confluência e integração de saberes e competências adquiridas ao longo do curso, em torno do desenvolvimento de metodologias de estudo, investigação e trabalho de grupo” (DGIDC, 2006, p.5). Os projectos a desenvolver devem, acima de tudo, basear-se em experiências que integrem “a observação sistemática, a formulação e a testagem de hipóteses, assim como a análise e a interpretação de factos e fenómenos do mundo real” (DGIDC, 2006, p.6). Neste sentido, os alunos devem “desenvolver investigações e, para tal, utilizar metodologias sistemáticas e rigorosas que os sensibilizem para as diversas formas de construção do conhecimento” (*Ibid.*). Pretende-se, pois, promover o desenvolvimento de competências científicas que compreendam a utilização de conceitos, princípios e métodos para a interpretação de fenómenos do mundo natural, através da formulação de questões e apresentação de conclusões fundamentadas para os explicar (JOUE, 2006). A integração da Área de Projecto, no último ano do ensino secundário, permite valorizar a preparação para o prosseguimento de estudos e para o mercado de trabalho (DGIDC, 2003; 2006), a

fim de que as competências desenvolvidas venham a aplicar-se no futuro em diversos contextos (JOUE, 2006).

1.3. APRESENTAÇÃO DA INVESTIGAÇÃO

1.3.1. PROBLEMA E OBJECTIVOS

Face às discrepâncias entre o preconizado para o trabalho prático em documentos curriculares oficiais das disciplinas de Ciências e as actividades propostas aos alunos, importa reconhecer as dificuldades de implementação de trabalho prático investigativo e reflectir sobre as iniciativas que podem, e devem, ser desenvolvidas para as superar (Miguéns & Serra, 2000). A implementação de novas orientações para o trabalho prático requer investimento na formação de professores, com recurso a modelos de formação que promovam o seu envolvimento em actividades coerentes com os princípios orientadores actuais para a educação em ciências (Dourado, 2001b). A metodologia de formação a implementar deve ir muito além de abordagens teóricas de estratégias educativas, sob pena destas não passarem de simples apelos, que não estimulam os professores a envolver-se em práticas inovadoras, por não as valorizarem na preparação e organização das actividades lectivas (*Ibid.*).

Trabalho prático de natureza investigativa, cujas características, finalidades e metodologias são descritas no Capítulo 2, não é fácil de implementar por professores e, por maioria de razão, por alunos. Dos professores requer uma sólida formação científica e pedagógica que lhes permita inter-relacionar adequadamente conceitos e processos científicos, de modo que, sempre que surgem dificuldades, possam interagir com os alunos com segurança e níveis de confiança necessários para assegurar a progressão dos trabalhos (Miguéns & Serra, 2000). Carências nestes requisitos constituem obstáculos à introdução de trabalho prático de natureza investigativa nas escolas, podendo resultar em frustrações, motivos de desistência ou mesmo de resistência à sua implementação por professores e alunos (*Ibid.*).

O desenvolvimento de actividades práticas de natureza investigativa é difícil, pela carência, ou mesmo ausência, de vivências dos professores em processos de investigação, mormente de projectos aplicáveis nas práticas lectivas (Pedrosa, 2001a). A frequente falta de formação inicial e contínua dos professores de ciências, relativamente ao desenvolvimento de competências indispensáveis à implementação desta nova

perspectiva de trabalho prático, constitui um obstáculo à concretização de inovações educativas preconizadas para a educação em ciências (Gabriel *et al.*, 2006).

Por outro lado, em face dos progressos em biologia, e áreas afins, e dos seus impactos sociais, o ensino de biologia deve, de algum modo, abordá-los, por exemplo através de temáticas de biotecnologia. Além de componentes científicas inovadoras, os desenvolvimentos nesta área têm diversas implicações, designadamente éticas, políticas, económicas e sociais (Gabriel *et al.*, 2006).

Deste modo, relevando temáticas de biotecnologia e considerando o desenvolvimento de trabalho prático numa perspectiva investigativa, em formação contínua de professores de Biologia e/ou Geologia, a principal finalidade da investigação emergiu do seguinte **problema**:

Partindo de temáticas em biotecnologia, como estimular o desenvolvimento de trabalho prático numa perspectiva investigativa por professores de Biologia e/ou Geologia?

A partir deste problema definiram-se dois objectivos gerais:

Objectivo 1: Testar, conceber e otimizar actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia, transponíveis para contextos educativos dos ensinos básico e secundário.

Para a consecução deste objectivo definiram-se os seguintes objectivos específicos:

- Analisar trabalhos práticos (laboratoriais e experimentais) em biotecnologia que possam realizar-se nas escolas e verificar o seu grau de exequibilidade;
- Seleccionar os procedimentos a realizar e os materiais e equipamentos a utilizar;
- Testar e otimizar procedimentos em função dos resultados pretendidos.

Objectivo 2: Conceber, implementar e avaliar uma acção de formação para professores de Biologia e/ou Geologia, na modalidade de Oficina de Formação (OF), visando, em contextos escolares e em temáticas de biotecnologia, desenvolver percursos investigativos.

Para a consecução deste objectivo definiram-se os seguintes objectivos específicos:

- Conhecer as concepções e práticas dos professores-formandos (PF) no que se refere à implementação de trabalho prático (laboratorial e experimental) nas suas práticas docentes;
- Conceber actividades para a transposição dos trabalhos laboratoriais e experimentais realizados em biotecnologia para contextos escolares numa perspectiva investigativa e de resolução de problemas;
- Conhecer os percursos investigativos planificados, implementados e avaliados pelos professores-formandos no decorrer da acção de formação;
- Avaliar a OF.

1.3.2. PLANO GLOBAL

Os objectivos gerais apresentados orientaram a investigação descrita na presente dissertação. No âmbito do primeiro objectivo, recorrendo a materiais e equipamentos simples e aplicáveis em contextos escolares, ensaiaram-se e optimizaram-se procedimentos em:

- Biotecnologia vegetal – micropropagação de plantas;
- Engenharia genética – manipulação de DNA e transformação genética;
- Microbiologia – microbiologia do solo, aplicação de enzimas microbianas na indústria alimentar, estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase e leveduras em processos de fermentação alcoólica.

Em relação ao segundo objectivo, concebeu-se, implementou-se e avaliou-se uma OF intitulada “*Desenvolvimento de actividades práticas em biotecnologia numa perspectiva investigativa: um contributo na (re)orientação de ensino e aprendizagem de ciências*”, destinada a professores de Biologia e/ou Geologia e que incluiu a transposição dos trabalhos práticos realizados, como investigações, para contextos dos ensinos básico e secundário.

A Figura 1.1 representa, esquematicamente, o plano global da investigação realizada.

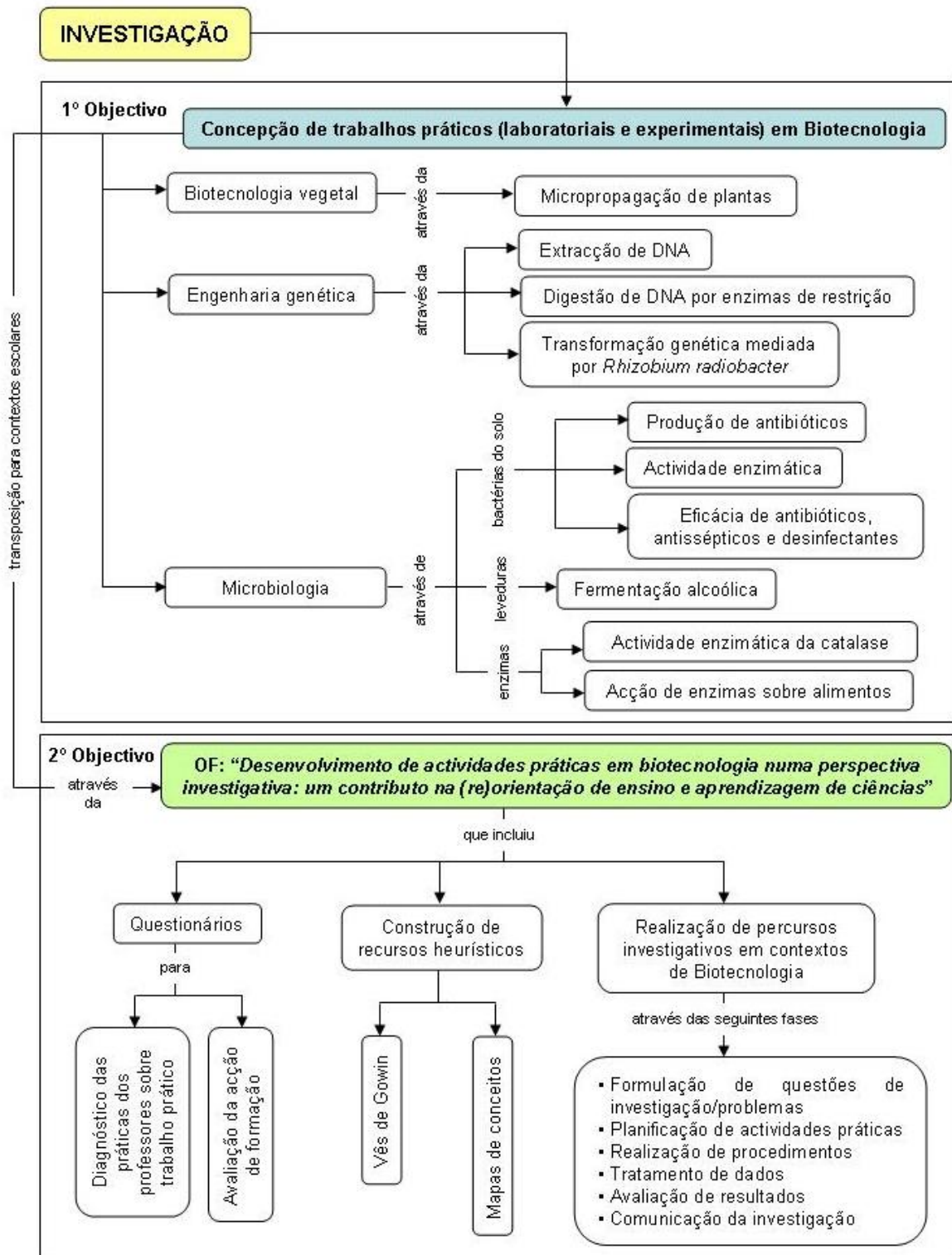


Figura 1.1 – Plano global da investigação.

1.4. PLANO GERAL DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação está organizada em cinco capítulos.

No **capítulo um** contextualiza-se a investigação, define-se o problema central, os objectivos e o plano global da investigação.

No **capítulo dois** apresenta-se uma revisão de literatura em biotecnologia e em educação em ciências. Assim, revêem-se temáticas necessárias para fundamentar e desenvolver trabalho prático investigativo, designadamente em biotecnologia vegetal, engenharia genética e microbiologia. Caracteriza-se trabalho prático, particularmente laboratorial e experimental, numa perspectiva investigativa e de integração de inter-relações CTS em educação científica formal. Revê-se literatura pertinente no âmbito da formação de professores.

No **capítulo três** apresentam-se e justificam-se as metodologias adoptadas no desenvolvimento da investigação. Descrevem-se os procedimentos e apresentam-se os materiais e equipamentos utilizados nas actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia, os pressupostos da OF, os instrumentos utilizados na recolha de dados e as actividades propostas nas sessões de formação.

No **capítulo quatro** apresentam-se, analisam-se e discutem-se os resultados das actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia. Descrevem-se os resultados das actividades realizadas pelos professores-formandos na OF, apresentam-se, analisam-se e discutem-se as respostas aos questionários utilizados (de diagnóstico e de avaliação), bem como ao relatório elaborado no final da OF.

No **capítulo cinco** apresentam-se as conclusões, limitações e implicações educacionais da investigação. Formulam-se propostas para futuras investigações.

Por último, apresenta-se uma listagem de referências bibliográficas, legislação e sítios da internet consultados, e anexos.

CAPÍTULO 2

REVISÃO DE LITERATURA

2.1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo apresenta-se a revisão de literatura efectuada para realizar a investigação que integra esta dissertação. A organização geral deste capítulo e, particularmente, dos sub-capítulos apresentados foi condicionada pelas áreas integradas na investigação – biologia/biotecnologia e educação em ciências.

A esta introdução (2.1) seguem-se os fundamentos de biotecnologia (2.2), onde se aborda a evolução do conceito de biotecnologia (2.2.1), apresentam-se processos e técnicas que envolvem a biotecnologia vegetal para a micropropagação de plantas (2.2.2), referem-se algumas técnicas e aplicações da engenharia genética (2.2.3) e exploram-se aplicações da microbiologia em diversos sectores da indústria (2.2.4).

Em 2.3, aborda-se trabalho prático em educação em ciências e formação de professores, desenvolvendo: clarificação de termos relacionados com trabalho prático (2.3.1), caracterização de tipos de actividades laboratoriais (2.3.2) e descrição de níveis de abertura de actividades laboratoriais (2.3.3). Referem-se os objectivos de trabalho laboratorial (2.3.4), abordam-se orientações tradicionais de trabalho laboratorial (2.3.5) e o papel de trabalho prático em diferentes perspectivas de ensino de ciências (2.3.6). Destaca-se a perspectiva investigativa de trabalho prático (2.3.7) e enquadra-se a formação de professores em educação em ciências (2.3.8).

2.2. FUNDAMENTOS DE BIOTECNOLOGIA

2.2.1. O QUE É BIOTECNOLOGIA

Muitos conhecimentos de biologia são cada vez mais associados a aplicações tecnológicas, numa grande área de conhecimento que é a biotecnologia. As Nações Unidas definem biotecnologia como “qualquer aplicação que use sistemas biológicos, organismos vivos ou seus derivados para o desenvolvimento ou modificação de produtos e processos para usos específicos” (Guerreiro, 2006, p.3). Em sentido lato, biotecnologia diz respeito a toda a tecnologia que utiliza organismos uni ou pluricelulares ou partes destes, com vista à produção de bens e serviços (Fevereiro, 2006; Macedo *et al.*, 2003; Pais, 2003). Cita-se, como exemplo, a produção de moléculas (*e.g.* insulina) e o melhoramento genético de microrganismos, plantas ou animais (Pais, 2003). A incorporação de seres vivos ou de componentes seus, em processos de produção de

bens e serviços requer conhecimentos fundamentais das ciências da vida, por exemplo, sobre os mecanismos biológicos que se pretendem usar e as estratégias mais adequadas para a obtenção do produto desejado (Fevereiro, 2006). Biotecnologia é uma área de conhecimento onde várias disciplinas de ciências (e.g. engenharia genética e informática) se fundem na construção de novos saberes científico-tecnológicos (Lima & Mota, 2003; Macedo *et al.*, 2003; Raposo, 2003).

A génese do termo biotecnologia remonta a 1919, quando foi usado pelo engenheiro húngaro Karl Ereky (Canhoto, 2010; Casal *et al.*, 2004a; Raposo, 2003) referindo-se a “todos os processos envolvidos na formação de produtos a partir de matéria-prima utilizando a “ajuda” de organismos vivos” (Casal *et al.*, 2004a, p.2). O termo biotecnologia aparece frequentemente associado, quase exclusivamente, às aplicações da engenharia genética, omitindo-se que várias aplicações de biotecnologia remontam a milhares de anos (Raposo, 2003). Nas civilizações egípcias e gregas da antiguidade fabricava-se vinho, cerveja, pão e queijo através de processos de fermentação, sem se saber da existência dos microrganismos envolvidos na sua produção. Foi Pasteur que, em meados do século XIX, pôs em evidência a actividade de microrganismos no processo de produção de alimentos, destacando o papel das leveduras e bactérias, respectivamente, na fermentação alcoólica e láctica (Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). Os conhecimentos sobre fermentação permitiram, no início do século XX, aplicar a fermentação a nível industrial (Raposo, 2003), por exemplo, na produção de penicilina em larga escala durante e após a 2ª Guerra Mundial (Casal *et al.*, 2004a; Raposo, 2003; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003) e de outros antibióticos que contribuíram para o progresso da medicina (Raposo, 2003). Há milhares de anos que as plantas são manipuladas geneticamente por técnicas convencionais, através de cruzamento e selecção (Belo *et al.*, 2001), em que os progenitores seleccionados são cruzados para originarem descendentes com as melhores características de cada um (Oliveira, 2000; Rosa, 1999). Contudo, nem sempre se obtém indivíduos com as características desejadas, uma vez que algumas destas podem estar associadas a outras indesejadas (Rosa, 1999). Com as técnicas de melhoramento convencional, em que se trabalha com genomas inteiros, são combinados milhares de genes pelo que o desenvolvimento de uma variedade com sucesso, por técnicas de cruzamento, pode levar muitos anos, “até 12 anos no caso dos cereais ou largas dezenas de anos no caso de plantas de ciclo de vida mais longo” (Oliveira, 2000, p.22). A engenharia genética permite o melhoramento com maior precisão, em que apenas o gene de interesse, de que depende a característica pretendida é introduzido, não existindo barreiras quanto à

sua proveniência, uma vez que “pode ter origem em qualquer outra planta ou mesmo em organismos muito distantes em termos evolutivos, como bactérias ou animais” (Belo *et al.*, 2001, p.129).

Os primeiros trabalhos sobre hereditariedade foram realizados por Gregor Mendel, e tornados públicos em 1865, a partir dos resultados observados com cruzamentos de ervilheiras. Ao apresentar as suas leis da hereditariedade deu-se início a um novo ramo da biologia – a genética. Esta seria posteriormente desenvolvida pelos avanços da biologia molecular, quando Avery, MacLeod e McCarty, em 1944, mostraram que o DNA é o suporte químico da informação genética. Em 1953, Watson e Crick (baseados em trabalhos de Wilkins e Franklin) propuseram a estrutura da dupla hélice da molécula de DNA e, em 1966, Nirenberg e colaboradores estabeleceram o código genético (Raposo, 2003; Silva *et al.*, 2005).

A partir da década de 70 do século passado, ocorreu uma verdadeira revolução biotecnológica com a descoberta das enzimas de restrição e a construção da primeira molécula de DNA recombinante por engenharia genética (Raposo, 2003; Silva *et al.*, 2005). A primeira aplicação comercial da tecnologia do DNA recombinante ocorreu em 1982, com a produção de insulina humana para tratamento da diabetes, a partir de *Escherichia coli* transformada (Casal *et al.*, 2004a; Raposo, 2003). Mais tarde, em 1983, foi divulgada a obtenção da primeira planta transgénica (Belo *et al.*, 2001; Canhoto, 2010), em plantas de tabaco (*Nicotiana*) (Arunraj & Babu, 2001; Canhoto, 2010). Por conseguinte ao termo biotecnologia correspondem diversos significados, havendo quem a divide em biotecnologia clássica e moderna (Raposo, 2003). A primeira refere-se à utilização dos processos naturais dos seres vivos, como a capacidade fermentativa apresentada por alguns microrganismos, ou os cruzamentos de plantas com interesse, na expectativa de se obter uma descendência com determinadas qualidades (Raposo, 2003). A biotecnologia moderna engloba avanços científicos e tecnológicos das últimas décadas, por exemplo, a manipulação de genes e a interferência directa no genoma de um organismo, alterando-lhe as suas características de forma direccionada, seleccionando de forma mais eficaz genes de interesse e evitando outros não desejáveis (Oliveira, 2000; Raposo, 2003). A possibilidade de alterar as características naturais de organismos vivos através de engenharia genética tem tido impacto profundo em diversos sectores, sobretudo na saúde, agricultura e ambiente (Macedo *et al.*, 2003; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). A biotecnologia, inicialmente centrada na produção de alimentos, vacinas e antibióticos, foi progressivamente entrando na engenharia genética para modificar o genoma de organismos e produzir novos compostos. Foi precisamente a

este nível que começou a ser conhecida do público em geral, ao estimular debates em torno de questões científico-tecnológicas que levantam dúvidas e geram controvérsias, de que constitui exemplo, o desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas e a clonagem em animais.

Actualmente associam-se cores às várias áreas da biotecnologia (Canhoto, 2010). A biotecnologia verde está associada a aplicações na agricultura, designadamente para aumentar a produtividade agrícola (e.g. obtenção de plantas geneticamente modificadas). A biotecnologia vermelha está associada à indústria farmacêutica e medicina (e.g. vacinas, produção de antibióticos). A biotecnologia branca aplica-se a processos industriais (e.g. indústria alimentar e cosmética) e na descontaminação de solos e água (biorremediação). Finalmente, a biotecnologia azul associa-se a produtos derivados de ambientes marinhos (*Ibid.*).

2.2.2. BIOTECNOLOGIA VEGETAL – MICROPROPAGAÇÃO DE PLANTAS

2.2.2.1. CULTURA DE PLANTAS *IN VITRO*²

A cultura de plantas *in vitro* constitui uma ferramenta atraente para o estudo de biologia no ensino secundário, designadamente porque permite (Fevereiro & Neves, 2001): “chamar a atenção dos alunos para conceitos fundamentais, como a teoria celular, a totipotência, o controlo dos processos de diferenciação nos seres vivos superiores; desenvolver experimentação, através da elaboração e teste de hipóteses; testar aptidões técnicas, como a capacidade de manusear material biológico em condições de assepsia; utilizar um modelo não animal, manuseável sem as condicionantes éticas levantadas pela utilização de animais superiores para experimentação na sala de aula” (p.9).

O termo cultura *in vitro* corresponde à cultura de células, tecidos ou órgãos, em condições de assepsia num meio de cultura de composição definida ou complexo (e.g. água, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, fonte de carbono e reguladores de crescimento) (Oliveira, 2000) sob condições de luz e temperatura controladas. Nestas condições, o material vegetal é capaz de crescer e dar origem a plantas com elevada probabilidade de terem a mesma informação genética da planta-mãe – clones. Os potenciais de regeneração dependem do tipo de planta, do órgão utilizado e do estado de

² Algumas partes da revisão de literatura efectuada sobre a cultura de plantas *in vitro* foram utilizadas na elaboração do contexto problemático intitulado “Cultura de tecidos *in vitro* – uma estratégia para a multiplicação de plantas em larga escala”, a partir do qual um grupo de trabalho que frequentou a OF desenvolveu um percurso investigativo.

desenvolvimento deste. Órgãos jovens são mais susceptíveis à clonagem do que quando maduros, o que significa que, à medida que a especialização progride durante o desenvolvimento do órgão ou da planta, a desdiferenciação torna-se mais difícil. No entanto, mesmo nestes órgãos permanecem, em geral, células que mantêm alguma facilidade em se desdiferenciarem. É o caso de células de parênquima de tecidos diferenciados (e.g. fragmentos de folhas) que podem sofrer um processo de desdiferenciação e reverter a um estado meristemático, com intensa actividade mitótica, conduzindo à formação de massas de células morfológicamente uniformes – tecido caloso (Canhoto, 2010). Os explantes (porção de tecido vegetal que vai ser submetido a cultura) podem provir de diversas partes da planta, como raízes, caules e folhas (Collin & Edwards, 1998), pelo que qualquer órgão ou porção deste, nomeadamente se for jovem, pode ser usado como explante no estabelecimento da cultura *in vitro* (Fevereiro & Neves, 2001).

A necessidade de assepsia dita largamente a organização e as técnicas utilizadas no laboratório para a cultura de tecidos *in vitro* (Canhoto, 2010). Todos os procedimentos que envolvem assepsia devem ser realizados na câmara de fluxo laminar, a qual deve ser previamente esterilizada, através de lâmpadas de radiação ultravioleta.

A micropropagação é uma das áreas de aplicação da cultura *in vitro* (Oliveira, 2000) e pode realizar-se através da cultura de meristemas pré-existentes nos explantes em gomos axilares e apicais ou ainda por indução de organogénese a partir de meristemas formados *de novo* (origem adventícia) ou de neoformação (Canhoto, 2010). Estes podem formar-se directamente a partir de fragmentos de tecido que não possuem meristemas (e.g. folhas) ou indirectamente, a partir de tecido caloso ou *callus* (plur. *calli*). Na primeira situação (organogénese directa), no explante *in vitro* formam-se meristemas adventícios que evoluem para rebentos caulinares e, quando enraizados, originam novas plantas (Canhoto, 2010.). Na cultura de segmentos foliares, os meristemas podem ter origem em células epidérmicas, corticais ou localizadas junto dos tecidos vasculares (*Ibid.*). Na segunda situação, as células dos *calli*, ao sofrerem diferenciação coordenada podem originar processos de morfogénese formando raízes e rebentos (organogénese indirecta), ou embriões somáticos (embriogénese somática). Os meristemas, atendendo ao facto de serem zonas internas não vascularizadas estão, em geral, isentos da presença de agentes contaminantes (e.g. vírus) (Canhoto, 2010; Pais, 2003).

Em termos gerais, a cultura *in vitro* permite propagar plantas de qualidade superior em larga escala (milhares ou milhões) sem destruir a planta-mãe. Possibilita a obtenção de plantas fáceis de transportar para outras regiões, elimina preocupações com a

introdução de novas doenças e constitui, ainda, uma via promissora para a recuperação de plantas em vias de extinção (Oliveira, 2000). Por outro lado, possibilita a propagação de espécies difíceis de clonar por técnicas convencionais (Canhoto, 2010). A nível industrial, a multiplicação de plantas em larga escala constitui a principal aplicação da cultura de tecidos vegetais *in vitro* (Canhoto, 2010; Pais, 2003). Este processo, por possibilitar a produção de clones (Canhoto, 2010) é vantajoso para propagar e manter variedades de elevado interesse económico (Storr, 1985) ou ambiental. A cultura *in vitro* é também indispensável para obter plantas transgénicas, pois de nada vale transferir um gene de interesse para células vegetais, sem promover a regeneração de plantas a partir das células geneticamente transformadas (Canhoto, 2010; Salema, 1999).

A cultura de tecidos *in vitro* apresenta outras vantagens, nomeadamente: consegue-se obter elevado número de plantas em pouco tempo (Canhoto, 2010); as culturas são iniciadas por explantes de pequenas dimensões e com recurso a espaços reduzidos; o efeito da sazonalidade pode ser minimizado; como a micropropagação é realizada em condições de assepsia são reduzidos os riscos das plantas obtidas apresentarem contaminações por agentes patogénicos. Contrariamente, plantas propagadas vegetativamente por técnicas convencionais (e.g. enxertia), uma vez infectadas por vírus, bactérias e/ou fungos endógenos, transmitem esses agentes às gerações futuras, podendo provocar uma diminuição progressiva no rendimento das culturas.

2.2.2.2. COMPONENTES NUTRICIONAIS DOS MEIOS DE CULTURA

O grau de sucesso de qualquer técnica de regeneração de células vegetais implica a escolha acertada do meio de cultura. O sucesso de um meio está relacionado com o facto das proporções dos nutrientes e das suas concentrações corresponderem ao requisito óptimo para o crescimento de células e tecidos e/ou para a sua diferenciação (Gamborg, 1984). Hoje em dia, existem dezenas de meios adequados à cultura de grande número de espécies, dos quais se destaca o meio MS (Murashige & Skoog, 1962, citados em Bhalla & Weerd, 1999, p.90) (Tabela 2.1). Para espécies mais recalcitrantes (e.g. lenhosas) foram desenvolvidos outros meios, por exemplo o meio DKW (Driver & Kuniyuki, 1984, citados em Anon, 2006).

Tabela 2.1 – Composição do meio de Murashige & Skoog (MS) (1962).

CONSTITUINTES	CONCENTRAÇÃO NO MEIO DE CULTURA (mg/L)
Macronutrientes	
KNO ₃	1900
NH ₄ NO ₃	1650
MgSO ₄ .7H ₂ O	370
CaCl ₂ .2H ₂ O	440
KH ₂ PO ₄	170
Micronutrientes	
MnSO ₄ .4H ₂ O	22,3
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,6
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,025
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0,25
CoCl ₂ .6H ₂ O	0,025
Fonte de Ferro	
FeSO ₄ .7H ₂ O	27,8
Na ₂ EDTA. 2H ₂ O	37,3
Vitaminas e outros suplementos	
Ácido nicotínico	0,5
Piridoxina-HCl	0,5
Tiamina-HCl	0,1
<i>Mio</i> -inositol	100
Fonte de Carbono	
Sacarose	30000
Azoto orgânico (aminoácidos)	
Glicina	2,0
Agente gelificante	
Agar	7000
pH	5,6-5,8

(Adaptada de Collin & Edwards, 1998, p.20)

Os diferentes constituintes do meio de cultura podem formar os seguintes grupos (Collin & Edwards, 1998):

1. Macronutrientes – correspondem aos seguintes elementos químicos: azoto, fósforo, potássio, cálcio, magnésio e enxofre. O azoto é absorvido sob a forma de iões nitrato (NO₃⁻) ou amónio (NH₄⁺). Os catiões potássio são fornecidos sobretudo através do nitrato de potássio (KNO₃) ou do di-hidrogenofosfato de potássio (KH₂PO₄) que também é uma fonte de fósforo (Dodds & Roberts, 1985). O magnésio e o enxofre são frequentemente adicionados na forma de MgSO₄, enquanto o cálcio pode adicionar-se como CaCl₂. Estes elementos são indispensáveis para manter funções estruturais e metabólicas da planta, por exemplo, síntese proteica (particularmente N e S), síntese de nucleótidos (P, N e S), e constituição da parede celular e da membrana, além do papel na tradução de sinais (cálcio) (Collin & Edwards, 1998). O magnésio é constituinte da clorofila, co-factor enzimático, além de contribuir para a integridade das membranas celulares (*Ibid.*);

2. Micronutrientes – correspondem aos seguintes elementos químicos: manganês, zinco, boro, cobre, cobalto e molibdênio. São utilizados em concentrações inferiores às dos macronutrientes, mas também são indispensáveis ao metabolismo das plantas, dada a sua importante função como co-factores enzimáticos (Canhoto, 2010; Collin & Edwards, 1998). Dentro dos micronutrientes destaca-se o ferro, normalmente adicionado sob a forma de sulfato de ferro, e combinado com um agente quelante (EDTA) de forma a assegurar a sua disponibilidade nos meios de cultura (*Ibid.*);
3. Vitaminas e outros suplementos – têm funções catalíticas nos sistemas enzimáticos, sendo necessárias em concentrações muito pequenas (Dodds & Roberts, 1985). A lista inclui, entre outras, tiamina-HCl, ácido nicotínico, piridoxina-HCl, *mio*-inositol e biotina. A tiamina (vitamina B₁) é essencial para o crescimento de células vegetais em cultura, enquanto os restantes suplementos melhoram o crescimento, particularmente em culturas de baixa densidade celular (Collin & Edwards, 1998) e de citocininas (Dodds & Roberts, 1985);
4. Fonte de carbono – na cultura de tecidos é necessário adicionar uma fonte de carbono ao meio (Dodds & Roberts, 1985). A sacarose é a fonte de carbono mais utilizada na micropropagação (com concentrações entre 20 a 30 g/L), podendo substituir-se por glicose (Canhoto, 2010; Collin & Edwards, 1998). Apesar de menos eficazes podem utilizar-se outras fontes de carbono, como frutose, lactose e maltose (Collin & Edwards, 1998);
5. Azoto orgânico (aminoácidos) – com excepção da glicina, que faz parte da composição de alguns meios, os aminoácidos não são usualmente adicionados para a cultura de tecidos vegetais (Dodds & Roberts, 1985). No entanto, caso se considere necessário pode enriquecer-se o meio com caseína hidrolisada (Collin & Edwards, 1998; Dodds & Roberts, 1985). Os aminoácidos estão envolvidos na multiplicação celular e na regeneração *in vitro* (Canhoto, 2010);
6. Reguladores de crescimento – são os componentes do meio de cultura mais críticos (Collin & Edwards, 1998), pois têm papel activo no desenvolvimento e crescimento das plantas, condicionando o tipo de resposta de um explante *in vitro*. Englobam as hormonas vegetais (reguladores de crescimento endógenos) e os compostos sintéticos, com actividade semelhante a estas. Muitos destes apresentam uma acção equivalente (Canhoto, 2010) ou superior à das hormonas vegetais (F. Ferreira, 2001). As auxinas e citocininas são os grupos de reguladores de crescimento mais

importantes e o balanço entre elas é, normalmente, considerado como um dos principais factores no controlo da regeneração de plantas *in vitro* por influenciar a resposta organogénica (Canhoto, 2010; F. Ferreira, 2001). As auxinas e citocininas estimulam a divisão das células e controlam a diferenciação celular (Collin & Edwards, 1998). Na cultura *in vitro* as auxinas são usadas com os seguintes objectivos: formação e manutenção de tecido caloso, indução de raízes, formação de embriões somáticos e de meristemas adventícios nos processos de organogénese (Canhoto, 2010). As variações nas proporções de auxinas e citocininas no meio de cultura influenciam fortemente o tipo de diferenciação celular: quando o nível de auxinas relativamente ao de citocininas é elevado formam-se raízes, porém, se existir maior concentração de citocininas do que de auxinas verifica-se a formação de gemas caulinares, que sofrendo alongamento originam rebentos (Canhoto, 2010; Conde, 1993). Por outro lado, há situações em que a proporção de auxinas:citocininas leva apenas à desdiferenciação e multiplicação de células resultando na formação de tecido caloso (Conde, 1993). O IAA (ácido 3-indol acético) e o IBA (ácido 3-indol butírico) são auxinas de ocorrência natural (Canhoto, 2010). O IAA é facilmente degradado pela luz e pela oxidação enzimática, sendo adicionado ao meio de cultura em concentrações relativamente elevadas (1-30 mg/L) (Dodds & Roberts, 1985). O NAA (ácido 1-naftaleno acético) e o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) são auxinas sintéticas, com efeitos análogos aos das auxinas naturais, utilizados com grande frequência em cultura *in vitro* para promover a desdiferenciação celular e a formação de tecido caloso (Canhoto, 2010). A cinetina (6-furfurilaminopurina) e a BAP (6-benzilaminopurina), que são compostos sintéticos, e a zeatina, de origem natural, são as citocininas mais usadas (Dodds & Roberts, 1985). Outros tipos de reguladores de crescimento, como giberelinas e ácido abscísico (ABA) não são habitualmente adicionados aos meios de cultura (Collin & Edwards, 1998), embora o ácido giberélico (GA_3) seja utilizado na cultura de meristemas apicais (Dodds & Roberts, 1985) para promover o alongamento;

7. Agar – confere consistência ao meio de cultura suportando os explantes e promovendo o seu adequado arejamento. O agar é o agente mais usado na preparação de meios de cultura por ter custos reduzidos, ser estável a altas temperaturas e apresentar relativa inactividade para reacções com os constituintes do meio (F. Ferreira, 2001).

2.2.2.3. FASES DA MICROPROPAGAÇÃO

A micropropagação de plantas corresponde a um processo que envolve várias fases sequenciais que o material vegetal tem de percorrer, até se regenerarem plântulas *in vitro*, em condições de serem transferidas para estufa e/ou campo. Em geral, consideram-se cinco fases num ciclo completo de micropropagação, embora se reconheça alguma artificialidade nesta classificação: fase zero – selecção da planta-mãe; fase um – desinfecção do material vegetal e estabelecimento *in vitro*; fase dois – multiplicação; fase três – enraizamento; fase quatro – transferência para o substrato de transplante e aclimatização (Canhoto, 2010; Grattapaglia & Machado, 1998, citados em Calvete *et al.*, 2002, p.649).

Fase 0 – Selecção da planta-mãe

O estado fisiológico da planta-mãe, a partir da qual vão ser retirados os explantes tem grande influência no comportamento posterior do material vegetal *in vitro*. Devem seleccionar-se preferencialmente zonas jovens de plantas saudáveis, ou seja, sem sinais de deficiência nutricional ou hídrica, por fornecerem, em geral, melhores explantes. O estado de contaminação da planta-mãe é de crucial importância, sendo as bactérias e/ou fungos os principais agentes patogénicos que afectam a cultura de tecidos *in vitro* (Canhoto, 2010; F. Ferreira, 2001). Assim, os explantes devem ser submetidos a um processo de desinfecção antes da inoculação no meio de cultura, uma vez que “estas contaminações, muito comuns nas plantas *in vivo*, são, normalmente, devastadoras nas culturas realizadas *in vitro*” (F. Ferreira, 2001, p.11).

Fase 1 – Desinfecção do material vegetal e estabelecimento *in vitro*

Esta fase é determinante do sucesso ou fracasso da micropropagação, estando o seu sucesso dependente da transferência dos explantes para condições *in vitro*, sem qualquer tipo de contaminação microbiana, constituindo a sua desinfecção uma etapa crítica (Canhoto, 2010). Para tal, o material vegetal deve ser previamente desinfectado, e todo o material de vidro, utensílios metálicos (e.g. pinças e bisturis), assim como os meios de cultura devem ser esterilizados por calor húmido (Canhoto, 2010; F. Ferreira, 2001). Para a cultura de tecidos, as técnicas mais frequentes de desinfecção do material vegetal consistem na imersão dos explantes em soluções de álcool etílico, hipoclorito de sódio, peróxido de hidrogénio (F. Ferreira, 2001), hipoclorito de cálcio (Canhoto, 2010) ou *Benlate*[®] (solução fungicida) (Brito *et al.*, 2007). Eventualmente, para explantes mais

contaminados pode-se usar cloreto de mercúrio, com especiais cuidados, devido à toxicidade do mercúrio (Canhoto, 2010). A inoculação do explante, seleccionado e desinfectado em cultura *in vitro*, é realizada em condições de assepsia, em câmaras de fluxo laminar.

Um único explante pode produzir um número elevado de plantas. No entanto, a utilização de maior número de explantes permite obter, em igual período de tempo, o número de plantas pretendido, considerando também que durante o processo ocorrem perdas devido a contaminações por fungos e/ou bactérias. Posteriormente, as placas de Petri ou frascos de cultura são colocados em câmaras de cultura, com controlo de factores físicos (temperatura, fotoperíodo e intensidade luminosa) (Canhoto, 2010) durante algumas semanas até se desenvolverem rebentos ou tecido caloso. Em geral, nas câmaras de cultura, a temperatura varia entre $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ e o fotoperíodo deve ser de 16 horas de luz, sendo utilizadas lâmpadas fluorescentes de luz branca, com uma intensidade luminosa de $45\ \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

Fase 2 – Multiplicação

O objectivo desta fase é a obtenção de elevadas taxas de rebentos. Consiste na realização de subculturas dos rebentos, em condições assépticas, para novo meio de cultura com o objectivo de promover o crescimento e a multiplicação. Após o desenvolvimento dos rebentos procede-se à sua fragmentação e distribuição por frascos com meio de cultura com citocininas, as quais são particularmente utilizadas nesta fase, especialmente a BAP. Este procedimento repete-se as vezes necessárias à obtenção do número desejado de rebentos (geralmente um número superior para suprir possíveis perdas).

Fase 3 – Enraizamento

Os rebentos formados durante a fase de multiplicação geralmente não desenvolvem raízes, uma vez que os reguladores de crescimento usados *in vitro* para a produção de rebentos não induzem, normalmente, a sua formação (F. Ferreira, 2001). Depois de se obter o número de rebentos desejado, procede-se ao seu enraizamento *in vitro* (igualmente em condições assépticas), através de nova individualização e posterior introdução em frascos com meio de cultura diferente, com o objectivo de promover a rizogénese e, deste modo, a formação de plântulas. O meio utilizado nesta fase difere dos anteriores no equilíbrio dos reguladores de crescimento, com predomínio das auxinas relativamente às citocininas. Por vezes, esta fase pode ser efectuada em simultâneo com

a seguinte, de aclimatização, sendo um processo *ex vitro*. Assim, os rebentos após uma imersão rápida numa solução muito concentrada de auxinas (choque hormonal) são enraizados no substrato de transplante para aclimatização (Canhoto, 2010).

Fase 4 – Transferência para o substrato de transplante e aclimatização

As plântulas desenvolvidas *in vitro* estão adaptadas a condições ambientais especiais, que se caracterizam pela elevada humidade relativa no interior dos frascos de cultura (90 a 100%), baixa intensidade luminosa e consequentemente deficiências nas trocas gasosas, quando comparadas com as que ocorrem *in vivo* (Calvete *et al.*, 2002; Pospíšilová *et al.*, 1999). Estas condições resultam na formação de plântulas com alterações anatómicas, morfológicas e fisiológicas relativamente às plantas desenvolvidas em estufas e no campo (*Ibid.*). As estufas e, especialmente, o campo têm menor humidade relativa e maiores níveis de intensidade luminosa, constituindo ainda, ambientes não assépticos (F. Ferreira, 2001; Pospíšilová *et al.*, 1999). Face a esta situação, as plântulas obtidas por micropropagação não conseguiriam sobreviver se transplantadas (directamente e sem cuidados adicionais) das condições *in vitro* para o campo (F. Ferreira, 2001). É necessário efectuar a transferência das plântulas da condição *in vitro* para *ex vitro* (normalmente numa estufa), onde vão ser submetidas a uma fase de aclimatização, durante a qual se diminui gradualmente a humidade relativa (Canhoto, 2010; Pospíšilová *et al.*, 1999). O termo aclimatização refere-se à adaptação a um novo ambiente, a qual depende da capacidade das plântulas sobreviverem o tempo suficiente para realizarem os rearranjos anatómicos e as modificações fisiológicas fundamentais para a sobrevivência e o crescimento (Williams *et al.*, 1992, citados por F. Ferreira, 2001, p.20). Esta fase é bastante crítica e representa em alguns casos um factor limitante do processo de micropropagação, pelas seguintes razões (Menon, 2002):

- A plântula muda de uma situação de reduzida taxa de transpiração, devido à baixa intensidade luminosa e à elevada humidade relativa, para um ambiente que favorece a transpiração, ficando muito susceptível ao stress hídrico;
- A plântula passa de uma existência mixotrófica/heterotrófica, em que depende de um suplemento externo de carbono (sacarose), para um estado autotrófico, no qual precisa de aumentar o seu potencial fotossintético;
- A plântula muda de uma condição de elevada disponibilidade de nutrientes no meio de cultura, para outra, onde precisa rapidamente de desenvolver a absorção de sais minerais;

- A plântula sai de condições assépticas ficando exposta ao ataque de microrganismos patogénicos.

Um dos principais problemas de sobrevivência das plantas obtidas através da micropropagação deve-se ao stresse hídrico. A parte aérea das plantas perde água principalmente através dos estomas e, de forma menos intensa, pela cutícula (F. Ferreira, 2001). Frequentemente, em condições *in vitro*, os estomas apresentam-se abertos continuamente e têm estrutura anormal, com células guarda arredondadas, enquanto nas plantas com origem no campo estas células são, geralmente, elípticas (*Ibid.*). As folhas de plantas propagadas *in vitro* apresentam pequenas quantidades de cera epicuticular (Canhoto, 2010) e cutícula pouco desenvolvida (devido à elevada humidade relativa), são finas, com reduzida eficiência fotossintética, além de poderem apresentar pouca diferenciação do mesófilo, ou apresentarem a camada de parênquima em paliçada pouco desenvolvida (com células pequenas e em menor número) (Calvete *et al.*, 2002) e o parênquima lacunoso com espaços intercelulares de maiores dimensões, relativamente às plantas provenientes do campo (F. Ferreira, 2001). Por outro lado, as raízes formadas nos rebentos às vezes apresentam fraca ligação vascular com a restante parte da planta, o que dificulta o transporte de água e sais minerais (Canhoto, 2010).

A aclimatização a condições *ex vitro* desencadeia alterações morfológicas e fisiológicas significativas ao nível das folhas: aumenta a sua espessura, promove a diferenciação do mesófilo em parênquima em paliçada e lacunoso, diminui a densidade dos estomas e as células guarda adquirem a forma elíptica (Pospíšilová *et al.*, 1999). Consequentemente, a taxa de transpiração diminui gradualmente quer pela regulação do mecanismo de abertura e fecho dos estomas, quer pelo desenvolvimento da cutícula e da cera epicuticular que sobre elas se deposita (*Ibid.*).

Do ponto de vista físico, o substrato usado na aclimatização deve ter boa capacidade de retenção da humidade e não se compactar excessivamente, de modo a comprometer a drenagem e, consequentemente, o arejamento das raízes. Os substratos mais comuns são a vermiculite, perlite e a turfa, os quais devem ser previamente esterilizados, uma vez que a elevada humidade relativa necessária para a sobrevivência das plantas, numa fase inicial, é extremamente favorável à proliferação de microrganismos.

2.2.2.4. ESPÉCIE MODELO: *Brassica oleracea* var. *botrytis* L.

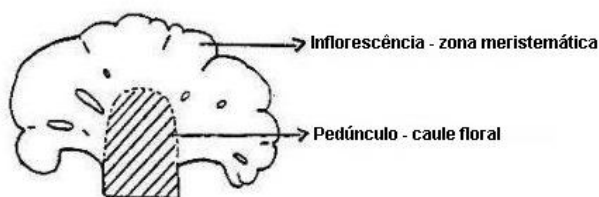


Figura 2.1 – Estrutura da parte floral da couve-flor.

A couve-flor, *Brassica oleracea* var. *botrytis* L., da família das *Brassicaceae*, apresenta conjuntos de flores (inflorescências) mais ou menos carnudos, formando massas volumosas de cor branca, densas e

muito compactas (Coutinho, 1939) (Figura 2.1). A formação de inflorescências está associada à evolução dos meristemas caulinares para meristemas florais durante a fase reprodutora, quando a planta é induzida à floração por estímulos ambientais (Canhoto, 2010). A superfície externa das inflorescências corresponde a meristemas florais, os quais normalmente originam flores, mas nas condições de cultura *in vitro* podem originar rebentos (Storr, 1985).

No ensino secundário, a couve-flor é um modelo adequado para desenvolver trabalhos de investigação em cultura de tecidos vegetais, designadamente porque: adquire-se facilmente; é suficientemente robusta para suportar o manuseamento e resistir a desinfecções rigorosas, reduzindo-se as perdas de explantes por contaminações ou morte celular; os explantes têm um crescimento rápido e notório após 10 dias no meio de cultura; entre 6 a 12 semanas formam-se plântulas prontas para a aclimatização; são necessários apenas dois tipos de meio de cultura, diferindo apenas no facto do primeiro ter reguladores de crescimento (e.g. citocininas ou citocininas e auxinas) relativamente ao segundo, sendo este último adequado para promover o enraizamento dos rebentos (NCBE, 1995a; Storr, 1985).

Bhalla & Weerd (1999) avaliaram a hipótese de usar diferentes tipos de explantes e diversas combinações hormonais (BAP, NAA e GA_3) para desenvolver um método eficiente da propagação de couve-flor. Testaram explantes provenientes da parte vegetativa (e.g. folhas, nervuras das folhas, pecíolos e caules – todos provenientes da germinação de sementes) e da parte floral (e.g. pedúnculo e inflorescência). Os explantes provenientes da inflorescência colocados no meio MS, com BAP (3 mg/L) e GA_3 (0,01 mg/L) evidenciaram melhores resultados (originaram maior número de rebentos). Embora isoladamente a BAP promova a formação de rebentos em explantes florais, no caso dos explantes vegetativos é necessário combinar a BAP e o NAA.

O NCBE (*National Centre for Biotechnology Education*, 1985) refere a utilização do meio MS e de cinetina (2,5 mg/L) para induzir a formação de rebentos a partir de

explantes florais. No entanto, também sugere a adição de IAA (8 mg/L) ao meio de cultura. O efeito desta e de outras auxinas na produção de rebentos é um aspecto a estudar quando se pretende otimizar um meio de cultura que permita a rápida propagação de plantas. A este propósito, Kumar *et al.* (1993) referem um método rápido e simples para a regeneração completa de plantas de couve-flor. Consiste em colocar os explantes provenientes da inflorescência, em meio MS com IAA (1 mg/L), que permite o desenvolvimento de plantas completas em 25 dias e a sua transferência para o campo após 35 dias do início da cultura.

2.2.3. ENGENHARIA GENÉTICA – ALGUMAS TÉCNICAS E APLICAÇÕES

2.2.3.1. DNA

O DNA (ácido desoxirribonucleico) corresponde ao material genético de todos os seres vivos, com exceção de alguns vírus constituídos por RNA (Grilo, 2001). Nas células eucarióticas o DNA encontra-se no núcleo, e em menor quantidade em mitocôndrias e plastos. O DNA nuclear está associado a proteínas básicas denominadas histonas, formando um complexo nucleoproteico designado cromatina (Robertis & Robertis, 1996). A totalidade do DNA existente numa célula constitui o genoma de um organismo, que além de sequências de DNA codificantes (os genes), inclui outras não codificantes, mas também sequências reguladoras envolvidas no controlo da expressão dos genes (Lima & Correia, 2003). Nas células eucarióticas, o genoma nuclear consiste em várias moléculas lineares de DNA, sob a forma de cromossomas individuais localizados no núcleo. Nas células procarióticas o genoma consiste numa única molécula de DNA circular (um único cromossoma), encontrada no citoplasma, formando o nucleóide (Madigan *et al.*, 2004). A maioria dos organismos procariontes apresenta pequenas moléculas circulares de DNA extra-cromossómicas de cadeia dupla com capacidade de replicação própria e autónoma – plasmídeos (Pereira, 1998; Videira, 2001a). Os plasmídeos não são elementos fundamentais para a célula bacteriana (Pereira, 1998), uma vez que normalmente os genes essenciais para as funções básicas de sobrevivência estão localizados no cromossoma (Madigan *et al.*, 2004). No entanto, se existirem, poderão conter genes que conferem propriedades vantajosas para as bactérias, como a síntese e/ou resistência a antibióticos (Canhoto, 2010; Pereira, 1998), biodegradação de substâncias complexas e virulência (*e.g.* toxinas) (Pereira, 1998).

O DNA é uma macromolécula com nucleótidos unidos por meio de ligações covalentes (ligações fosfodiéster) (Robertis & Robertis, 1996). O nucleótido do DNA chama-se desoxirribonucleótido e é constituído por um açúcar (desoxirribose), um grupo fosfato e uma base azotada (purina ou pirimidina) (Grilo, 2001). As pirimidinas apresentam um único anel heterocíclico e as purinas têm dois anéis fundidos (Robertis & Robertis, 1996). No DNA, as pirimidinas são a timina (T) e a citosina (C), e as purinas são a adenina (A) e a guanina (G) (Grilo, 2001; Robertis & Robertis, 1996). O número total de purinas é igual ao de pirimidinas ($A+G=C+T$) (*Ibid.*). Por outro lado, a razão $A+T/G+C$ não é igual a 1, pois varia entres seres vivos, sendo constante para cada espécie (Grilo, 2001). Por exemplo, na espécie humana a relação é de 1,52 e em *Escherichia coli* é de 0,93 (Robertis & Robertis, 1996).

Em 1953, associando os dados químicos de Chargaff e os obtidos por Wilkins e Franklin por meio da difracção de raios X, Watson e Crick propuseram um modelo estrutural de dupla hélice para o DNA (Grilo, 2001) (Figura 2.2.). As duas cadeias de nucleótidos unem-se pelas bases azotadas através de pontes de hidrogénio. Três pontes de hidrogénio unem as bases de G às de C e duas pontes de hidrogénio unem as bases de T às de A, conseqüentemente o par CG é mais estável que o AT (Grilo, 2001; Robertis & Robertis, 1996). As sequências de bases ao longo das duas cadeias polinucleotídicas são complementares. As duas cadeias polinucleotídicas são antiparalelas, o que significa que as suas ligações fosfodiéster seguem direcções opostas (Robertis & Robertis, 1996).

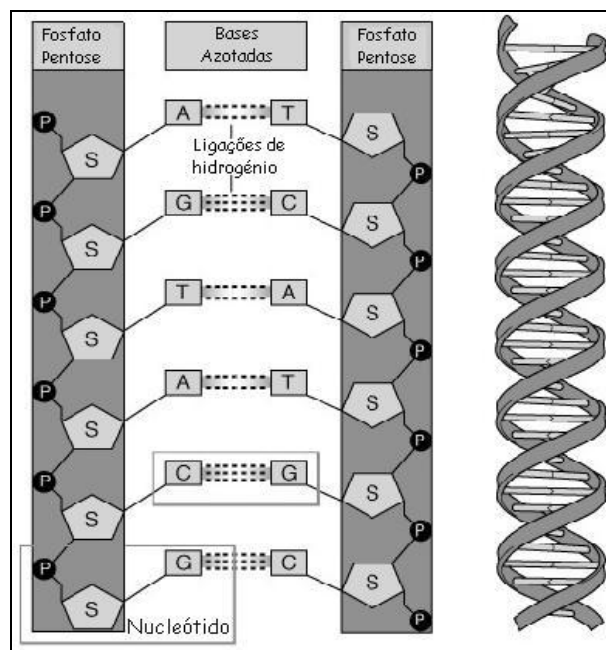


Figura 2.2 – Modelo da dupla hélice da molécula de DNA.

Retirada de: <http://www.accessexcellence.org/RC/NL/GG/dna2.php> [Acedido: 10/08/2010]

2.2.3.2. TECNOLOGIA DO DNA RECOMBINANTE

A descoberta de enzimas de restrição ou endonucleases de restrição, “ferramentas” chave na tecnologia do DNA recombinante (rDNA), foi um contributo importante para o rápido desenvolvimento da engenharia genética (Videira, 2001a). As enzimas de restrição são obtidas a partir de microrganismos, onde fazem parte de um sistema de defesa contra a invasão de DNA estranho (e.g. vírus), tendo a capacidade de o cortar e inactivar (Videira, 2001a). Por outro lado, a digestão do seu próprio DNA está naturalmente impedida devido a modificações (metilação) de nucleótidos em certas sequências específicas, que permitem protegê-lo (Salema, 1999; Videira, 2001a). Estas enzimas reconhecem determinadas sequências específicas de nucleótidos na cadeia dupla de DNA (Correia & Mendo, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003; Videira, 2001a), quebram ligações fosfodiéster entre nucleótidos adjacentes dessas sequências e cortam-nas em locais específicos (Salema, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003). As sequências de reconhecimento destas enzimas são constituídas por 4 a 8 pares de nucleótidos (Sá-Correia *et al.*, 2003), resultando sempre em cortes duplos, efectuados em pontos precisos, em cada uma das cadeias de DNA (Correia & Mendo, 2001) (Figura 2.3).

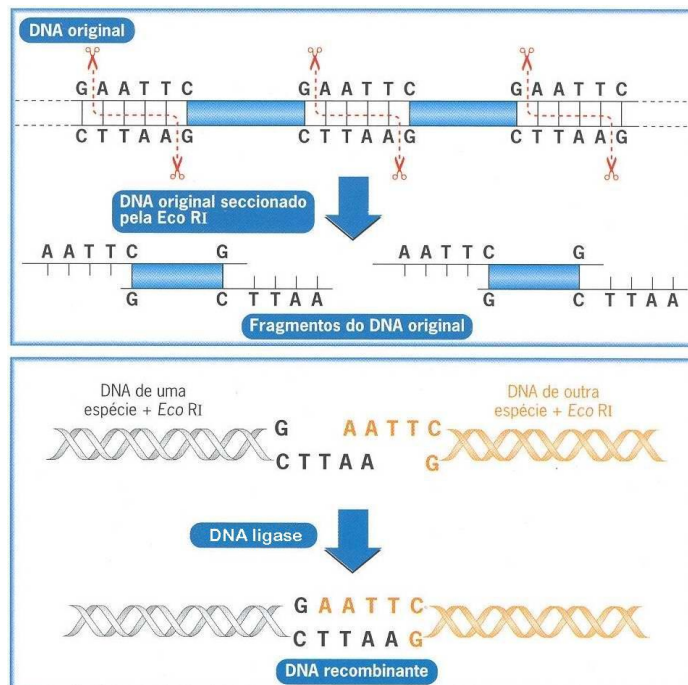


Figura 2.3 – Ferramentas chave da engenharia genética: enzimas de restrição (*EcoRI*) e DNA ligase (Retirada de Silva *et al.*, 2005, p.134).

Foram isoladas centenas de enzimas de restrição com especificidade (independentemente dos organismos de origem) no que diz respeito à sequência de reconhecimento (Correia & Mendo, 2001; Salema, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003) e à natureza da cisão do DNA alvo (Sá-Correia *et al.*, 2003). Há enzimas de restrição (e.g. *EcoRI*, *BamHI* e *HindIII*) que cortam de forma assimétrica (na diagonal) a cadeia dupla de DNA, dando origem a extremidades coesivas (Salema, 1999). Outras enzimas de restrição (e.g. *SmaI* e *AluI*) cortam a direito as duas cadeias da molécula de DNA (especificamente no centro da sequência de reconhecimento), originando extremidades de DNA em cadeia dupla (Salema, 1999; Videira, 2001a) (Tabela 2.2). As extremidades coesivas podem voltar a unir-se a fragmentos de DNA, previamente cortados com a mesma enzima, por emparelhamento das cadeias simples, processo em que se baseia a tecnologia do DNA recombinante (Salema, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003; Videira, 2001a) (Figura 2.3).

Tabela 2.2 – Sequência alvo e local de corte de algumas enzimas de restrição. O asterisco (*) indica o local da sequência de reconhecimento onde a enzima “corta” o DNA.

Microrganismo	Enzima de restrição	Sequência alvo e local de corte
<i>Escherichia coli</i>	<i>EcoRI</i>	G*AATT C C TTAA*G
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	<i>BamHI</i>	G*GATC C C CTAG*G
<i>Haemophilus influenza</i>	<i>HindIII</i>	A*AGCT T T TCGA*A
<i>Serratia marcescens</i>	<i>SmaI</i>	CCC*GGG GGG*CCC
<i>Arthrobacter luteus</i>	<i>AluI</i>	AG*CT TC*GA

(Retirada de Sá-Correia *et al.*, 2003, p.128)

A clonagem de um gene ou de outro fragmento de DNA envolve vários passos (Figura 2.4). Em primeiro lugar, após a obtenção do DNA de inserção (que codifica o gene de interesse) por fragmentação do DNA alvo, procede-se à inserção deste num vector de clonagem, formando uma molécula de DNA recombinante (Salema, 1999; Videira, 2001a). Segue-se a transformação, que envolve a introdução desta molécula numa célula hospedeira (Salema, 1999) onde permanece num estado episomal, isto é, não integrada no seu genoma (Videira, 2001a). Quando a célula hospedeira se divide, a molécula de DNA recombinante também sofre divisões, sendo transmitida às células filhas (Salema, 1999; Videira, 2001a), originando clones de células iguais que permitem a amplificação do gene de interesse introduzido no vector de clonagem (Videira, 2001a).

Os vectores de clonagem devem apresentar as seguintes características (Salema, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003; Videira, 2001a; 2001b): 1) possuir uma origem de

replicação que lhes possibilite dividirem-se no hospedeiro para transmitirem à descendência a nova informação genética; 2) conter um local de clonagem múltipla, onde existem sequências de reconhecimento (únicas) para diversas enzimas de restrição, onde irá ser introduzido o DNA de inserção; 3) apresentar, ou serem introduzidas, regiões que codificam funções (pelo seu produto) que possibilitem facilmente distinguir as células transformadas (hospedeiros com o vector de clonagem que originou a molécula de rDNA) das células não transformadas. São as chamadas marcas de selecção, por exemplo, genes que conferem resistência a um dado antibiótico ao qual a célula hospedeira é sensível (Salema, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003; Videira, 2001a). Após a transformação, as bactérias são cultivadas em meio selectivo com o antibiótico cujo gene de resistência está presente no vector de clonagem (*e.g.* ampicilina), sobrevivendo e formando colónias apenas as bactérias transformadas cujo vector lhes conferiu resistência ao antibiótico (Videira, 2001a).

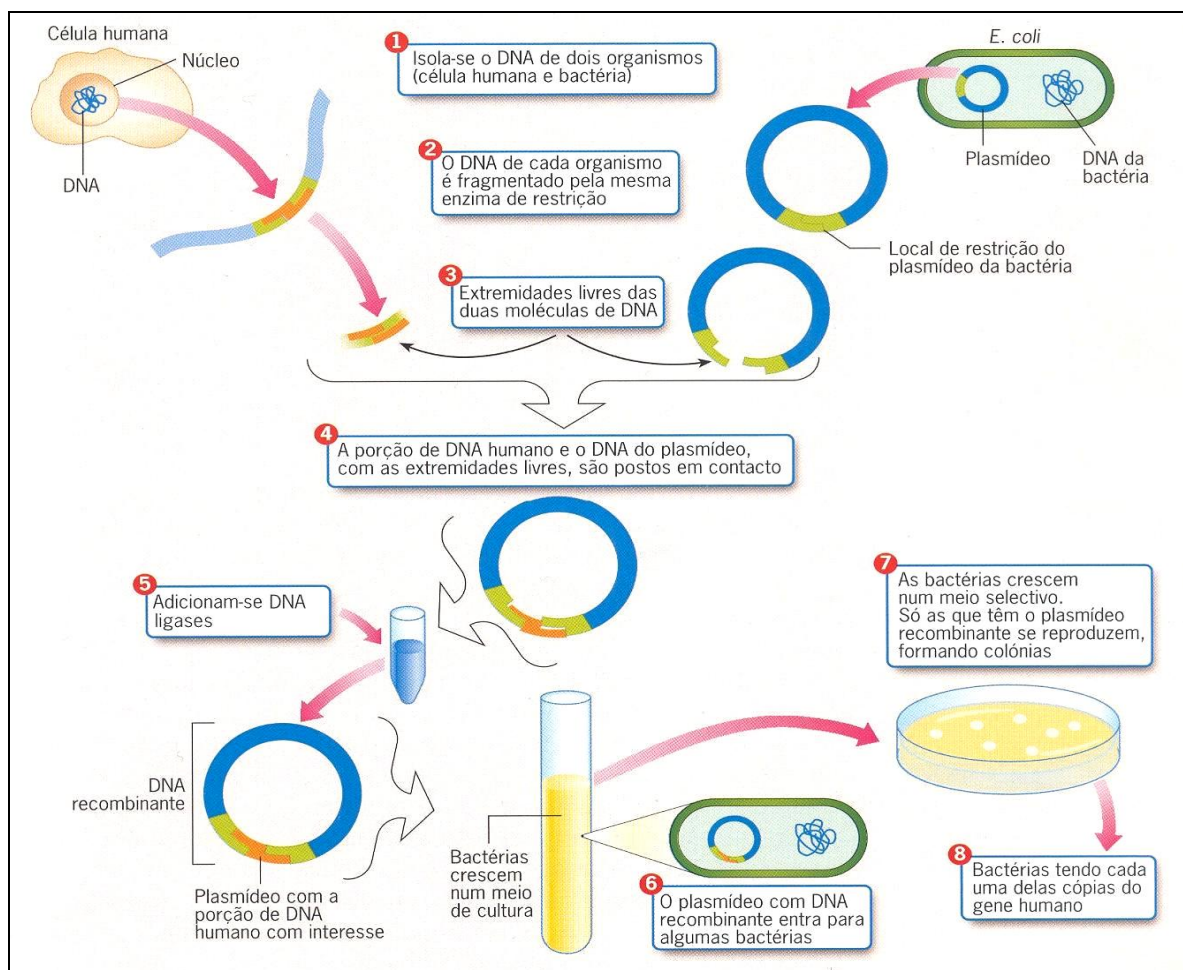


Figura 2.4 – Princípios fundamentais da tecnologia do DNA recombinante (Retirada de Silva *et al.*, 2005, p.135).

A maioria dos vetores usados para clonagem de genes ou de outros fragmentos de DNA são os plasmídeos bacterianos (Sá-Correia *et al.*, 2003; Videira, 2001a; 2001b) ou de leveduras (Salema, 1999). Também podem utilizar-se outro tipo de vetores com origem no DNA de vírus, como bacteriófagos (*e.g.* fago λ) ou vírus parasitas de células animais (Salema, 1999) (Figura 2.5). Estes potenciais vetores só depois de adequadamente manipulados podem usar-se (*Ibid.*).

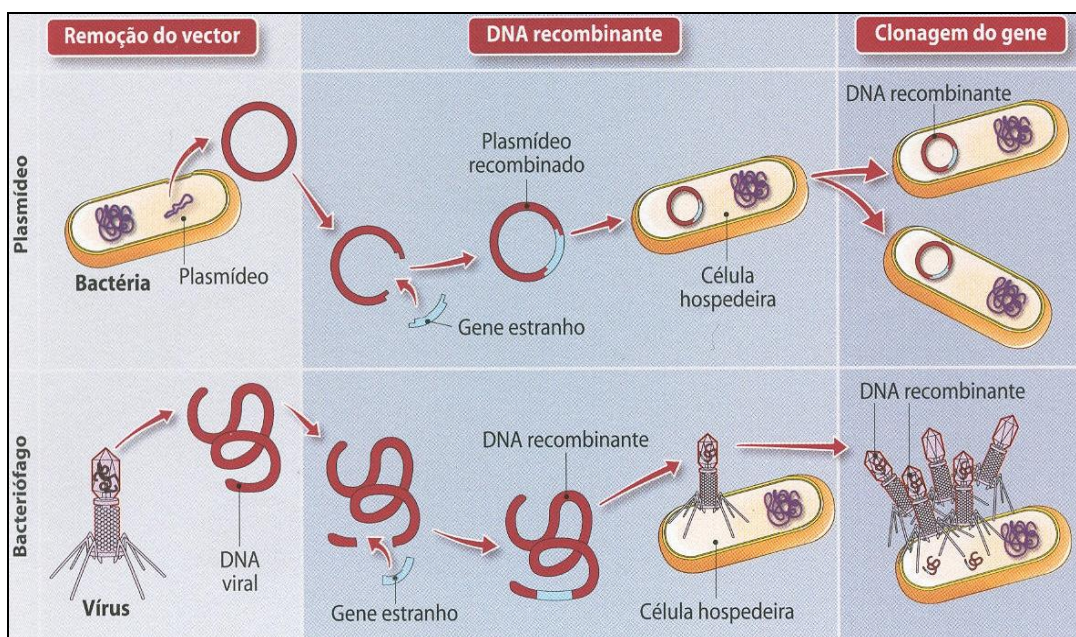


Figura 2.5 – Vetores de clonagem utilizados na tecnologia do DNA recombinante (Retirada de Matias & Martins, 2005, p.159).

Como se referiu, a molécula de rDNA tem de ser inserida numa célula hospedeira, onde vai ser multiplicada e expressa (Sá-Correia *et al.*, 2003). A bactéria *Escherichia coli* é a espécie mais utilizada como célula hospedeira em experiências de clonagem de genes (Videira, 2001a), pois tem o genoma conhecido, é simples de transformar e apresenta produtividade elevada, além das estirpes laboratoriais e industriais não serem normalmente patogénicas (Moradas-Ferreira, 2001). Por outro lado, é possível induzir artificialmente a sua competência, por incubação das células a 4°C com cloreto de cálcio e posterior exposição a um choque térmico de curta duração (2 minutos a 42°C) (Pelczar *et al.*, 1996; Sá-Correia *et al.*, 2003). Este procedimento altera a permeabilidade celular bacteriana permitindo a entrada do plasmídeo com rDNA nas células (Pelczar *et al.*, 1996).

2.2.3.3. TRANSFERÊNCIA DE GENES PARA CÉLULAS VEGETAIS – PLANTAS TRANSGÉNICAS

Nas plantas a aplicação da tecnologia do DNA recombinante é especialmente facilitada porque, em geral, as células vegetais mantêm a capacidade de regenerar organismos completos (Belo *et al.*, 2001). Após a manipulação genética de células *in vitro*, frequentemente é possível obter plantas transgênicas portadoras do novo gene.

A descoberta de bactérias fitopatogênicas do género *Rhizobium* (tradicionalmente referida por *Agrobacterium*) e o conhecimento dos processos envolvidos na infecção de uma planta hospedeira por esta bactéria, permitiram a sua utilização como vector natural na transferência de genes (Andrade *et al.*, 2003; Pais, 2003). A obtenção de plantas transgênicas, com a presença de um gene proveniente de outra espécie introduzido no seu genoma, dependente da realização de dois processos: “1) inserção do transgene³ com sucesso no genoma de uma célula vegetal e 2) regeneração de uma planta completa a partir das células transformadas” (Belo *et al.*, 2001, p.130). Porém, nem todas as plantas geneticamente modificadas são plantas transgênicas, uma vez que uma planta pode ser transformada não pela inserção de um gene de outra espécie, mas com um gene que já existia no seu genoma, resultando na sobre-expressão de uma característica (Canhoto, 2010) (e.g. tabaco com resistência a fungos). Por outro lado, a modificação genética de uma planta pode ocorrer pela inactivação de genes presentes no genoma da planta (e.g. tomate com amadurecimento retardado). Nestes casos, como não houve a introdução de um gene de outra espécie, não é correcto referirem-se estas plantas como transgênicas (*Ibid.*).

Nas últimas duas décadas têm sido utilizados vários métodos para introduzir DNA exógeno em células vegetais. Os métodos de transferência de DNA que se revelaram com maior sucesso e, por isso, amplamente utilizados, são a transferência de genes mediada por um vector (*Rhizobium*) (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Pais, 2003; Riva *et al.*, 1998; Salema, 1999) e a transferência directa de genes, a qual pode ser efectuada através do bombardeamento por partículas (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Pais, 2003; Salema, 1999;) ou por transferência para protoplastos (Oliveira, 2000; Pais, 2003; Salema, 1999).

³ Genes exógenos ou estranhos responsáveis pelas novas características (Lajolo & Di Ciero, 2006).

A) Transformação mediada por vectores

Agrobacterium tumefaciens, recentemente reclassificada como *Rhizobium radiobacter* (e.g. Koivunen *et al.*, 2004), é uma bactéria do solo gram-negativa que infecta naturalmente um grande número de espécies, sobretudo dicotiledóneas (e.g. videira, pessegueiro, noqueira) (Canhoto, 2010). Esta bactéria através de um local de ferimento causa a doença galha-do-colo (*crown gall*) que se caracteriza pelo crescimento de tumores na zona de junção entre o caule e a raiz ou nas raízes da planta infectada (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001; Canhoto, 2010; Pais, 2003; Riva *et al.*, 1998; Salema, 1999). A formação de tumores resulta da transferência, integração e expressão no genoma das células da planta infectada de um segmento do plasmídeo designado T-DNA (DNA transferido) (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001; Canhoto, 2010; Pais, 2003; Riva *et al.*, 1998). O T-DNA faz parte da estrutura do plasmídeo Ti (*tumor inducing*) existente em *Rhizobium radiobacter*, que confere capacidade infecciosa à bactéria (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001).

O plasmídeo Ti é uma molécula circular de DNA de cadeia dupla, de massa molecular entre 120 a 250 kb, e que além do T-DNA apresenta um grupo de genes *vir* (virulência) envolvidos na síntese de proteínas responsáveis pela transferência e integração do T-DNA no genoma da célula hospedeira (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001). O processo infeccioso resulta da activação dos genes *vir* por sinais químicos libertados na zona de ferimento (Belo *et al.*, 2001), como aminoácidos, monossacarídeos e, sobretudo, compostos fenólicos que integram o exsudado produzido pelas células da planta no local de ferimento (Andrade *et al.*, 2003). A região T-DNA, cuja massa molecular varia entre 12 e 24 kb, é delimitada por sequências repetidas de 25 pb, conhecidas como limites (*borders*) esquerdo e direito, com a função de identificar e determinar o DNA que vai ser transferido (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001), uma vez que qualquer sequência de DNA inserida entre eles é transferida do *Rhizobium* para as células da planta hospedeira (Pais, 2003) (Figura 2.6).

Os genes presentes no T-DNA quando integrados no genoma de células vegetais passam a expressar-se codificando também para enzimas envolvidas na biossíntese de reguladores de crescimento (auxinas e citocininas), que interferindo no balanço hormonal induzem a multiplicação descontrolada de células e o crescimento anómalo relacionado com o aparecimento de tumores nos locais infectados (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Riva *et al.*, 1998; Salema, 1999). Outro grupo de genes existentes no T-DNA codifica enzimas responsáveis pela síntese de opinas (aminoácidos

modificados), que são fontes de carbono e azoto para estas bactérias (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Riva *et al.*, 1998).

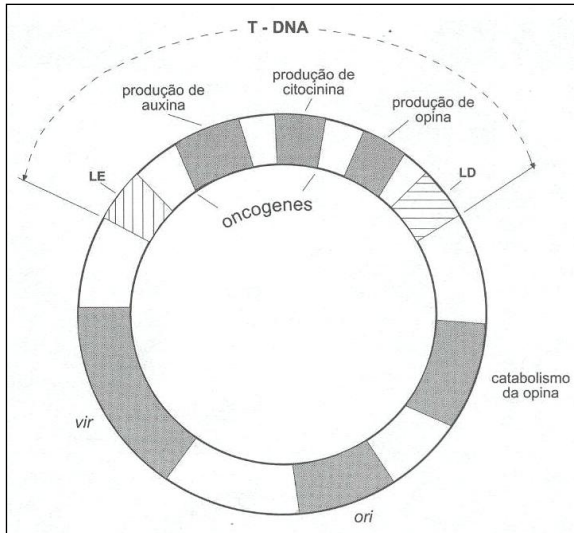


Figura 2.6 – Representação esquemática da estrutura do plasmídeo Ti de *Rhizobium radiobacter*. As regiões assinaladas correspondem: *vir* – região de virulência; T-DNA – região do plasmídeo transferida para o genoma de uma célula vegetal onde estão presentes genes para a biossíntese de auxinas, citocininas e opinas; LE e LD – limite esquerdo e direito do T-DNA; *ori* – origem de replicação que permite a multiplicação do plasmídeo na célula bacteriana (Retirada de Belo *et al.*, 2001, p.131).

A capacidade de transferência de genes de *Rhizobium radiobacter* para células vegetais pode ser explorada por alteração do T-DNA. Em geral, eliminam-se os genes oncogénicos e de síntese de opinas, substituindo-os por genes de interesse (*e.g.* genes de resistência a doenças), e para manter a eficácia da transferência do DNA, conservam-se as sequências dos limites esquerdo e direito (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Salema, 1999).

A obtenção de plantas transgênicas envolve três etapas fundamentais (Salema, 1999), começando pela criação do plasmídeo com o gene que se pretende transferir e com um gene marcador (*e.g.* de resistência a um antibiótico ou herbicida). Normalmente, os genes de resistência a antibióticos são isolados de bactérias portadoras desta característica (*e.g.* presentes no intestino), enquanto os genes de resistência ou tolerância a herbicidas têm geralmente origem em bactérias do solo que degradam estes compostos (herbicidas biodegradáveis) (Oliveira, 2000). Introduzem-se os plasmídeos numa estirpe adequada de *Rhizobium radiobacter* para se efectuar a infecção dos fragmentos de tecido vegetal (explantes) (Salema, 1999). Na segunda etapa, o período de co-cultura, cultivam-se as bactérias com os explantes para que ocorra a transferência de DNA (Oliveira, 2000; Salema, 1999). Após este período, transferem-se os explantes para um meio de cultura com dois antibióticos, um é utilizado para eliminar as bactérias e o outro permite que somente sobrevivam as células transformadas que possuem o gene de resistência a esse antibiótico (Salema, 1999). Na terceira etapa, promove-se a

regeneração de plantas (Salema, 1999), a partir das células transformadas, através das técnicas anteriormente descritas para a cultura *in vitro* e morfogénese, com regeneração e aclimatização de plantas (ver secção 2.2.2.1. Cultura de plantas *in vitro*, p.28). A Figura 2.7 representa a modificação genética de plantas.

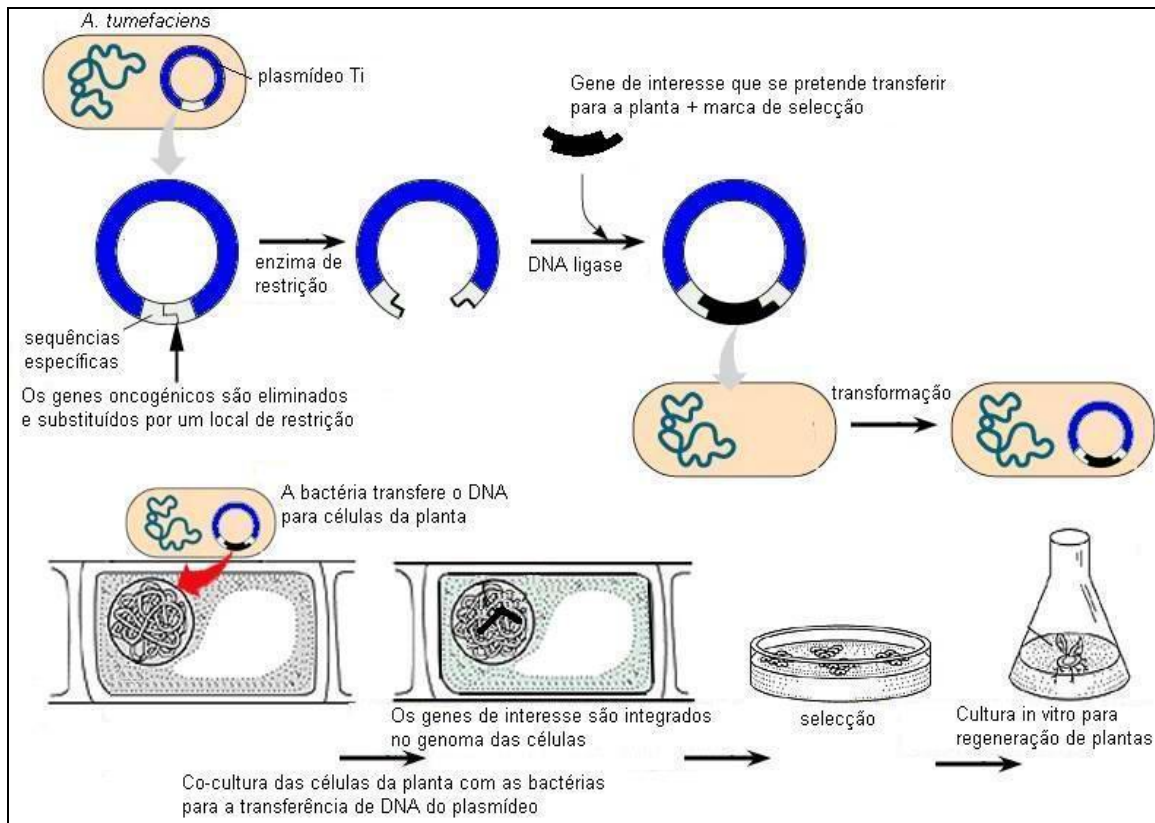


Figura 2.7 – Modificação genética de plantas.

Adaptada de: <http://home.scarlet.be/~tsk05520/biomolespa/organismo-transgenicos/OGMs/ogm-02a.jpg>

[Acedido: 06/08/2009]

Após a transformação genética, é necessário confirmar a inserção do transgene nas células vegetais, monitorizar a sua expressão nos diferentes órgãos e tecidos durante a regeneração da planta e verificar se é transmitido à descendência (Belo *et al.*, 2001). Contudo, muitos genes codificam proteínas que não são fáceis de detectar (Sá-Correia *et al.*, 2003). Por isso, quando se pretende estudar a regulação da expressão dos transgenes, recorre-se a genes repórter que, codificando proteínas cuja actividade é de fácil detecção (Sá-Correia *et al.*, 2003), permitem visualizar o seu produto de expressão (Belo *et al.*, 2001). Neste processo, o gene repórter é associado à região promotora que regula a expressão do gene de interesse (Belo *et al.*, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003). A partir da quantificação da actividade do produto do gene repórter é possível avaliar a

actividade do promotor do gene de interesse e verificar, numa fase inicial, a sua expressão (Sá-Correia *et al.*, 2003). Os genes repórter mais utilizados em plantas são o gene que codifica a enzima β -D-glucuronidase (GUS) de *Escherichia coli*, que transforma um substrato incolor num produto azul, o gene da proteína fluorescente verde (GFP) encontrada na medusa *Aequorea victoria* (Belo *et al.*, 2001), e o gene da luciferase obtido a partir do pirilampo (*Photinus pyralis*), que origina luminescência nos organismos em que é expresso (Belo *et al.*, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003).

B) Transferência directa

Dado que a transformação genética com *Rhizobium* é pouco eficiente em muitas espécies de interesse, como os cereais (monocotiledóneas) (Belo *et al.*, 2001; Canhoto; 2010; Pais, 2003; Salema, 1999), foram desenvolvidos métodos alternativos a partir dos quais foi possível realizar a transferência de DNA para plantas não hospedeiras do *Rhizobium* (Oliveira, 2000). Um dos métodos, designado biolística, utiliza um canhão de partículas para bombardear um tecido vegetal com micropartículas de ouro ou tungsténio (entre 0,4 a 1,2 μ m) revestidas com DNA (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Pais, 2003; Salema, 1999). As micropartículas disparadas contra as células atravessam a parede celular, a membrana plasmática, atingindo o citoplasma e, por um processo ainda desconhecido, o DNA que as reveste é integrado no genoma das células originando células transformadas (Belo *et al.*, 2001; Salema, 1999). A técnica de bombardeamento por partículas possibilita, com um só disparo, transferir genes para muitas células e pode utilizar-se em diferentes células (*e.g.* tecidos diferenciados, meristemas ou tecido caloso) (Pais, 2003). Permite, ainda, integrar genes no DNA de cloroplastos e mitocôndrias (Belo *et al.*, 2001).

Este sistema de transferência de genes constitui uma possível solução para a transformação genética de monocotiledóneas não infectáveis por *Rhizobium* e uma via promissora para espécies recalcitrantes à regeneração de protoplastos, como muitas plantas lenhosas (Pais, 2003). Uma vez que esta técnica não assegura a transformação da totalidade das células bombardeadas, é provável que as plantas regeneradas contenham populações mistas de células transformadas e não transformadas (Salema, 1999).

Outro método consiste na utilização de protoplastos (células vegetais desprovidas de parede celular). A transferência de DNA para protoplastos em cultura pode efectuar-se por processos químicos (*e.g.* polietileno glicol) ou físicos (*e.g.* electroporação). Por

processos químicos ou por descargas eléctricas promovem-se alterações na membrana plasmática e a formação transiente de poros, permitindo a entrada de moléculas de DNA (Pais, 2003; Pelczar *et al.*, 1996; Salema, 1999). Em seguida, procede-se ao cultivo de protoplastos em que, por regeneração da parede celular, se formam células, as quais por divisão celular formam tecido caloso (Salema, 1999). Esta técnica está limitada às espécies em que é possível regenerar plantas a partir de protoplastos (Pais, 2003).

2.2.3.4. PRÁTICAS DE ENGENHARIA GENÉTICA

As aplicações da engenharia genética a seguir apresentadas, embora não exaustivas, deixam bem claro o enorme potencial desta área. A engenharia genética tem tido desenvolvimentos em vários domínios, designadamente através da produção de proteínas com aplicação em medicina, no desenvolvimento de plantas geneticamente modificadas e na produção de novos alimentos (Moradas-Ferreira, 2001).

A) Em medicina

Entre as aplicações bem sucedidas em medicina, salienta-se a produção de proteínas com interesse no tratamento de doenças, a produção de vacinas e o desenvolvimento de técnicas moleculares de diagnóstico (Moradas-Ferreira, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003). A insulina humana produzida em *Escherichia coli* (Fevereiro, 2006; Sá-Correia *et al.*, 2003) e em *Saccharomyces cerevisiae* (Fevereiro, 2006; Moradas-Ferreira, 2001) foi comercializada e fabricada por aplicação da tecnologia do DNA recombinante. A produção desta hormona por microrganismos constituiu um passo importante, pois mostrou, de forma concreta, aspectos benéficos da engenharia genética. Antes do desenvolvimento de técnicas que permitem a clonagem do gene que codifica para a insulina humana em microrganismos (Moradas-Ferreira, 2001), esta hormona, indispensável ao tratamento da diabetes, era extraída do pâncreas de animais (Moradas-Ferreira, 2001; Pelczar *et al.*, 1996; Sá-Correia *et al.*, 2003). Esta insulina não humana tinha o inconveniente de poder provocar reacções alérgicas, além da extracção ser dispendiosa e o produto difícil de obter nas quantidades pretendidas (Sá-Correia *et al.*, 2003), uma vez que para produzir 4,5 kg de insulina eram necessários duzentos e cinquenta mil porcos e vinte e sete toneladas de pâncreas (Moradas-Ferreira, 2001).

Actualmente são comercializados e produzidos biotecnologicamente outros fármacos, como: hormona humana do crescimento (GH); interferões, como o α -interferão (agente antiviral e anti-cancerígeno) (Moradas-Ferreira, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003) e o β -interferão (tratamento da esclerose múltipla); o factor de crescimento da epiderme (para promover a cicatrização de feridas) (Sá-Correia *et al.*, 2003). Até 1985, a GH era obtida a partir de hipófises, sendo a oferta limitada, o que condicionava a prescrição médica e o tratamento de crianças com insuficiência desta hormona. Por outro lado, o perigo associado à contaminação com príões causadores da doença de Creutzfeld-Jacob determinou o cessar da utilização desta fonte de hormona, passando a ser produzida em *Escherichia coli*, em quantidades suficientes para a indústria farmacêutica (Moradas-Ferreira, 2001). Os interferões correspondem a proteínas produzidas por células de animais vertebrados, em resposta a infecções por vírus (Moradas-Ferreira, 2001; Sousa *et al.*, 1998). Os interferões conduzem a um estado de resistência antiviral, pois ao ligarem-se a receptores da superfície de células não infectadas impedem a replicação de certos vírus de RNA e DNA. O tratamento de doenças com interferões só se iniciou aquando da sua produção em larga escala através da tecnologia do DNA recombinante, por clonagem do respectivo gene em *Escherichia coli*. A produção feita em biorreactores permite, a partir de um litro de bactéria, obter o correspondente à quantidade de interferão isolado de leucócitos de cem dadores (Moradas-Ferreira, 2001).

O desenvolvimento da primeira vacina contra a hepatite B efectuou-se a partir de antigénios de superfície do VHB (AgHBs, sigla em inglês), obtidos a partir do plasma de portadores crónicos e, ao envolver a inactivação de agentes infecciosos, tornava o processo de produção complexo (Moradas-Ferreira, 2001). A possibilidade de produzir grandes quantidades de AgHBs purificados a partir de uma cultura geneticamente modificada de *Saccharomyces cerevisiae*, sem o perigo de contaminantes de origem humana, abriu novas perspectivas para a produção da vacina em larga escala, a nível industrial. A obtenção do antigénio em grandes quantidades constituiu um aspecto importante, atendendo à recomendação da Organização Mundial de Saúde, em 1992, da integração desta vacina nos programas de vacinação das populações (*Ibid.*).

Os progressos da engenharia genética possibilitaram também o desenvolvimento de importantes técnicas moleculares de diagnóstico para “identificação de agentes patogénicos; identificação de mutações no genoma e detecção de doenças de origem genética; aplicações em medicina forense” (Sá-Correia *et al.*, 2003, p.156).

B) Em agricultura e protecção ambiental

A obtenção de plantas transgénicas com características melhoradas, através da tecnologia do DNA recombinante, constitui uma área em grande expansão. No final dos anos 90 do século passado, a engenharia genética desencadeou uma nova era na agricultura, com o cultivo de plantas transgénicas, em países como os EUA, Canadá e Argentina (Belo *et al.*, 2001). Entre 1996 e 1999, uma área global de cerca de 40 milhões de hectares era ocupada por culturas geneticamente modificadas (Belo *et al.*, 2001) de soja, milho, algodão, colza, tabaco e batata (Rosa, 1999). Entre 2003 e 2005 a área mundialmente atribuída para o cultivo de plantas GM aumentou 33% relativamente ao período anterior (Heldt, 2006). Em 2005, 60% dos rebentos de soja, 14% do milho e 28% do algodão, correspondiam a plantas geneticamente modificadas (GM) (*Ibid.*). Em 2008, a nível mundial, aproximadamente 140 milhões de hectares foram cultivados com plantas GM (Canhoto, 2010).

A aplicação da engenharia genética às plantas para obtenção de variedades transgénicas tem basicamente dois tipos de objectivos, o primeiro diz respeito ao melhoramento de plantas de interesse agrícola (Belo *et al.*, 2001; Guerreiro, 2006; Oliveira, 2000; Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999) e o segundo refere-se à transformação de plantas em “fábricas moleculares e celulares” (Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999). O melhoramento de plantas pode ter como objectivo o aumento da produtividade das culturas e da qualidade das colheitas, a resistência a doenças, ou a promoção do crescimento em condições adversas de cultura (Fevereiro, 2006; Oliveira, 2000; Rosa, 1999; Salema, 1999). Estas alterações genéticas beneficiam o produtor, por melhorarem as características agronómicas das plantas, por exemplo: a) aumento da resistência a insectos (plantas *Bt*) e a herbicidas; b) resistência a doenças provocadas por fungos, bactérias e vírus; c) aumento da tolerância a condições ambientais adversas (luz solar intensa, radiações ultravioletas, salinidade, geada, temperaturas baixas ou altas, seca ou alagamento); d) alteração na maturação de frutos; e) redução da necessidade de utilização de produtos agroquímicos (pesticidas e fertilizantes) (Belo *et al.*, 2001; Fevereiro, 2006; Oliveira, 2000; Rosa, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999). Por outro lado, beneficiam o consumidor, uma vez que estão relacionadas com a maior qualidade ou valor alimentar do produto (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Sá-Correia *et al.*, 2003) pelo aumento: a) do conteúdo em vitaminas, proteínas ou minerais; b) da capacidade de conservação dos alimentos; c) dos teores de amido, açúcar ou aminoácidos essenciais (Rosa, 1999).

Estas novas aplicações incluem, por exemplo, a produção do “arroz dourado” indicativo da presença de β -caroteno (Belo *et al.*, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999), batateiras transgênicas produtoras de tubérculos com maior quantidade de amido, trigo cujo grão fornece farinha mais adequada para a panificação (Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999), tomates com amadurecimento retardado (Belo *et al.*, 2001; Canhoto, 2010; Salema, 1999), azevém com genes que conferem resistência à secura (Salema, 1999). O desenvolvimento de plantas resistentes a condições ambientais adversas, poderá beneficiar populações economicamente desfavorecidas de países com condições geoclimáticas desfavoráveis, pela possibilidade de utilização de terrenos anteriormente inadequados para a agricultura (Belo *et al.*, 2001).

As primeiras aplicações da engenharia genética em plantas, a serem comercializadas, foi em 1994, numa variedade de tomateiro (*Flavr Savr*) com amadurecimento retardado devido à inativação do gene da poligalacturonase, uma enzima responsável pelo amadurecimento dos frutos (Canhoto, 2010) e em variedades de plantas produtoras de insecticidas endógenos, com toxicidade específica para insectos (Belo *et al.*, 2001). As pragas de insectos constituem uma séria ameaça a muitas culturas, exigindo contínuas pulverizações com insecticidas, o que implica o aumento dos custos de produção, além da poluição ambiental (*Ibid.*). O desenvolvimento de plantas com capacidade de se defenderem dos ataques de alguns insectos, baseou-se na integração e expressão do gene da bactéria *Bacillus thuringiensis* (bactéria do solo utilizada como insecticida biológico), que codifica uma proteína (*Bt*-toxina) que mata larvas de insectos causadores de grandes danos às plantas (Oliveira, 2000; Pelczar *et al.*, 1996; Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999). As toxinas produzidas por subespécies de *Bacillus thuringiensis* são específicas para diferentes tipos de insectos (e.g. lepidópteros e coleópteros), o que constitui uma vantagem, uma vez que as torna efectivas contra uma determinada praga, sem provocar prejuízos sobre outros organismos do ecossistema (Belo *et al.*, 2001). Por outro lado, além de não serem tóxicas para os vertebrados (Belo *et al.*, 2001), não permanecem durante muito tempo no solo, uma vez que são biodegradáveis e sensíveis à radiação ultravioleta (Oliveira, 2000). A introdução no mercado da primeira planta *Bt* foi aprovada em 1994, numa variedade de batateira com elevada resistência ao escaravelho da batata (Belo *et al.*, 2001). Posteriormente, foram introduzidas variedades *Bt* do milho, algodão, soja e tomate (Belo *et al.*, 2001; Salema, 1999). Nos EUA, em 1999, 30% do milho e 27% do algodão correspondiam a variedades *Bt* (Belo *et al.*, 2001).

O desenvolvimento de plantas transgênicas resistentes a herbicidas possibilita ganhos na produção, uma vez que não são danificadas pelos herbicidas utilizados na destruição de plantas infestantes (Sá-Correia *et al.*, 2003), as quais têm o seu crescimento controlado ao longo da época de cultivo (Belo *et al.*, 2001). Em 1994, foi aprovada para comercialização a primeira planta transgênica resistente a herbicidas, a soja resistente ao glifosato (Belo *et al.*, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003). Desde então, foram introduzidas no mercado várias plantas resistentes a herbicidas, como milho, algodão, beterraba sacarina e colza (Belo *et al.*, 2001). O glifosato é um herbicida bastante eficiente com baixa dosagem e actua contra um largo espectro de plantas infestantes, além de ser considerado seguro para o ambiente, uma vez que é rapidamente degradado por microrganismos do solo (*Ibid.*).

O melhoramento nutricional de produtos alimentares, como é o caso de variedades de arroz com níveis elevados de pró-vitamina A (β -caroteno) e ferro, constitui um exemplo de como a engenharia genética pode contribuir para melhorar a saúde de populações em regiões de extrema pobreza, ao prevenir milhões de casos de cegueira (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Rosa, 1999). No Sudeste Asiático, o arroz é o principal alimento, pelo que a população apresenta elevada deficiência em vitamina A e ferro, com consequências graves, sobretudo para as crianças, ao provocar, além de cegueira, elevada mortalidade infantil devido a complicações resultantes destas carências (Belo *et al.*, 2001). Este é apenas um exemplo de como o potencial da engenharia genética aplicado às plantas ultrapassa as características agronómicas e nutricionais, repercutindo-se em outras áreas, como a saúde (Rosa, 1999).

A possibilidade de expressar genes com diferentes proveniências (Belo *et al.*, 2001) transforma as plantas transgênicas em “fábricas moleculares e celulares” (Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999), capazes de produzir compostos com aplicação terapêutica e industrial alternativa aos sistemas convencionais que recorrem a microrganismos (bactérias e fungos) (Belo *et al.*, 2001). Entre as aplicações com plantas transgênicas salienta-se a produção de: a) enzimas com utilização na indústria alimentar por melhorarem a digestibilidade dos alimentos (*e.g.* amilases, glucanases e xilanases) (Belo *et al.*, 2001); b) proteínas com finalidades terapêuticas, como a albumina, eritropoietina (Belo *et al.*, 2001) e o interferão (Belo *et al.*, 2001; Sá-Correia *et al.*, 2003); c) plásticos biodegradáveis (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999); d) vacinas orais administradas através de alimentos (Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Rosa, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003; Salema, 1999). Como exemplos, podem referir-se: bananeiras e tomateiros que expressam nos frutos proteínas de vírus com capacidade

para desencadear resposta imunológica, funcionando como vacinas (Salema, 1999); batateiras e plantas de tabaco com genes para a expressão do antígeno da cólera (Belo *et al.*, 2001); *Arabidopsis thaliana* com genes para a produção de plásticos biodegradáveis (Salema, 1999).

O desenvolvimento e utilização de microrganismos geneticamente modificados apresentam enorme potencial na biorremediação de ambientes degradados (Sá-Correia *et al.*, 2003). Este processo “baseia-se no uso de microrganismos, indígenas ou introduzidos em meios contaminados, capazes de transformar o poluente em produtos menos perigosos para o ambiente” (Reis *et al.*, 2003, p.285), por exemplo, a eliminação de derrames de petróleo e de compostos tóxicos de difícil biodegradação (Sá-Correia *et al.*, 2003).

2.2.3.5. ASPECTOS SOCIAIS, ÉTICOS E DE SEGURANÇA

Nos últimos anos as aplicações da engenharia genética na saúde, agricultura e no ambiente são notáveis e, simultaneamente, inquietantes (Sá-Correia *et al.*, 2003). Como habitualmente acontece, os avanços da ciência levantam dúvidas e geram controvérsias, quanto aos potenciais riscos, sobretudo quando os benefícios que proporcionam não são facilmente perceptíveis (Rosa, 1999). A situação agrava-se quando se trata de uma área muito específica, cujas questões científicas e técnicas subjacentes são complexas e, por isso, nem sempre ao alcance da população em geral (Rosa, 1999; Sá-Correia *et al.*, 2003). Os principais riscos estão relacionados com a libertação de OGMs (organismos geneticamente modificados) no ambiente, sendo as plantas transgênicas as que geram mais controvérsia, não só pelos receios de que o seu cultivo venha a perturbar o equilíbrio dos ecossistemas (Sá-Correia *et al.*, 2003), mas por envolver uma área tão sensível como a alimentação (Rosa, 1999). Os riscos associados à utilização de OGMs devem ser analisados, pelo que a inocuidade para a saúde e o ambiente devem ser cuidadosamente avaliados (Belo *et al.*, 2001). No entanto, é importante que a sociedade seja esclarecida e informada (Rosa, 1999) para compreender o potencial impacto destes desenvolvimentos, dos quais se perspectivam melhorias da qualidade de vida (Sá-Correia *et al.*, 2003).

2.2.4. MICROBIOLOGIA E INDÚSTRIAS

2.2.4.1. NUTRIÇÃO E CRESCIMENTO DE MICRORGANISMOS

Os microrganismos são ubíquos, isto é, podem encontrar-se em todos os locais onde seja possível a existência de vida (Oliveira & Pampulha, 2000; Sinogas *et al.*, 2003), desde solo, ar, água, alimentos, entre outros (Sinogas *et al.*, 2003). Os microrganismos são, de todos os organismos vivos, os mais versáteis e diversificados em relação a exigências nutritivas (Pampulha, 1998). Tal como se referiu para as plantas, nem todos os nutrientes são necessários nas mesmas concentrações. Os macronutrientes (*e.g.* carbono, oxigénio, azoto, hidrogénio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, sódio e cálcio) desempenham funções na estrutura e no metabolismo celular e são necessários em maiores concentrações. Em contrapartida, os micronutrientes (*e.g.* manganésio, cobalto, cobre, molibdénio e zinco) são requeridos em menores concentrações e funcionam como co-factores enzimáticos (Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998).

A partir do conhecimento das necessidades nutricionais dos microrganismos foi possível elaborar meios de cultura que promovam o seu crescimento em laboratório (Pampulha, 1998). Os meios de cultura podem ser classificados através de três parâmetros: estado físico, composição química e objectivos funcionais (Tabela 2.3) (*Ibid.*).

Tabela 2.3 – Classificação dos meios de cultura.

Estado físico	Composição química	Objectivos funcionais
Líquido Sólido Semi-gelificado	Quimicamente definido Quimicamente complexo	Simple Selectivos Diferenciais Enriquecidos

(Adaptada de Pampulha, 1998, p.83)

Na preparação de meios sólidos um agente solidificante é adicionado ao meio de cultura, normalmente o agar, um polissacarídeo complexo extraído de algas vermelhas (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003). O agar apresenta propriedades que o transformam no agente solidificante ideal porque: a) funde-se à temperatura de 100°C, onde forma uma solução transparente, permanecendo no estado líquido até que a temperatura baixe para 40-42°C (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003); b) permite que os microrganismos sejam adicionados ao meio de cultura contendo agar liquefeito, antes de solidificar em placas de Petri, uma vez que, em

geral, toleram temperaturas de 45°C (Pelczar *et al.*, 1996); c) não é biodegradado por microrganismos pelo que não perde o seu poder solidificante (Pampulha, 1998).

Na preparação de meios sólidos utiliza-se uma concentração de agar de 1,5%, enquanto os meios semi-gelificados apresentam uma concentração entre 0,3 a 0,5% (Pampulha, 1998; Sinogas *et al.*, 2003), conferindo ao meio uma consistência pouco firme, adequada, por exemplo, à mobilidade de microrganismos móveis (Pampulha, 1998). Os meios de cultura devem ser esterilizados após a sua preparação para eliminar quaisquer organismos vivos contaminantes. Recorre-se a uma série de procedimentos, designados por técnicas de assepsia, para evitar a ocorrência de contaminações durante a manipulação de culturas e meios de cultura estéreis (Madigan, 2004; Pampulha, 1998). Apesar do crescimento em meio líquido ser mais rápido e homogéneo (Margaça *et al.*, 2004), os meios sólidos têm a vantagem de formar uma superfície adequada ao isolamento de colónias (Margaça *et al.*, 2004; Sinogas *et al.*, 2003). Cada colónia provém da multiplicação de uma única célula e resulta do crescimento, macroscopicamente visível, de uma única estirpe microbiana. Uma colónia bem definida e totalmente individualizada constitui uma cultura pura (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003).

Um meio de cultura diz-se quimicamente definido quando se conhece a composição química exacta (Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003), sendo formado pela adição de quantidades precisas de compostos químicos inorgânicos ou orgânicos purificados (Madigan *et al.*, 2004). Nos meios de cultura quimicamente complexos a composição química não é conhecida, ou seja, são quimicamente indefinidos (Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003). Os meios complexos incluem, por exemplo, extracto de carne, peptonas (proteínas parcialmente hidrolisadas por proteases), extracto de levedura, sangue, leite e extracto de solo. Todos estes componentes são misturas complexas de substâncias químicas cuja composição exacta em açúcares, aminoácidos, vitaminas e sais minerais não é conhecida (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003). Por permitirem o crescimento de uma gama alargada de microrganismos, incluindo os de necessidades nutricionais não totalmente conhecidas, os meios complexos são habitualmente usados nos laboratórios (Pampulha, 1998). Estes meios são também utilizados para a cultura de, por exemplo, bactérias fastidiosas, isto é, que requerem maiores exigências nutritivas (Pelczar *et al.*, 1996).

De um modo geral, em microbiologia estudam-se populações microbianas (Pampulha, 1998) para isolar, enumerar e identificar os microrganismos existentes numa

amostra (Pelczar *et al.*, 1996). Numa cultura pura, todas as células são idênticas, uma vez têm origem numa mesma célula parental (Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003), tendo apenas um tipo de microrganismo (Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998). Na natureza, os microrganismos normalmente existem em culturas mistas, isto é, com muitas espécies diferentes ocupando o mesmo ambiente (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996).

Em microbiologia a cultura e o isolamento de microrganismos são dois processos fundamentais: a cultura permite o crescimento de populações microbianas em laboratório, após a inoculação no meio de cultura; o isolamento diz respeito à separação de um determinado microrganismo de uma população mista (Pampulha, 1998). O isolamento de uma estirpe microbiana em cultura pura pode ser efectuado a partir de três métodos (Figura 2.8) (Madigan *et al.*, 2004; Margaça *et al.*, 2004; Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003): a) método de estrias por esgotamento do inóculo; b) método por espalhamento; c) método por incorporação. Independentemente do método utilizado, devem efectuar-se subculturas para certificação da pureza das colónias isoladas (Pampulha, 1998).

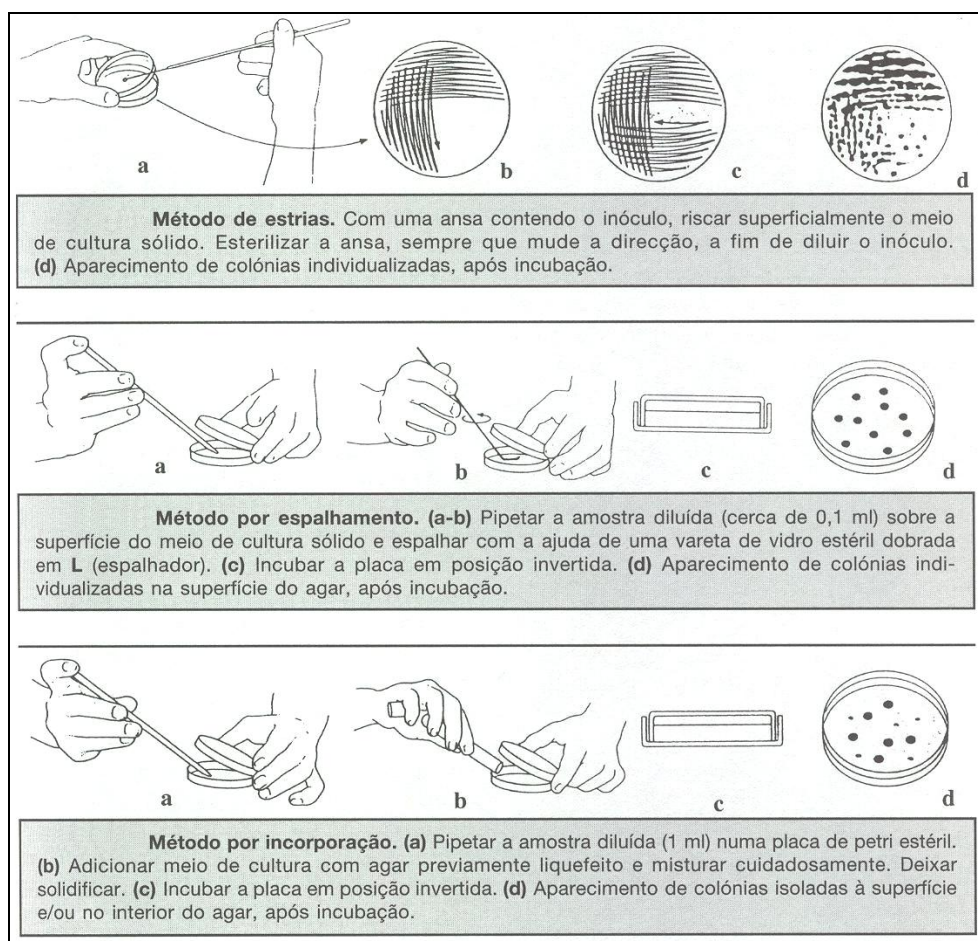


Figura 2.8 – Métodos de isolamento de culturas puras (Retirada de Pampulha, 1998, p.87).

Quando se pretende isolar, identificar ou contar microrganismos pode ser vantajoso utilizar meios especiais (Pelczar *et al.*, 1996). Para isolar uma estirpe microbiana em cultura pura a partir de uma cultura mista, podem utilizar-se meios de cultura selectivos e/ou diferenciais (Pampulha, 1998). Os meios selectivos permitem o crescimento de um determinado tipo de microrganismo e impedem o crescimento de outros que não interessam (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003). Por exemplo, os sais biliares são agentes que inibem o crescimento da maioria das bactérias gram-positivas e permitem o crescimento de bactérias gram-negativas (Pampulha, 1998). Actualmente, adicionam-se antibióticos que tornam o meio de cultura selectivo para microrganismos que são resistentes a estes agentes antimicrobianos (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Sinogas *et al.*, 2003). Os meios diferenciais são utilizados quando se pretende diferenciar diversos tipos de microrganismos numa placa de Petri (Pelczar *et al.*, 1996). Embora permitam o crescimento de vários tipos de microrganismos, devido ao aspecto diferente que apresentam (*e.g.* cor da colónia, cor do meio de cultura), podem distinguir-se entre si (Pampulha, 1998; Sinogas *et al.*, 2003). Os meios enriquecidos utilizam-se quando a espécie de interesse se apresenta em número reduzido (Pelczar *et al.*, 1996) e favorecem o crescimento do microrganismo desejado, em detrimento de outras espécies microbianas presentes numa população mista (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996). São constituídos por factores de crescimento, como vitaminas, aminoácidos ou componentes do sangue (Sinogas *et al.*, 2003), sendo muito nutritivos e, por isso, utilizados para o crescimento de microrganismos mais exigentes (Pampulha, 1998; Sinogas *et al.*, 2003).

Ao inocular-se uma população microbiana, em sistema fechado ou *batch* (cultura em descontínuo) (Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996; Madigan *et al.*, 2004), no interior de um frasco com meio de cultura líquido, contendo os nutrientes necessários, e em condições físicas e químicas favoráveis, pode acompanhar-se o seu crescimento ao longo do tempo (Pampulha, 1998). A curva de crescimento característica de populações microbianas em sistema fechado (Figura 2.9) permite identificar, em geral, quatro fases distintas: *fase de latência (lag)*, *fase exponencial* ou *logarítmica (log)*, *fase estacionária* e *fase de morte* ou *declínio* (Ferreira & Teixeira, 2003; Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996). Quando uma população microbiana é inoculada num novo meio de cultura verifica-se um período de ajuste (Pampulha, 1998), não se iniciando de imediato o crescimento (Madigan *et al.*, 2004). Este período inicial, que pode ser mais ou menos longo, dependendo do microrganismo inoculado e das condições de cultura, corresponde à *fase lag* (Madigan *et al.*, 2004). Nesta fase, apesar das células

microbianas não estarem a dividir-se, não havendo crescimento em termos do aumento do número de células, são metabolicamente activas produzindo enzimas para se adaptarem ao novo meio (Pelczar *et al.*, 1996). A *fase exponencial* corresponde ao período de crescimento rápido (Pelczar *et al.*, 1996), como consequência das sucessivas divisões celulares da população microbiana (Madigan *et al.*, 2004). Após um certo tempo, ocorre a *fase estacionária*, em que a população máxima ao ser atingida leva ao esgotamento de nutrientes do meio de cultura e à acumulação de produtos de excreção, que atingindo uma determinada concentração, levam à interrupção do crescimento exponencial, deixando alguns microrganismos de se dividir (Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998; Pelczar *et al.*, 1996). Eventualmente, para algumas células microbianas, verifica-se a inibição da reprodução e começam a morrer, enquanto outras crescem e dividem-se (Pelczar *et al.*, 1996). A *fase de morte* corresponde ao declínio da população microbiana por perda da capacidade de divisão celular, ocorrendo a autólise das células (Madigan *et al.*, 2004; Pampulha, 1998).

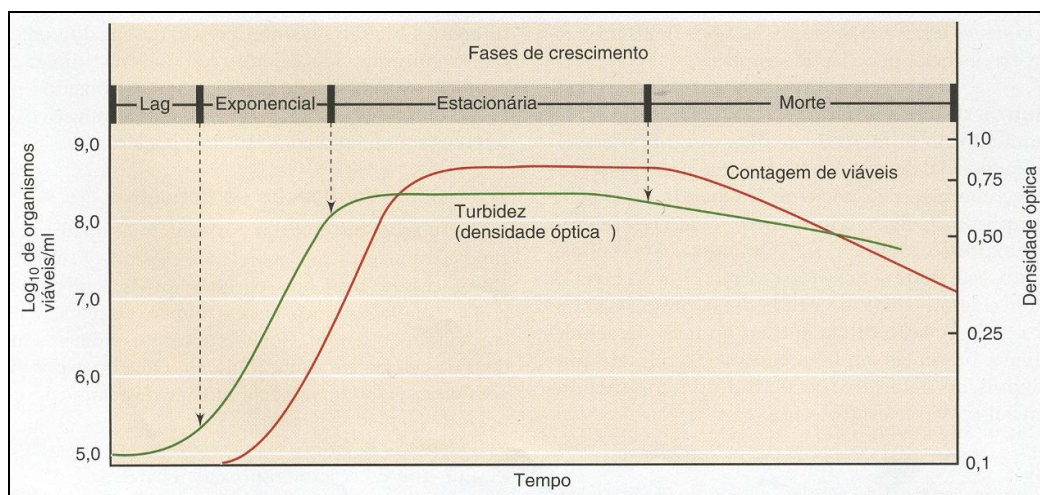


Figura 2.9 – Curva de crescimento típica de uma população microbiana em sistema fechado (Retirada de Madigan *et al.*, 2004, p.134).

Os compostos químicos sintetizados pelos seres vivos necessários ao crescimento são referidos por metabolitos primários (e.g. biossíntese de macromoléculas e vias metabólicas energéticas) (Côrte-Real *et al.*, 2003). Podem distinguir-se dois tipos de produtos microbianos: metabolitos primários e secundários (Côrte-Real *et al.*, 2003; Ferreira & Teixeira, 2003; Madigan *et al.*, 2004; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003) (Figura 2.10).

Os metabolitos primários são produzidos durante a fase exponencial de crescimento e os secundários são produzidos durante a fase estacionária (Côrte-Real *et al.*, 2003;

Madigan *et al.*, 2004; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). Os metabolitos primários (e.g. etanol, ácido láctico e biomassa) (Côrte-Real *et al.*, 2003; Ferreira & Teixeira, 2003) são geralmente obtidos com grandes rendimentos, apresentando baixo valor comercial (Ferreira & Teixeira, 2003). No que diz respeito aos metabolitos secundários (e.g. antibióticos, vitaminas), a sua produção verifica-se após o metabolismo primário, não estando associada ao crescimento, pelo que os produtos apresentam geralmente alto valor comercial devido ao baixo rendimento da fase estacionária (Ferreira & Teixeira, 2003).

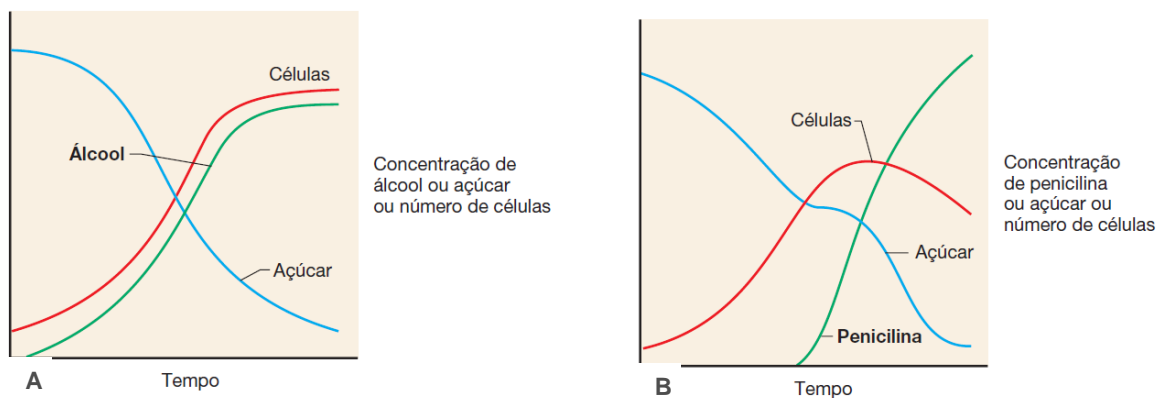


Figura 2.10 – Formação de metabolitos primários e secundários. (A) Formação de álcool por leveduras – um exemplo de metabolito primário (associado ao crescimento). (B) Produção de penicilina pelo fungo filamentoso *Penicillium chrysogenum* – um exemplo de metabolito secundário (não associado ao crescimento). Retirada de Madigan *et al.*, 2004, volume electrónico, parte VI - capítulo 30.

2.2.4.2. PRODUTOS DE MICROBIOLOGIA INDUSTRIAL

Nos últimos anos, tem-se verificado um acentuado progresso em biotecnologia, pelo desenvolvimento de processos, a nível industrial, que recorrem a microrganismos (Ferreira & Teixeira, 2003). Actualmente, os processos biotecnológicos têm grande aplicação nos sectores alimentar, farmacêutico, energético e ambiental, sendo produzidos diversos produtos com interesse comercial (*Ibid.*). No final do século XX, a tecnologia do DNA recombinante proporcionou um grande salto qualitativo no desenvolvimento da biotecnologia microbiana (Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003), pois os métodos de manipulação genética permitiram obter novos produtos microbianos, muitos dos quais não são naturalmente produzidos por microrganismos (Madigan *et al.*, 2004).

Os microrganismos ou produtos resultantes da actividade microbiana estão na base da indústria biotecnológica (Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). Em geral, a microbiologia industrial cultiva microrganismos em larga escala (Madigan *et al.*, 2004), através de processos designados *lato sensu*, por fermentações (Madigan *et al.*, 2004; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003), independentemente de corresponderem, ou não, a processos fermentativos (Madigan *et al.*, 2004). Os microrganismos têm um lugar de destaque na biotecnologia moderna, não só pela diversidade metabólica e nutricional que apresentam, mas também pela capacidade de se reproduzirem rapidamente e de produzirem compostos de grande valor (Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). Os produtos microbianos podem ser de várias naturezas, podendo corresponder às próprias células ou a compostos por elas produzidos (Madigan *et al.*, 2004). A utilização de microrganismos na indústria pode ter como objectivos a produção da própria biomassa (e.g. leveduras para a panificação ou bactérias para a produção de lacticínios) e de metabolitos (e.g. enzimas, etanol, ácido cítrico, vitaminas ou antibióticos), a despoluição biológica em processos de tratamento de efluentes (e.g. degradação de matéria orgânica) (Ferreira & Teixeira, 2003; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003), ou a produção de energia (e.g. biogás e etanol) (Ferreira & Teixeira, 2003). Os microrganismos mais importantes, a nível industrial, agrupam-se em: fungos (leveduras e bolores) e bactérias (Madigan *et al.*, 2004; Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). Em relação aos fungos, destacam-se as leveduras, como a *Saccharomyces cerevisiae*, e fungos filamentosos, como o *Aspergillus* (Spencer-Martins & Sá-Nogueira, 2003). Entre as bactérias, salienta-se a *Escherichia coli* como gram-negativa e incluem-se também bactérias gram-positivas filamentosas, como os *Actinomyces* (particularmente os pertencentes ao género *Streptomyces*) e, não filamentosas, como os *Bacillus* (*Ibid.*).

Em seguida, apresentam-se produtos de microbiologia industrial que enquadram as actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas com bactérias do solo, enzimas microbianas e leveduras.

A) Microrganismos do solo e produção de antibióticos⁴

Os microrganismos do solo caracterizam-se pela abundância e diversidade, incluindo bactérias, fungos, protozoários e algas (Tabela 2.4) (Oliveira, 1998). As bactérias são especialmente importantes pelo seu elevado número e diversidade

⁴ Algumas partes da revisão de literatura efectuada sobre microrganismos do solo e produção de antibióticos foram utilizadas na elaboração do contexto problemático intitulado "Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos", a partir do qual um grupo de trabalho que frequentou a OF desenvolveu um percurso investigativo.

metabólica, sendo as que vivem no solo, maioritariamente heterotróficas (*Ibid.*). A maior parte dos microrganismos produtores de antibióticos dividem-se em três grupos: 1) fungos filamentosos, especialmente do género *Penicillium* (e.g. *Penicillium chrysogenum*); 2) bactérias do género *Bacillus* (e.g. *Bacillus licheniformis*); 3) bactérias *Actinomycetes* do género *Streptomyces* (e.g. *Streptomyces griseus*) (Alcântara *et al.*, 2001; Casal *et al.*, 2004a).

Tabela 2.4 – Biomassa e números aproximados de organismos de um solo fértil.

Organismos	Números/g	Biomassa (Kg/ha)
Bactérias	10^8 - 10^9	300-3000
Actinomicetas	10^7 - 10^8	300-3000
Fungos	10^5 - 10^6	500-5000
Microalgas	10^3 - 10^6	10-1500
Protozoários	10^3 - 10^5	5-200

(Retirada de Oliveira, 1998, p.271)

Os *Actinomycetes* são bactérias gram-positivas com estrutura filamentosa (Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004; Oliveira, 1998) que formam filamentos ramificados e podem desenvolver micélio superficial e submerso, com hifas de 0,5 a 2,0 μ m de diâmetro (Casal *et al.*, 2004a). Inicialmente, devido à sua semelhança com fungos – muitas apresentam a formação de cadeias de esporos aéreos, designados conídios (Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996) – foram classificadas como fungos (Casal *et al.*, 2004a), sendo, ao contrário destes, organismos procarióticos. Estas bactérias são aeróbias, heterotróficas e apresentam intervalos de temperatura e de pH de crescimento óptimos, respectivamente, 25^o-30^oC e 6,5-8,0 (Casal *et al.*, 2004a). As colónias de *Actinomycetes*, particularmente do género *Streptomyces*, são pequenas (1 a 10 mm de diâmetro), apresentam inicialmente um aspecto relativamente macio e sem brilho, e após desenvolverem o micélio aéreo manifestam um aspecto bastante denso, granuloso (Casal *et al.*, 2004a), compacto e pulverulento (Madigan *et al.*, 2004). Atendendo a que produzem grande variedade de compostos pigmentados, as colónias, assim como o meio de crescimento, podem apresentar diferentes cores (Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004). A maioria destas bactérias produz enzimas hidrolíticas extracelulares que desempenham papel biológico relevante na decomposição de substratos resistentes, como polissacarídeos (e.g. amido, celulose, quitina), proteínas, lípidos e polímeros complexos de difícil degradação (e.g. lenhina) (Madigan *et al.*, 2004; Oliveira, 1998).

A maioria dos antibióticos produzidos por microrganismos habitantes do solo pertence aos *Actinomycetes* (D’Costa *et al.*, 2006; Madigan *et al.*, 2004). Em relação aos

Actinomycetes, o género *Streptomyces* é o que tem maior interesse comercial, uma vez que mais de 70% dos antibióticos processados industrialmente são produzidos por representantes deste género (Casal *et al.*, 2004a) (Tabela 2.5).

Alguns estudos mostraram que 50% dos *Streptomyces* isolados eram produtores de antibióticos, podendo alguns microrganismos produzir mais que um antibiótico e, frequentemente, não relacionados quimicamente (Madigan *et al.*, 2004). Embora os *Streptomyces* possam ser encontrados em habitats aquáticos (Madigan *et al.*, 2004), como em lamas do fundo de rios ou lagos (Casal *et al.*, 2004a), predominam em solos de habitats terrestres (Madigan *et al.*, 2004). O odor característico da terra deve-se à produção de metabolitos por *Streptomyces*, designados por geosminas. Os solos alcalinos e neutros bem drenados (e.g. solos calcários arenosos ou solos que recobrem rochas calcárias) são mais favoráveis ao desenvolvimento de *Streptomyces* do que os solos ácidos (Madigan *et al.*, 2004).

Tabela 2.5 – Antibióticos de interesse comercial e respectivos microrganismos produtores.

Antibióticos	Microrganismo produtor
Bacitracina	<i>Bacillus licheniformis</i>
Cefalosporina	<i>Cephalosporium</i> sp.
Cloranfenicol	<i>Streptomyces venezuelae</i>
Cicloserina	<i>Streptomyces orchidaceus</i>
Eritromicina	<i>Streptomyces erythreus</i>
Griseofulvina	<i>Penicillium griseofulvin</i>
Canamicina	<i>Streptomyces kanamyceticus</i>
Lincomicina	<i>Streptomyces lincolnensis</i>
Neomicina	<i>Streptomyces fradiae</i>
Nistatina	<i>Streptomyces noursei</i>
Penicilina	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Estreptomicina	<i>Streptomyces griseus</i>
Tetraciclina	<i>Streptomyces rimosus</i>

(Adaptada de Madigan *et al.*, 2004, volume electrónico, parte VI - capítulo 30)

O isolamento de *Actinomycetes* do solo, designadamente do género *Streptomyces*, é um processo relativamente simples, efectuando-se a partir de uma suspensão de solo diluída em água esterilizada e inoculada por espalhamento em meio sólido selectivo, sendo as placas de Petri incubadas a 25°C (Figura 2.11) (Barnard, 1994; Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004). Os meios selectivos para *Streptomyces* são constituídos por sais inorgânicos, aos quais se adiciona amido (fonte de carbono) e caseína ou nitrato

de potássio (fonte de azoto). Após a incubação durante cinco a sete dias são visíveis colónias características de *Streptomyces* (Madigan *et al.*, 2004).

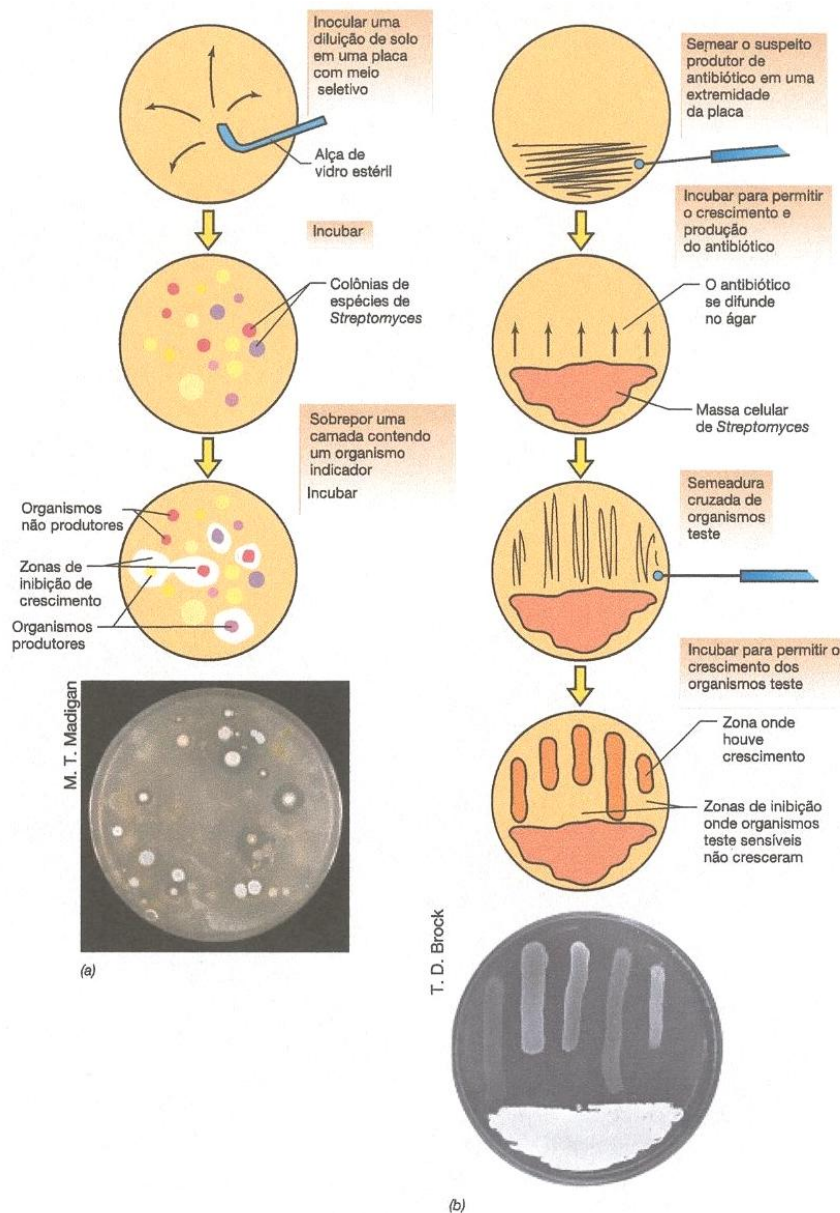


Figura 2.11 – Isolamento de microrganismos produtores de antibióticos. **(A)** Isolamento por inoculação do solo em meio selectivo para *Streptomyces* e identificação de produtores de antibióticos, através da técnica de sobrecamada com um organismo indicador (*Staphylococcus aureus*). Existem colónias produtoras de antibióticos, conforme ilustrado, pela formação de zonas de inibição do crescimento do organismo indicador, em redor de algumas delas. **(B)** Avaliação do espectro de acção do antibiótico produzido. Após inoculação do microorganismo produtor (*Streptomyces*) numa das extremidades da placa, são inoculados organismos-teste perpendicularmente a este. A incapacidade de vários organismos-teste crescerem próximo de *Streptomyces* indica que foi produzido um antibiótico com acção sobre essas bactérias (Retirada de Madigan *et al.*, 2004, volume electrónico, parte VI - capítulo 30).

A procura de novos antibióticos é um processo contínuo porque várias doenças infecciosas ainda não estão adequadamente controladas pelos antibióticos existentes e, por outro lado, o desenvolvimento de resistência por bactérias patogénicas requer a descoberta de outros produtos (Madigan *et al.*, 2004). Esta procura representa um bom exemplo da importância de aplicar técnicas de isolamento e rastreio de estirpes provenientes do ambiente para seleccionar microrganismos para a indústria farmacêutica (Casal *et al.*, 2004a).

B) Enzimas microbianas e indústria alimentar

As enzimas são macromoléculas de natureza proteica que actuam nas células como catalisadores biológicos de reacções químicas (Madigan *et al.*, 2004; Marques, 2004). Os catalisadores diminuem a energia de activação de uma reacção, aumentando a sua velocidade (Madigan *et al.*, 2004). A actividade enzimática depende da taxa ou velocidade a que os produtos de reacção se formam (Marques, 2004), variando em função da concentração de enzima e do substrato, da temperatura e do pH (Faia & Castro, 1998; Marques, 2004). Em abundância de substrato a velocidade da reacção é directamente proporcional à concentração de enzima, desde que a catálise enzimática não seja perturbada, devido a alterações de pH e temperatura ou à inibição da enzima (Marques, 2004).

A velocidade de uma reacção enzimática em função da concentração de substrato traduz-se pela equação de Michaelis-Menten⁵ (Faia & Castro, 1998). A velocidade inicial da reacção é proporcional à concentração de substrato até ser atingido um valor máximo, a partir do qual estabiliza. Esta estabilização verifica-se quando todas as moléculas enzimáticas estiverem com os seus centros activos saturados com moléculas de substrato (*Ibid.*). O aumento de temperatura acima de um determinado valor (temperatura óptima) afecta a estrutura tridimensional das enzimas (desnaturação), uma vez que as ligações intramoleculares são quebradas, levando, geralmente, a modificações irreversíveis e, conseqüentemente, a perda de actividade catalítica (Faia & Castro, 1998; Macedo *et al.*, 2003; Marques, 2004). Cada enzima manifesta a sua actividade máxima

⁵

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

v – velocidade da reacção
 V_{\max} – Velocidade máxima da reacção
 $[S]$ – concentração de substrato
 K_m – constante de Michaelis-Menten (a concentração de substrato correspondente a metade da velocidade máxima)

(Adaptada de Faia & Castro, 1998, p.102)

num determinado valor de pH, designado pH óptimo (Macedo *et al.*, 2003; Marques, 2004). Quando o pH se altera verifica-se a diminuição da actividade enzimática (Macedo *et al.*, 2003; Marques, 2004), porque o substrato e o centro activo da enzima têm grupos ionizáveis em que o estado de ionização depende do pH do meio onde ocorre a reacção (Marques, 2004).

Desde a antiguidade que os alimentos têm sido transformados por processos biotecnológicos, com o objectivo de melhorar a sua qualidade e prolongar a sua duração (Macedo *et al.*, 2003). Nesta secção, descrevem-se de forma sucinta, alguns exemplos de transformações por catálise enzimática, realizadas com enzimas produzidas por organismos vivos (*e.g.* plantas, animais e microrganismos).

Muitos fungos e bactérias produzem enzimas industrialmente úteis (*e.g.* amilases, invertase, proteases, pectinases) (Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996). Destacam-se, particularmente, na indústria alimentar, a acção de enzimas produzidas por microrganismos. Os microrganismos nas suas diversas actividades metabólicas utilizam nutrientes a partir do meio circundante, sendo as transformações bioquímicas que se verificam no interior e exterior da célula efectuadas pela acção de enzimas. Qualquer microrganismo necessita de energia para crescer, alguns utilizam a energia luminosa, enquanto outros utilizam moléculas orgânicas ou inorgânicas como fontes de energia. Assim, os microrganismos produzem enzimas extracelulares (exoenzimas) com propriedades hidrolíticas que actuam sobre diversas moléculas orgânicas, como proteínas, hidratos de carbono e lípidos, sendo os produtos de digestão transportados para o interior das células para serem utilizados como nutrientes (Madigan *et al.*, 2004; Oliveira & Pampulha, 2000).

Diversas enzimas de origem microbiana são utilizadas na produção de sumos de fruta, sendo provavelmente as pectinases as mais importantes (Waites *et al.*, 2001). As pectinases são enzimas hidrolíticas produzidas e comercializadas, quase sempre, a partir de microrganismos (*e.g.* *Aspergillus niger*) (Macedo *et al.*, 2003; Waites *et al.*, 2001). A pectina é um polissacarídeo complexo constituído por cadeias de centenas de resíduos de ácido galacturónico, estando presente na matriz da parede celular das células vegetais e como principal constituinte da lamela mediana (Madden, 2000). A pectina aumenta a viscosidade do sumo, causando dificuldades na filtração e clarificação, com consequências, respectivamente, na quantidade e qualidade do sumo produzido (Waites *et al.*, 2001). Na área dos alimentos, onde a pesquisa sobre enzimas se concentra em questões relacionadas com a qualidade e a eficiência na produção, têm sido desenvolvidas diversas pectinases para ajudar os produtores de sumo de maçã a

obterem maior quantidade de sumo, num intervalo de tempo mais curto. As pectinases, além de removerem pectinas, também actuam na clarificação de sumos. Outra aplicação destas enzimas ocorre no fabrico de vinho, uma vez que a adição de pectinases às uvas esmagadas contribui para aumentar a produção de sumo, a extracção de corantes da casca das uvas e a clarificação do vinho (Macedo *et al.*, 2003). As pectinases também podem ser utilizadas para efectuar o *peeling* enzimático de citrinos (Madden, 2000; Waites *et al.*, 2001) e para remover a pele fina de frutos com caroço, como pêssegos, damascos e nectarinas (Madden, 2000).

A lactase (β -galactosidade) é uma enzima utilizada em diversos processos industriais que requerem o desdobramento da lactose do leite nos seus monossacarídeos constituintes, galactose e glicose (Macedo *et al.*, 2003; Waites *et al.*, 2001). Este processo é particularmente importante para intolerantes à lactose do leite. A hidrólise da lactose é também utilizada no fabrico de gelados para aumentar a sua suavidade, uma vez que a fraca solubilidade deste dissacarídeo pode levar à formação de cristais que originam uma textura granulosa nos gelados (Waites *et al.*, 2001). A lactase, normalmente usada na indústria, tem origem microbiana (*e.g.* *Aspergillus niger*) e pode ser adicionada directamente ao leite, contudo o seu custo elevado tem conduzido à sua utilização na forma imobilizada (Macedo *et al.*, 2003; Waites *et al.*, 2001).

O peróxido de hidrogénio pode ser utilizado na conservação do leite, por exemplo, quando a refrigeração não é possível ou não existe equipamento para o processo de pasteurização (Macedo *et al.*, 2003). No entanto, após o tratamento, o peróxido de hidrogénio misturado com o leite tem de ser removido, sendo este processo efectuado através da adição da enzima catalase (*Ibid.*). A catalase é também utilizada na indústria têxtil para remover o peróxido de hidrogénio residual utilizado no branqueamento de tecidos (Soares, 2000; Waites *et al.*, 2001) e no tratamento de embalagens para prevenir a oxidação dos alimentos. A Tabela 2.6 apresenta algumas aplicações de enzimas de origem microbiana na indústria alimentar, têxtil e no sector dos detergentes.

Quando uma enzima é utilizada continuamente em larga escala pode ser vantajoso imobilizá-la, por exemplo, pela inclusão desta no interior de esferas cujo invólucro é constituído por um polímero geliforme e semipermeável (Madigan *et al.*, 2004). Assim, quando a solução de substrato atravessa as esferas, a enzima imobilizada catalisa a transformação do substrato em produtos de reacção (Pelczar *et al.*, 1996). A tecnologia da enzima imobilizada apresenta as seguintes vantagens: a) a enzima pode ser continuamente reutilizada; b) os produtos de reacção são mais facilmente recuperados e

purificados, uma vez que não contêm a enzima (Pelczar *et al.*, 1996); c) confere maior estabilidade da enzima à desnaturação (Madigan *et al.*, 2004).

Tabela 2.6 – Enzimas de origem microbiana e suas aplicações na indústria.

Enzima	Fonte	Aplicação	Indústria
Amilase	Fungos Bactérias	Fabrico de pão e xaropes; remoção de nódoas de tecidos	Alimentar Detergentes
Protease	Bactérias Fungos	Tenderização da carne; tratamento do couro e confere melhor textura à pele; remoção de nódoas de tecidos	Alimentar Têxtil Detergentes
Lipase	Fungos	Desenvolvimento do sabor em produtos lácteos; remoção de gorduras de tecidos	Alimentar Detergentes
Celulases	Bactérias	Amaciador de tecidos e remoção de nódoas; polimento de fibras de celulose	Detergentes Têxtil
Catalase	Fungos	Esterilização do leite; tratamento de embalagens para prevenir a oxidação dos alimentos; branqueamento de tecidos	Alimentar Têxtil
Lactase	Fungos	Hidrólise da lactose do leite (glicose e galactose); fabrico de gelados	Alimentar
Invertase	Leveduras	Hidrólise da sacarose (glicose e frutose); preparação de doces recheados com creme; produção de xaropes	Alimentar
Pectinase	Fungos	Produção e clarificação de sumos de frutas e de vinho; maceração de fibras de linho para a produção do tecido	Alimentar Têxtil

(Baseada em Macedo *et al.*, 2003; Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996; Waites *et al.*, 2001)

C) Leveduras em processos de fermentação alcoólica⁶

As leveduras são fungos unicelulares, maioritariamente classificadas em termos taxonómicos como *Ascomycetes*, apresentam células esféricas, ovais ou cilíndricas, com reprodução assexuada, geralmente por gemulação (Madigan *et al.*, 2004; Marques, 2004). Estes microrganismos desenvolvem-se em habitats em que se verifica a presença de açúcares, como frutos e flores (*Ibid.*). São adequados para fermentações em escala industrial, devido às suas propriedades específicas, como a tolerância a altas concentrações de álcool (10 a 15%) e de dióxido de carbono, além do rápido crescimento (SBRT, 2006).

As leveduras com maior importância económica pertencem ao género *Saccharomyces*, sendo particularmente utilizadas na indústria da panificação e na produção de bebidas alcoólicas (Madigan *et al.*, 2004) não destiladas (*e.g.* cerveja e vinho) e destiladas (*e.g.* aguardente, uísque) (SBRT, 2005). As espécies mais comuns para a produção de álcool são a *Saccharomyces cerevisiae* (Pelczar *et al.*, 1996; SBRT, 2006) e a *Saccharomyces carlsbergensis* (SBRT, 2006).

⁶ Algumas partes da revisão de literatura efectuada sobre as leveduras em processos de fermentação alcoólica foram utilizadas na elaboração do contexto problemático intitulado “Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica”, a partir do qual um grupo de trabalho que frequentou a OF desenvolveu um percurso investigativo.

A fermentação alcoólica é também o processo utilizado na produção de etanol para uso industrial (Ferreira & Montes, 1999; García & Triñanes, 2006; Madigan *et al.*, 2004; OCDE, 2006b; SBRT, 2005; 2006). O etanol (ou álcool etílico) nas condições padrão de pressão e temperatura é líquido, incolor, com cheiro característico, volátil, inflamável, solúvel em água, tendo larga utilização: no fabrico de tintas, lacas, vernizes e perfumes; como desinfectante em misturas de água e álcool etílico a 96% (96 partes de álcool e 4 partes de água: 96° Gay Lussac) (Saraiva, 2003); como combustível, na forma de álcool absoluto – característica necessária para preparar misturas com gasolina (García & Triñanes, 2006; SBRT, 2005).

Na fermentação alcoólica os hidratos de carbono são transformados em etanol e dióxido de carbono. Quando cessa a produção de dióxido de carbono, as leveduras depositam-se no fundo do fermentador, podendo utilizar-se este parâmetro como critério para se considerar a fermentação completa (SBRT, 2006). A libertação de dióxido de carbono é facilmente detectada pela formação de bolhas na mistura, que parece estar em ebulição, o que, apesar de não corresponder a este processo, se designa fervura fria (SBRT, 2005). Os açúcares simples (monossacarídeos), como a glicose e frutose, correspondem ao substrato inicial da fermentação alcoólica, sendo directamente fermentáveis (SBRT, 2006). Pelo contrário, qualquer outro hidrato de carbono (dissacarídeo ou polissacarídeo) tem de ser previamente hidrolisado para originar açúcares fermentáveis. As leveduras utilizam não só a glicose e frutose existentes, por exemplo, no mel e em frutos, mas também a sacarose abundante, por exemplo, na cana-de-açúcar e beterraba açucareira, uma vez provocam a hidrólise deste dissacarídeo através da enzima invertase. Se polissacarídeos, como o amido do milho, forem utilizados como matéria-prima para a fermentação, têm de ser previamente submetidos a um processo de sacarificação, a fim de os converter em açúcares fermentáveis (Marques, 2004; SBRT, 2006).

2.2.4.3. CONTROLO ANTIMICROBIANO POR AGENTES FÍSICOS E QUÍMICOS

Os agentes físicos ou químicos, que matam ou inibem o crescimento de microrganismos, designam-se por agentes antimicrobianos (Alcântara *et al.*, 2001; Madigan *et al.*, 2004; Peixe, 1998; Pelczar *et al.*, 1996). Os que matam os microrganismos designam-se microbicidas (*e.g.* bactericida) e os que apenas inibem o seu crescimento por microbiostáticos (*e.g.* bacteriostático) (Madigan *et al.*, 2004; Pelczar

et al., 1996). A destruição completa de todas as formas de vida existentes num determinado material ou ambiente, na forma vegetativa ou em latência (Casal *et al.*, 2004b), incluindo os esporos, designa-se por esterilização (Casal *et al.*, 2004b; Pelczar *et al.*, 1996).

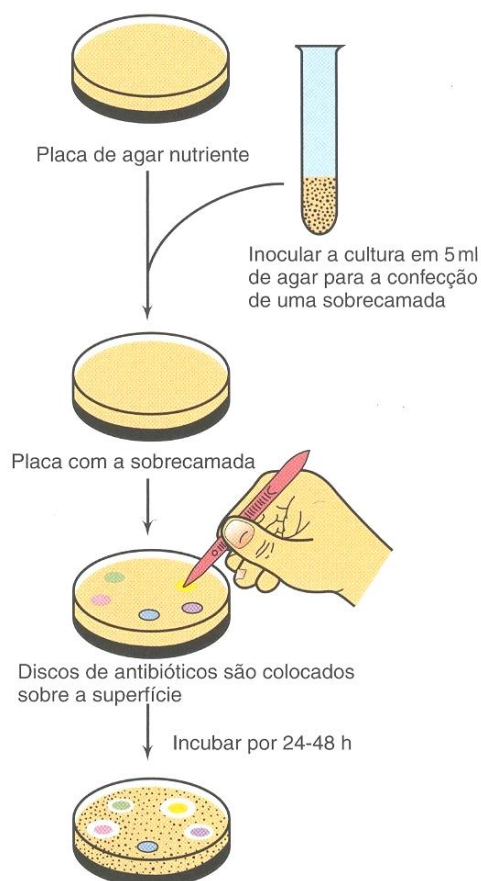
Como agentes físicos utilizam-se especialmente o calor (húmido e seco), a filtração e as radiações não ionizantes (raios ultravioletas) e ionizantes (raios X e raios gama) (Alcântara *et al.*, 2001; Casal *et al.*, 2004b; Madigan *et al.*, 2004; Peixe, 1998; Pelczar *et al.*, 1996). Entre os agentes químicos distinguem-se três tipos: antissépticos e desinfectantes, usados para aplicar, respectivamente, sobre superfícies vivas e não vivas, e os antibióticos utilizados no tratamento de infecções microbianas *in vivo*, provocadas por bactérias (Alcântara *et al.*, 2001; Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996). Os antissépticos são misturas de substâncias aplicadas sobre tecidos vivos, geralmente utilizados na limpeza das mãos, no tratamento de feridas e cortes superficiais, para matar ou inibir o crescimento de microrganismos e, assim, prevenir a sua multiplicação, evitando infecções (*e.g.* álcool sanitário, *Betadine*[®], água oxigenada comercial a 10 volumes) (Alcântara *et al.*, 2001; Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996). Os desinfectantes, em geral, são misturas de substâncias que matam ou inibem a multiplicação da maioria dos microrganismos (Casal *et al.*, 2004b; Pelczar *et al.*, 1996). Os desinfectantes tradicionalmente aplicam-se sobre objectos ou superfícies de materiais não vivos (Alcântara *et al.*, 2001; Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996) e incluem muitos produtos de limpeza doméstica, como a amónia e soluções aquosas de hipoclorito de sódio (Alcântara *et al.*, 2001; Casal *et al.*, 2004b).

Os antibióticos pertencem “a uma das classes mais importantes de substâncias produzidas por processos microbianos em larga escala” (Madigan *et al.*, 2004, p.539). São compostos químicos produzidos por microrganismos que inibem o crescimento ou matam outros microrganismos (Alcântara *et al.*, 2001; Madigan *et al.*, 2004). Os antibióticos actuam sobre os microrganismos pelos seguintes mecanismos: a) inibição da síntese do peptidoglicano constituinte da parede celular bacteriana (*e.g.* penicilinas e cefalosporinas); b) alteração da permeabilidade da membrana plasmática (*e.g.* polimixinas); c) inibição da síntese proteica (*e.g.* tetraciclina e macrólidos) e dos ácidos nucleicos (*e.g.* rifampina) (Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996).

A acção dos antibióticos não se verifica de igual forma sobre diferentes espécies microbianas, designando-se por espectro de acção a quantidade e o tipo de microrganismos sobre os quais actuam (Casal *et al.*, 2004a). Os antibióticos que são efectivos contra uma gama alargada de microrganismos (*e.g.* bactérias gram-negativas e

gram-positivas) são designados de largo espectro (Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004; Pelczar *et al.*, 1996).

A determinação do grau de susceptibilidade de um microrganismo a antibióticos, pode efectuar-se através da utilização de discos de antibióticos pelo método de difusão em agar (Azinheira & Castro, 1998; Madigan *et al.*, 2004) (Figura 2.12). Este método consiste na colocação de discos de papel impregnados com concentrações conhecidas de diferentes antibióticos sobre a superfície de uma placa de Petri com meio sólido, após prévia inoculação do meio de cultura com o microrganismo cuja susceptibilidade se pretende testar (Alcântara *et al.*, 2001; Azinheira & Castro, 1998; Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004). Durante a incubação, os antibióticos difundem-se a partir do disco de papel para o agar, originando um gradiente de concentração que decresce desde a extremidade do disco até distâncias maiores (Alcântara *et al.*, 2001; Casal *et al.*, 2004a).



O organismo teste exhibe sensibilidade a alguns antibióticos, indicada pela inibição do crescimento bacteriano ao redor dos discos (zonas de inibição), após a incubação

Figura 2.12 – Método de difusão em agar para avaliação da actividade antibiótica (Retirada de Madigan *et al.*, 2004, p.533).

Após a incubação, tornam-se visíveis as zonas em que não ocorreu o crescimento do microrganismo à volta do disco de antibiótico – uma zona clara a que se dá o nome de halo de inibição ou zona de inibição (Alcântara *et al.*, 2001; Azinheira & Castro, 1998; Casal *et al.*, 2004a; Madigan *et al.*, 2004). Se o microrganismo é sensível ao antibiótico, forma-se um halo de inibição do crescimento, enquanto se for resistente, este não se verifica e há crescimento à volta do disco. Após as medições dos halos de inibição, expressam-se os tamanhos em mm e caracteriza-se o microrganismo testado em sensível (S) ou resistente (R) (Azinheira & Castro, 1998; Casal *et al.*, 2004a).

Vários parâmetros podem influenciar o tamanho do halo de inibição, como a facilidade de difusão do antibiótico no agar e o tipo de meio

de cultura (Alcântara *et al.*, 2001; Casal *et al.*, 2004a). Por isso, foi necessário padronizar esta técnica, sendo actualmente utilizado o teste de Kirby-Bauer ou antibiograma (Alcântara *et al.*, 2001; Azinheira & Castro, 1998; Casal *et al.*, 2004a), de forma a relacionar o tamanho do halo de inibição com o comportamento resistente, sensível ou intermédio do microrganismo, na presença de um determinado antibiótico (Alcântara *et al.*, 2001; Casal *et al.*, 2004a). Assim, para condições experimentais semelhantes, quanto maior for o diâmetro do halo de inibição, mais sensível ao antibiótico é o microrganismo testado (Casal *et al.*, 2004a).

A eficácia de antissépticos e desinfectantes pode ser testada por um método semelhante ao descrito para os antibióticos (Alcântara *et al.*, 2001). Para este efeito, uma placa de Petri com meio sólido é inoculada com o microrganismo cuja sensibilidade se pretende avaliar, e discos de papel de filtro saturados com os produtos a testar são colocados na superfície do meio de cultura. Após a incubação, verifica-se a formação de halos de inibição do crescimento em volta dos discos de papel de filtro impregnados com produtos aos quais o microrganismo é sensível. Em alternativa, pode recorrer-se a outro método que consiste em retirar uma pequena porção de agar, depois deste inoculado com o microrganismo, para criar um “poço” ao qual se adiciona um pequeno volume da solução de antisséptico ou desinfectante a testar (Alcântara *et al.*, 2001; Pelczar *et al.*, 1996).

2.3. TRABALHO PRÁTICO EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS E FORMAÇÃO DE PROFESSORES

2.3.1. CLARIFICAÇÃO DE TERMOS RELACIONADOS COM TRABALHO PRÁTICO

Enquanto recurso didáctico, trabalho prático corresponde às actividades que exigem envolvimento activo dos alunos (Hodson, 1993; 1994; Leite, 2000; 2001), em diversos domínios, nomeadamente psicomotor, cognitivo e afectivo (Leite, 2001). Corresponde ao conceito mais geral e abrangente, uma vez que inclui trabalho laboratorial, trabalho de campo e trabalho experimental (Dourado, 2001a; 2001b; Leite, 2000; 2001), não se restringindo exclusivamente a estes (Pedrosa & Dourado, 2000). Por outro lado, pode ou não, incluir actividades que se realizem numa bancada de laboratório (Hodson, 1993; 1994). Assim, trabalho prático, além de incluir actividades laboratoriais, experimentais e de campo, também inclui, entre outras, a resolução de exercícios de papel e lápis,

pesquisa de informação em diversas fontes (e.g. Internet ou biblioteca), realização de entrevistas, utilização de simulações em programas informáticos (Leite, 2000; 2001), realização de debates, produção de vídeos e cartazes, elaboração de trabalhos em computador (Dourado, 2001b), realização de fotografias e construção de modelos (Hodson, 1993; 1994).

Trabalho laboratorial inclui actividades que requerem a utilização de materiais e equipamentos de laboratório, podendo realizar-se em laboratórios ou, na sua ausência, em salas de aula normais, desde que a sua realização não ponha em risco a segurança de professores e alunos (Dourado, 2001a; 2001b; Leite, 2000; 2001). O trabalho de campo, apesar de também poder requerer a utilização de materiais de laboratório, realiza-se fora da sala de aula, ao ar livre, onde os fenómenos em estudo ocorrem e os materiais existem (*Ibid.*).

Trabalho experimental corresponde a “actividades que envolvem controlo e manipulação de variáveis e que podem ser laboratoriais, de campo ou outro tipo de actividades práticas” (Leite, 2001, p.80), pelo que apenas as actividades práticas que cumpram este requisito podem ser designadas de trabalho experimental (Dourado, 2001a; 2001b; Leite, 2000; 2001). Importa salientar a confusão existente nos significados atribuídos aos termos experimental e experiência, o que leva a que determinadas actividades laboratoriais, vulgarmente apelidadas de experiências, sejam incorrectamente consideradas como trabalho experimental, quando, de facto, não o são (Dourado, 2001a; 2001b). Assim, só as experiências que envolvam controlo e manipulação de variáveis deverão ser designadas de trabalho experimental.

Em síntese, considerando os aspectos que permitem distinguir cada um dos termos que se relacionam com trabalho prático, verifica-se que a distinção entre trabalho laboratorial e trabalho de campo se baseia em critérios relativos ao local de realização (Leite, 2001) e aos materiais necessários à realização das actividades (Dourado, 2001b), enquanto a distinção entre trabalho experimental e não experimental reside na metodologia utilizada (Dourado, 2001a; 2001b), a qual se relaciona com a necessidade, ou não, de controlar e manipular variáveis (Dourado, 2001a; 2001b; Leite, 2001). Considerando os critérios referidos, pode considerar-se, por exemplo, “actividades laboratoriais de tipo experimental” (Leite, 2001, p.80), quando requerem simultaneamente a utilização de materiais de laboratório e o controlo e manipulação de variáveis (e.g. influência da intensidade luminosa na actividade fotossintética), bem como que “existem actividades de TL que são TE e outras que não o são” (Dourado, 2001a, p.15) (e.g. observação de preparações microscópicas; determinação da dureza de minerais), tal

como “actividades de TC que não são TE e outras que o podem ser” (Dourado, 2001a, p.15). No entanto, as condições existentes no campo podem dificultar o controlo e manipulação de variáveis (Dourado, 2001a; 2001b), o que não quer dizer que não possa existir trabalho de campo de tipo experimental.

Por outro lado, a clarificação das relações entre os conceitos de investigação, trabalho laboratorial, trabalho experimental e trabalho de campo é indispensável para uma utilização mais conscienciosa e fundamentada das actividades que se realizam no laboratório e/ou no campo, atendendo a que os diversos tipos de trabalho prático permitem desenvolver diferentes competências nos alunos (Leite & Figueiroa, 2004). As investigações são actividades de resolução de problemas (Leite, 2001; Leite & Figueiroa, 2004; Miguéns, 1999; Pedrosa, 2001a) que, dependendo do controlo ou não de variáveis, podem ser de tipo experimental ou não experimental. Assim, verifica-se que “solamente una parte de las actividades de laboratorio serán de tipo experimental y solamente algunas de éstas serán investigaciones experimentales” (Leite & Figueiroa, 2004, p.21). O esquema da Figura 2.13 mostra as relações existentes entre investigações, trabalho prático, trabalho laboratorial, trabalho experimental e trabalho de campo.

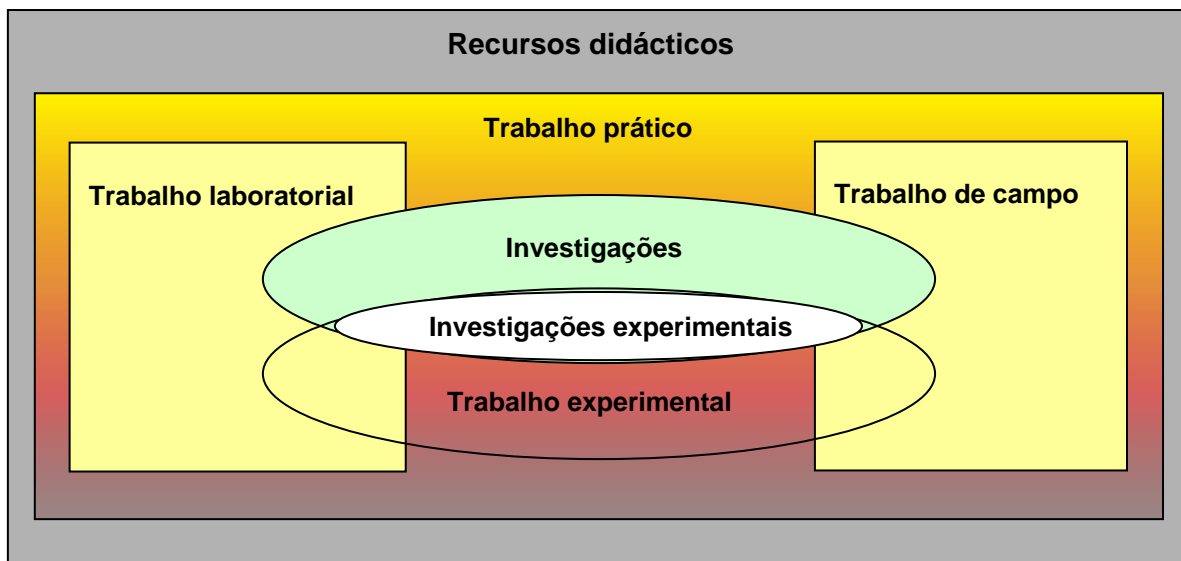


Figura 2.13 – Relações entre investigações, trabalho prático, laboratorial, experimental e de campo (Adaptada de Leite & Figueiroa, 2004, p.21).

Segundo Dourado (2001a; 2001b), nas disciplinas de Biologia, Geologia, Física e Química os conceitos de trabalho prático, trabalho laboratorial, trabalho experimental e trabalho de campo apresentam papéis e características próprias. Se trabalho laboratorial e trabalho de campo estão relacionados com a maioria das actividades desenvolvidas nas disciplinas de Biologia e Geologia, o trabalho de campo não é muito frequente nas

disciplinas de Física e Química, nas quais se recorre a trabalho laboratorial de tipo experimental, nomeadamente. Por outro lado, é pouco comum realizar em Geologia trabalho de campo de tipo experimental. Saliencia-se que, em contextos escolares, se privilegia a designação de trabalho laboratorial, em concordância com designações adoptadas nos próprios currículos do ensino secundário que, na reforma educativa implementada em Portugal, a partir do início dos anos 90 (Leite, 2001), o destacaram nas disciplinas de Técnicas Laboratoriais de Biologia, Geologia, Química e Física (Pedrosa, 2001a).

Nesta dissertação, para referir trabalho prático com componente laboratorial, adopta-se a designação actividades prático-laboratoriais, independentemente de incluírem, ou não, outras componentes (e.g. experimental).

2.3.2. TIPOS DE ACTIVIDADES LABORATORIAIS

Grande parte das investigações realizadas para avaliar a eficácia de trabalho prático em educação em ciências tem conduzido a resultados pouco convincentes e o seu papel nos currículos de ciências tem sido sempre objecto de controvérsia (Barberá & Valdés, 1996). Ao longo da história do ensino de ciências, o destaque da investigação em educação e dos currículos, relativo às diversas modalidades de trabalho prático, tem sido diferente, reflectindo-se no modo de encarar as ciências e o seu ensino (Miguéns & Serra, 2000). Em educação em ciências, torna-se pois, indispensável classificar os diversos tipos de trabalhos práticos e definir os objectivos de cada um deles (Caamaño, 2004).

Existe algum consenso relativamente à ideia de que diferentes tipos de actividades laboratoriais têm características, finalidades e propósitos diversos (Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006), conduzindo a aprendizagens e desenvolvimento de competências diferentes (Miguéns & Serra, 2000). Para rentabilizar as potencialidades deste recurso didáctico, importa que se tenha uma ideia clara e precisa sobre os diferentes tipos de actividades laboratoriais (Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006), a fim de adequar a natureza das actividades aos objectivos que se pretendem atingir com a sua realização (Dourado, 2010). Assim, a escolha de um determinado tipo ou modalidade de trabalho prático deve ter em consideração os objectivos que se pretendem atingir e os contextos educativos em que se enquadra (Miguéns & Serra, 2000).

Têm sido apresentadas diversas classificações para as actividades laboratoriais. A classificação proposta por Woolnough & Allsop (1985, citados em Barberá & Valdés, 1996, p.367; Caamaño, 2004, p.8; Dourado, 2001b, p.41; Miguéns, 1999, p.83) apresenta três modalidades de trabalho laboratorial:

1. Exercícios – actividades para desenvolver capacidades técnicas e destrezas práticas, assumindo um carácter especialmente orientado, por exemplo, a observação, medição e manipulação de instrumentos;
2. Investigações – actividades para dar aos alunos oportunidade de trabalhar em tarefas abertas e exercitar-se como cientistas que resolvem problemas;
3. Experiências – actividades com o objectivo dos alunos tomarem consciência de determinados fenómenos naturais e adquirirem uma familiarização perceptiva dos mesmos.

Caamaño (2004) apresenta uma classificação baseada em quatro tipos:

1. Experiências – actividades com vista à familiarização perceptiva dos fenómenos do mundo físico e natural;
2. Experiências ilustrativas – actividades destinadas a interpretar fenómenos, ilustrar princípios e leis ou mostrar relações entre variáveis. Caso sejam realizadas apenas pelo professor, designam-se demonstrações;
3. Exercícios práticos – actividades com carácter especialmente orientado para a aprendizagem de métodos e técnicas de laboratório (procedimentos e destrezas práticas) ou para comprovar teorias previamente conhecidas;
4. Investigações – actividades para a construção de conhecimentos, compreensão dos processos das ciências e para aprender a investigar. As investigações são actividades de resolução de problemas, com o objectivo de encontrar respostas a questões, comprovar ou refutar hipóteses e previsões, designadamente através do desenho experimental, elaboração de procedimentos e sua realização.

Caamaño (2004) considera que os exercícios práticos correspondem, em princípio, ao tipo de trabalho prático mais utilizado nas aulas de ciências, salientando que podem ser facilmente transformados em investigações. Para isso, é necessário mudar a maneira como são apresentados, proporcionando oportunidades aos alunos para planificarem os procedimentos necessários à resolução dos problemas propostos.

Leite & Figueiroa (2004) consideram que as actividades laboratoriais podem apresentar vários níveis de estruturação, de acordo com os pressupostos em que se

fundamentam e as indicações apresentadas, ou não, aos alunos. Neste sentido, Leite (2001) e Leite & Figueiroa (2004) apresentam seis tipos de actividades laboratoriais (Tabela 2.7), caracterizados em função de objectivos a atingir e competências a desenvolver pelos alunos, relacionadas com conhecimentos conceptuais, procedimentais e de metodologias científicas.

Tabela 2.7 – Tipologia de actividades laboratoriais.

OBJECTIVO PRIMORDIAL		TIPOS DE ACTIVIDADES
Aprendizagem de conhecimento procedimental		❖ Exercícios
Aprendizagem de conhecimento conceptual	Reforço de conhecimento conceptual	❖ Actividades para familiarização com fenómenos ❖ Actividades ilustrativas
	Construção de conhecimento conceptual	❖ Actividades orientadas para a determinação do que acontece ❖ Investigações
	(Re)construção de conhecimento conceptual	❖ Prevê-Observa-Explica-Reflecte (procedimento apresentado) ❖ Prevê-Observa-Explica-Reflecte (procedimento por definir)
Aprendizagem de metodologias científicas		❖ Investigações

(Adaptada de Leite, 2001, p.90; Leite & Figueiroa, 2004, p.23-24)

Caracterizam-se, em seguida, os seis tipos de actividades laboratoriais propostos por Leite & Figueiroa (2004):

1. Exercícios – têm como objectivo primordial a aprendizagem de conhecimento procedimental. Caracterizam-se pelo desenvolvimento de destrezas (e.g. observar, medir e manipular) e a aprendizagem de técnicas laboratoriais, sendo a prática fundamental para se atingir um bom desempenho. A sua concretização requer descrições pormenorizadas dos procedimentos a realizar;
2. Actividades para familiarização com fenómenos – têm como objectivo primordial o reforço da aprendizagem de conhecimento conceptual. Baseiam-se na utilização dos órgãos dos sentidos para dar uma noção mais concreta dos fenómenos (aquisição de sensibilidade acerca de fenómenos);
3. Actividades ilustrativas – têm como objectivo primordial o reforço da aprendizagem de conhecimento conceptual. Fundamentam-se na realização de protocolos tipo receita, organizados de modo a conduzir aos resultados previstos e conhecidos pelos alunos, confirmando como verdadeiro o conhecimento previamente apresentado;

4. Actividades orientadas para a determinação do que acontece – têm como objectivo a construção de conhecimento conceptual. Promovem a construção de novos conhecimentos através da implementação de actividades pormenorizadamente descritas, a partir de protocolos que levam os alunos à obtenção dos resultados pretendidos, não conhecidos inicialmente por eles;
5. Actividades do tipo Prevê-Observa-Explica-Reflecte (POER) – têm como objectivo primordial a (re)construção de conhecimento conceptual. Promovem a reconstrução de conhecimentos, ao confrontar os alunos com questões que lhes permitem tomar consciência das suas ideias prévias, com o objectivo de encontrar dados empíricos que as apoiem ou as ponham em causa. Neste tipo de actividades, o procedimento pode ser, ou não, fornecido aos alunos, de acordo com o grau de abertura da actividade laboratorial, no entanto, cabe a estes fazer previsões, interpretar dados, extrair conclusões e comparar as previsões iniciais com as conclusões efectuadas. No caso do procedimento não ser apresentado, os alunos têm que definir uma estratégia para pôr à prova as suas ideias;
6. Investigações – têm como objectivos primordiais a construção de novo conhecimento conceptual e a aprendizagem de metodologias científicas, designadamente através do desenvolvimento de competências de resolução de problemas. Considerando que as investigações não são apoiadas por protocolos, os alunos têm de delinear, implementar e avaliar estratégias, no sentido de procederem a reformulações, caso necessário, para a resolução de um determinado problema.

Chagas & Oliveira (2005) consideram as actividades do tipo POER apropriadas para promover mudanças de concepções alternativas dos alunos e desenvolver conhecimentos procedimentais. As actividades do tipo POER (que não incluem o procedimento) e as investigações, requerendo articulação de conhecimentos conceptuais e procedimentais necessários ao desenho de procedimentos, implicam a aprendizagem de novos conhecimentos, assumindo os alunos comportamentos com algumas semelhanças com os de cientistas em laboratórios de investigação (Leite, 2000). Estes dois tipos de actividades laboratoriais são, segundo Tenreiro-Vieira & Vieira (2006), os que mais contribuem para desenvolver competências de pensamento, designadamente de pensamento crítico. Em educação em ciências, as investigações têm um lugar de destaque, por corresponderem ao “mais complexo e holístico dos trabalhos práticos [reunindo] em si mesmo elementos que surgem separados noutras modalidades de trabalho prático” (Miguéns & Serra, 2000, p.556).

Dependendo do tipo de actividades propostas e do modo como são implementadas, as actividades laboratoriais permitem desenvolver e avaliar diversas competências, pelo que, pretendendo avaliar-se as aprendizagens dos alunos em determinadas competências, então tem que se lhes propor actividades que permitam desenvolvê-las (Leite, 2000). Por exemplo, se não forem criadas oportunidades para os alunos praticarem técnicas e utilizarem equipamentos durante a execução de procedimentos, não é razoável pretender avaliar-se destrezas nestes domínios. Identicamente, o desenvolvimento de competências para elaborar desenhos experimentais ou comunicar resultados impõe que sejam igualmente os alunos a realizá-los. Em situação diferente estão competências relacionadas com a análise de dados e a interpretação de resultados, que já não obrigam os alunos a realizarem procedimentos no laboratório – podem ser desenvolvidas recorrendo a demonstrações do professor ou a actividades propostas nos manuais escolares (*Ibid.*).

2.3.3. NÍVEIS DE ABERTURA DE ACTIVIDADES LABORATORIAIS

A teoria construtivista baseia-se no princípio de que o conhecimento não pode ser transferido, de forma intacta, da mente do professor para a do aluno, uma vez que deve ser construído activamente por quem aprende (Bodner, 1986). Este princípio implica que a construção de conhecimento exige esforço e actividade mental (Valverde *et al.*, 2005; 2006), de modo que as actividades realizadas em laboratório devem desenvolver nos alunos competências de maior nível cognitivo, segundo a taxonomia de Bloom para os objectivos educativos (*Ibid.*).

Esta taxonomia, desenvolvida na década de 50 do século passado por especialistas de várias universidades dos EUA e liderada por Bloom, propõe três domínios educativos: cognitivo (relativo ao conhecimento e ao desenvolvimento de competências intelectuais), afectivo (baseado em sentimentos, valores, motivações e atitudes) e psicomotor (referente a habilidades práticas ou técnicas de execução) (Junior *et al.*, 2008). Os objectivos do domínio cognitivo estão classificados em seis categorias, hierarquizadas de acordo com o esforço intelectual exigido: os três primeiros – conhecimento, compreensão e aplicação – são objectivos cognitivos de baixa ordem ou baixo nível; os três últimos – análise, síntese e avaliação – enquadram-se nos objectivos de elevada ordem (Valverde *et al.*, 2005; 2006). Junior *et al.* (2008) posicionam cada categoria numa linha hierárquica que, normalmente, requer o domínio da categoria anterior para se atingir a seguinte.

Trata-se, portanto, de um processo cumulativo, em que uma categoria de nível inferior constitui o suporte de outra de nível superior, tal como uma escada de seis degraus, em que cada degrau permite aceder a um patamar de nível cognitivo superior (*Ibid.*) (Figura 2.14). Estes autores salientam que, para desenvolver competências de resolução de problemas, é essencial dominar os níveis cognitivos 5 e 6, síntese e avaliação, respectivamente.

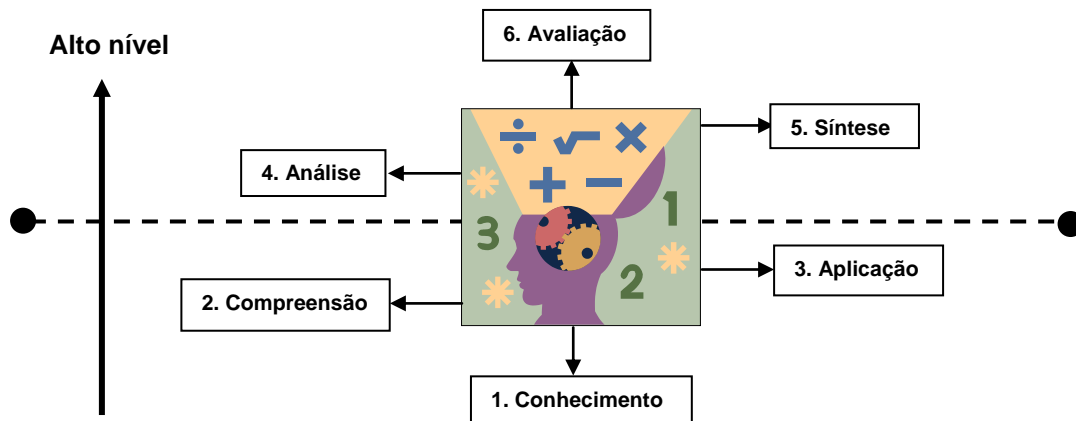


Figura 2.14 – Categorias de Bloom para os objectivos educativos do domínio cognitivo (Adaptada de Junior *et al.*, 2008, p. 111).

O desenvolvimento de objectivos cognitivos de elevado nível pode ser conseguido envolvendo os alunos em actividades laboratoriais, em que sejam eles a efectuar o desenho experimental (Valverde *et al.*, 2005; 2006), por exemplo, mostrando, ou não, todos os materiais e equipamentos necessários à sua realização (Caamaño & Corominas, 2004), aumentando, desta forma, o que se designa por grau ou nível de abertura de uma actividade prática (Leite, 2001; Valverde *et al.*, 2005; 2006). Salienta-se que, embora os objectivos cognitivos a desenvolver durante uma actividade laboratorial devam ser, prioritariamente, os de elevado nível (Barberá & Valdés, 1996; Valverde *et al.*, 2005; 2006), há poucos indícios de que estes sejam atingidos (Barberá & Valdés, 1996), considerando que as práticas mais comuns requerem dos alunos pouco esforço mental, permitindo apenas alcançar objectivos educativos de baixo nível cognitivo (Valverde *et al.*, 2005; 2006).

O grau de abertura de uma actividade laboratorial pode variar em função de diferentes parâmetros. Caamaño (2004), Valverde *et al.* (2005; 2006) e Watson (1994) consideram que o grau de abertura de uma actividade laboratorial pode ser definido relativamente: a) à forma como se formula o problema; b) à diversidade de estratégias para a sua resolução; c) ao nível da ajuda dada pelo professor na planificação e implementação de estratégias; d) à diversidade de soluções ou respostas que admite.

Estes quatro parâmetros, apresentados na Figura 2.15, revelam um *continuum* de abertura de actividades laboratoriais, desde as modalidades “que possuem uma natureza mais fechada, mais prescritiva, até às de natureza mais aberta, com um carácter mais exploratório” (Almeida, 2001, p.67), correspondentes às investigações. Valverde *et al.* (2005; 2006) consideram que o grau de intervenção dos professores é inversamente proporcional ao de abertura de uma actividade prática, ou seja, ao grau de autonomia dos alunos. Leite (2001) apresenta diversos parâmetros a ter em consideração no grau de abertura de actividades laboratoriais, apresentados na Tabela 2.8, em que trabalho prático numa perspectiva investigativa corresponde à última situação de cada parâmetro.

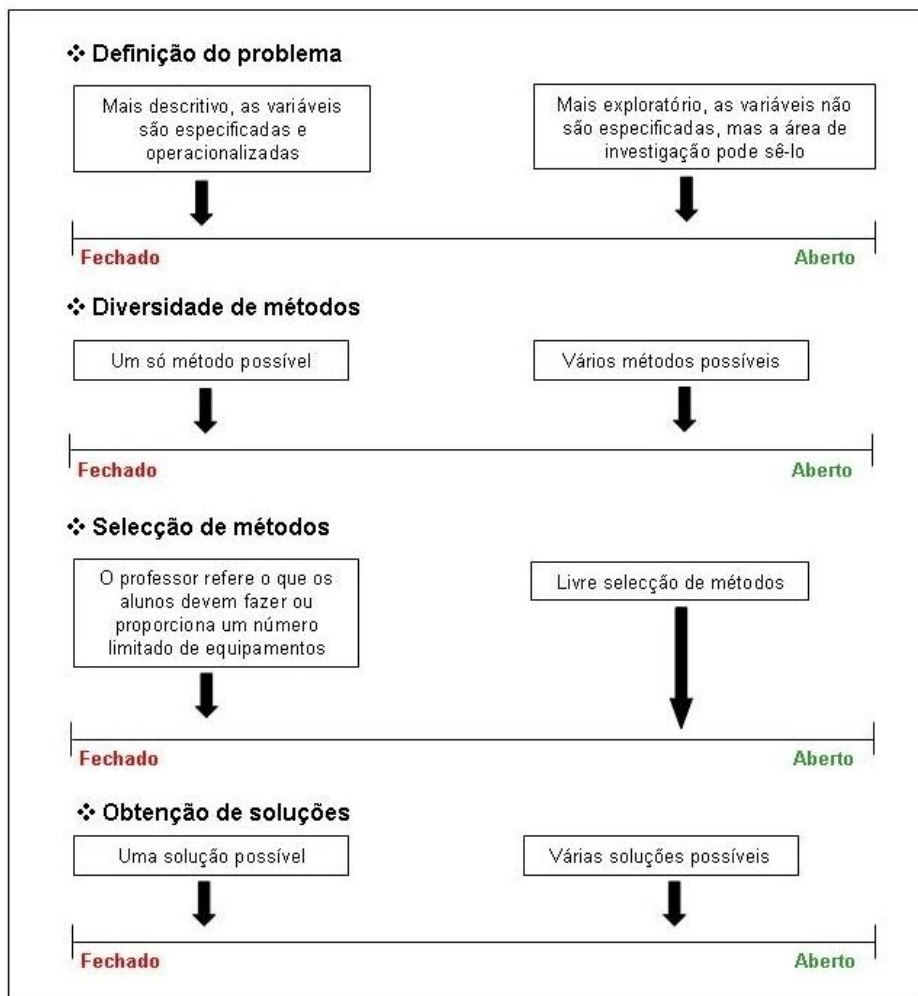


Figura 2.15 – Grau de abertura de actividades laboratoriais (Adaptada de Caamaño, 2004, p.16).

A realização de actividades laboratoriais com baixos níveis de abertura requer processos cognitivos de baixa ordem, não criando oportunidades para aprendizagens significativas (Valverde *et al.*, 2006), uma vez que os alunos apenas cumprem as etapas

dos protocolos fornecidos pelo professor ou existentes nos manuais escolares, além de responderem a questões referentes a fundamentos de algumas instruções que, eventualmente, surjam no final das actividades (Caamaño & Corominas, 2004). O trabalho prático numa perspectiva investigativa corresponde à modalidade com maior grau de abertura (Leite, 2001; Valverde *et al.*, 2005; 2006). Como os resultados não são conhecidos *a priori*, é necessário que os alunos se envolvam na planificação das suas próprias estratégias (Valverde *et al.*, 2005; 2006). Constituem actividades que, por serem menos dirigidas, conferem aos alunos responsabilidade pelas decisões sobre os procedimentos a adoptar, exigindo-lhes particular atenção e esforço intelectual. Estes aspectos contribuem para que os alunos melhorem atitudes relativamente à investigação científica e estabeleçam relações entre conceitos teóricos e dados empíricos (*Ibid.*).

Tabela 2.8 – Parâmetros a considerar na análise do grau de abertura de actividades laboratoriais.

PARÂMETROS	SITUAÇÕES POSSÍVEIS
Problema	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Não explicitado ❖ Fornecido ❖ Solicitado ao aluno
Contextualização teórica	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Inexistente ❖ Fornecida..... { Irrelevante Incluindo as conclusões Adequada
Previsão	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Não solicitada ❖ Solicitada ao aluno
Procedimento	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Desenho..... { Fornecido Fornecidas indicações Não fornecido ❖ Execução..... { Professor Professor e alguns alunos Alunos
Dados	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Fornecidos ❖ Fornecidas indicações para recolha ❖ Recolha a decidir pelo aluno
Análise de dados	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Apresentada ❖ Orientações sugeridas ❖ Definida pelo aluno
Conclusões	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Fornecidas explicitamente ❖ Fornecidas implicitamente ❖ Elaboradas pelo aluno
Reflexão	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Procedimentos..... { Ignorada Apresentada Solicitada ❖ Relação previsão/resultados { Ignorada Apresentada Solicitada

(Retirada de Leite, 2001, p.89 – na 1ª linha da 2ª coluna substituiu-se a palavra “valores” por “situações”)

Atendendo ao nível de abertura das actividades laboratoriais apresentadas na Tabela 2.9, Valverde *et al.* (2005; 2006) classificam-nas em:

- Demonstração (nível 0) – permite provar princípios teóricos, pelo que os alunos conhecem antecipadamente o objectivo da actividade e qual o resultado final, sendo-lhes fornecidos os materiais e métodos;
- Exercício (nível 1) – os alunos seguem instruções para aprender a executar técnicas laboratoriais e a utilizar equipamentos, desenvolvendo técnicas de observação e manipulação;
- Investigação estruturada (nível 2) – enquadra-se entre trabalho laboratorial tradicional e investigação aberta, em que os alunos aprendem a seleccionar materiais e a desenvolver métodos, quando não são dados na totalidade;
- Investigação aberta (nível 3) – os alunos identificam problemas, formulam questões e desenham procedimentos adequados para os resolverem;
- Projecto (nível 4) – corresponde a investigações em que os alunos definem os objectivos do trabalho a realizar.

Tabela 2.9 – Níveis de abertura de actividades laboratoriais.

NÍVEL DE ABERTURA	NOME	OBJECTIVO	MATERIAL	MÉTODOS	SOLUÇÕES	ORIENTAÇÃO
0	Demonstração	Dado	Dado	Dado	Dada	Tradicional
1	Exercício	Dado	Dado	Dado	Aberta	Tradicional
2	Investigação estruturada	Dado	Dado, total ou parcialmente	Dado em parte ou aberto	Aberta	Investigação parcial
3	Investigação aberta	Dado	Aberto	Aberto	Aberta	Investigação
4	Projecto	Dado em parte ou aberto	Aberto	Aberto	Aberta	Investigação

(Adaptada de Valverde *et al.*, 2006, p.62)

Nas investigações estruturadas, em vez de se indicar os materiais e equipamentos a utilizar e as sequências de procedimentos a adoptar, podem apresentar-se listas de itens que podem, ou não, ser utilizados – os alunos, de acordo com as estratégias idealizadas, seleccionarão o que consideram necessário (Grau, 1994).

Almeida (2001) refere que o grau de abertura das actividades práctico-laboratoriais está relacionado, principalmente, com o nível de controlo que o professor e os alunos têm sobre as seguintes dimensões estruturantes: “área de interesse, definição do problema, planificação das estratégias experimentais, determinação da estratégia a usar, realização experimental, recolha de dados e avaliação/interpretação dos resultados” (p.67). A Tabela 2.10 apresenta tipos de actividades práctico-laboratoriais, definidos em função do

nível de controlo do professor e alunos sobre as várias dimensões estruturantes. As actividades mais fechadas apresentam as várias dimensões estruturantes centradas no professor e as mais abertas centram-nas nos alunos. Assim, define um modelo de análise do grau de abertura das actividades práctico-laboratoriais baseado no nível de participação e envolvimento dos alunos nas fases de planificação e implementação do trabalho, e sua avaliação.

Quem define o problema a investigar (o professor, os alunos, ou ambos) condiciona a natureza do trabalho a realizar, bem como o interesse e a participação dos alunos no seu desenvolvimento. Assim, a natureza das investigações difere consoante a solução do problema seja conhecida pelo professor, ou não, uma vez que, nesta situação, haverá maior envolvimento de todos na procura de soluções aceitáveis (Almeida, 2001). Por outro lado, “a abertura de um problema é tanto maior quanto maior for o número de soluções que admite” (Almeida, 2001, p.67), o que se relaciona com o contexto problemático apresentado e o tipo de problema formulado.

Tabela 2.10 – Tipos de actividades práctico-laboratoriais em função do nível de controlo do professor (P) e alunos (A) sobre várias dimensões estruturantes.

Dimensões estruturantes	Tipos de actividades práctico-laboratoriais						
	1	2	3	4	5	6	7
Área de interesse	P	P	P	P	P	P	A
Definição do problema	P	P	P	P	P	A	A
Planificação	P	P	A	A	A	A	A
Determinação da estratégia	P	P	P	A	A	A	A
Realização experimental	P/A	A	A	A	A	A	A
Recolha de dados	P	A	A	A	A	A	A
Avaliação/interpretação dos resultados	P	P	P	P	A	A	A

(Adaptada de Almeida, 2001, p.67)

Os tipos 1 e 2 apresentados na Tabela 2.10 correspondem a actividades fechadas, enquanto os 3, 4, 5, 6 e 7 traduzem actividades progressivamente mais abertas, de natureza investigativa com níveis de abertura crescente. Os tipos 1 e 2 correspondem a actividades de demonstração e de verificação experimental, centradas no professor, em que os alunos executam procedimentos, com o objectivo de mostrar ou provar teorias conhecidas. Os tipos 3 e 4 podem representar actividades de natureza investigativa, atendendo a que aos alunos compete desenharem os procedimentos para a resolução do problema apresentado pelo professor. Estes dois tipos distinguem-se pela intervenção, ou não, do professor na determinação da melhor estratégia a seguir, a partir das

propostas apresentadas pelos alunos. No tipo 3, para limitar as estratégias a utilizar pelos alunos, o professor pode disponibilizar apenas determinados materiais e equipamentos. Os tipos 4 e 5 distinguem-se porque em 4, a avaliação e interpretação de resultados é realizada pelo professor, enquanto em 5 cabem exclusivamente aos alunos. Os tipos 6 e 7 são os que traduzem maior nível de abertura, diferenciando-se porque em 6 o professor define a área de interesse, sendo as restantes dimensões estruturantes, inclusive a formulação do problema de investigação, da responsabilidade dos alunos (Almeida, 2001). Assim, importa proporcionar “oportunidades para que os alunos se envolvam em actividades de natureza investigativa onde, a partir dos problemas assumidos como seus, possam delinear e desenvolver os seus próprios planos experimentais, interpretar e avaliar criticamente as soluções experimentais obtidas” (Almeida, 2001, p.69).

2.3.4. OBJECTIVOS DE TRABALHO LABORATORIAL

Grande parte da discussão e debate em torno da utilização de trabalho laboratorial, como recurso didáctico em educação em ciências, prende-se com a sua natureza e propósitos, considerando-se fundamental explorar os seus objectivos e as justificações para a sua inclusão nos actuais currículos (Dourado, 2006). Woolnough & Allsop (1985, citados em Dourado 2001b, p.32) consideram que o trabalho laboratorial deve apresentar os seguintes objectivos: “desenvolver habilidades científicas e técnicas”, “tornar os alunos competentes na resolução de problemas” e “desenvolver no aluno a “sensibilidade dos fenómenos””. Importa que os alunos tenham a percepção dos fenómenos que estudam e aquilo que eles representam, e que desenvolvam competências práticas e técnicas, nomeadamente através da resolução de problemas, pois, desta forma, familiarizam-se “com as abordagens utilizadas pelos “verdadeiros cientistas”, pelo que as actividades desenvolvidas na aula devem assemelhar-se à “ciência real””(Dourado, 2001b, p.33).

Leite (2000), baseando-se em cinco categorias gerais de objectivos propostos por Hodson (1990; 1993; 1994; 2000), sugere que as actividades laboratoriais devem permitir:

1. Motivar os alunos;
2. Aumentar a aprendizagem de conhecimento científico, ou seja, de conhecimento conceptual – conceitos, princípios, leis e teorias;
3. Ensinar técnicas de laboratório e desenvolver competências de conhecimento procedimental;

4. Promover a aprendizagem de metodologias científicas e desenvolver competências na sua utilização, no que diz respeito à aprendizagem dos processos de resolução de problemas, que envolvem articulação de conhecimentos conceptuais e procedimentais;
5. Desenvolver determinadas atitudes científicas, como a abertura de espírito, objectividade, rigor, persistência e criatividade.

Wellington (1998; 2000) agrupa em três domínios os argumentos a favor da utilização de trabalho prático em educação em ciências: 1) cognitivos – reforçam a aprendizagem de conhecimento conceptual através de leis e teorias das ciências; 2) afectivos – permitem motivar os alunos, promover interesse e entusiasmo; 3) associados a competências práticas, transferíveis para actividades de investigação (e.g. observação, medição, previsão) e, por isso, importantes em termos profissionais. De igual modo, Dourado (2006) agrupa em diversos domínios os objectivos que o trabalho laboratorial pode permitir atingir, designadamente atitudinal (e.g. motivar os alunos e estimular a colaboração entre eles), procedimental (e.g. dominar técnicas laboratoriais), conceptual (e.g. aprender conceitos, princípios, leis, teorias e explicar fenómenos) e metodológico (e.g. aprender processos de resolução de problemas).

No entanto, Hodson (1990; 1992; 1993; 1994; 2000) e Wellington (1998; 2000), contrariamente às expectativas dos professores, apresentam evidências de que o trabalho prático implementado nas aulas pode não contribuir para a concretização dos objectivos a ele associados. Alguns estudos referem as limitações do trabalho prático como factor de motivação, pois mostram que, apesar de muitos alunos gostarem de realizar actividades laboratoriais e, conseqüentemente, desenvolverem atitudes positivas pelas ciências, este aspecto não é aplicável a todos, havendo uma minoria que expressa mesmo a sua aversão por trabalho prático. Por outro lado, o entusiasmo pelo trabalho prático diminui de forma significativa com a idade dos alunos (Barberá & Valdés, 1996; Hodson, 1990; 1994; 2000).

Wellington (1998; 2000) refere, no âmbito dos argumentos de natureza afectiva, que o trabalho prático nem sempre é motivador, sobretudo quando não corre conforme o esperado, ou quando os alunos não percebem o que estão a fazer. Por outro lado, “os alunos gostam das actividades laboratoriais e gostam tanto mais quanto mais espectaculares elas forem” (Leite, 2001, p.87). Acontece, porém que, geralmente, as actividades laboratoriais realizadas nas aulas de ciências não têm a espectacularidade apreciada pelos alunos e que, apesar de ser mais provável que estes se lembrem dos

resultados das actividades quando recordam as observações efectuadas, não quer dizer que todos tenham gostado de realizá-las e que as tenham compreendido (*Ibid.*).

Segundo Hodson (1990; 1994), tradicionalmente, são apresentados dois tipos de argumentos a favor de trabalho prático como meio de desenvolver destrezas de laboratório. O primeiro diz respeito à aquisição de competências gerais, que se supõem transferíveis para outras áreas de estudo e válidas para todos os alunos como meio de resolver problemas quotidianos. O segundo refere-se ao desenvolvimento de destrezas e técnicas de investigação consideradas fundamentais para futuros investigadores e técnicos em áreas de ciências. O mesmo autor, contesta o primeiro argumento, por considerar pouco provável que as habilidades adquiridas num laboratório possam ser transferidas para contextos da vida quotidiana, aspecto sustentado por muitos defensores do ensino baseado em competências. Por outro lado, considera questionável o segundo argumento, uma vez que requer que a educação de todos os alunos esteja centrada na necessidade daqueles que pretendem prosseguir estudos em áreas de ciências. Igualmente, Leite (2001) questiona a transferência de competências e destrezas técnicas para outras áreas de conhecimento diferentes daquela onde foram adquiridas, inclusivamente a sua aplicabilidade no dia-a-dia, considerando que os “conhecimentos procedimentais são bastante dependentes do contexto e do conteúdo em que foram aprendidos” (p.87). Wellington (1998; 2000), embora considerando existirem poucas evidências de que as competências e habilidades práticas desenvolvidas nas aulas de ciências sejam, em geral, transferíveis para outros contextos, julga-as fundamentais para o envolvimento dos alunos em processos de investigação científica. Hodson (1994) considera mesmo que a aquisição de destrezas e técnicas de laboratório tem pouco valor em si mesmo, defendendo que “no se trata de que el trabajo práctico sea necesario para que los alumnos adquieran ciertas técnicas de laboratorio, sino de que estas habilidades particulares son necesarias si queremos que los estudiantes participen con éxito en el trabajo práctico” (p.301).

Os resultados de um estudo realizado nos EUA mostram que o trabalho prático habitualmente realizado nas aulas tem como única vantagem o desenvolvimento de técnicas de laboratório, não se registando diferenças significativas no que se refere à aquisição de conceitos, compreensão de metodologias científicas ou motivação, comparativamente com métodos de ensino que não incluem a sua realização (Hodson, 1990; 1994). No domínio dos argumentos cognitivos, o trabalho prático pode não constituir uma boa ferramenta para a aprendizagem de teorias, as quais, por envolverem ideias abstractas, podem não ser fisicamente ilustráveis (Leite, 2001; Wellington, 1998;

2000), o que dificulta, por um lado, a “utilização da observação como meio de concretizar a teoria” (Leite, 2001, p.86) e, por outro, como a teoria é necessária para a concretização de observações, verificam-se dificuldades na “utilização do trabalho laboratorial como ponto de partida para a teoria” (*Ibid.*). Assim, “tal como a observação, também a interpretação é influenciada pelas noções prévias dos alunos” (Almeida, 2001, p.58), o que significa que, apesar de poderem registar observações, não implica que consigam efectuar a interpretação desejada (*Ibid.*). Actualmente “se considera la observación dependiente de la teoría; es la teoría la que determina qué y cómo hay que observar” (Barberá & Valdés, 1996, p.368). Assume-se, tal como refere Dourado (2001b; 2006), que teoria e prática não constituem realidades isoladas, em que habitualmente o trabalho laboratorial é visto para auxiliar a aprendizagem de conceitos, mas sim realidades que se influenciam mutuamente e, por isso, interdependentes. Defende-se “uma forte vinculação entre teoria e prática, [devendo] o saber teórico ser entendido como um pré-requisito fundamental para a compreensão dos temas abordados e a experimentação como um meio para validar, refutar ou modificar hipóteses pessoais baseadas em teorias” (Marques, 2005, p.138). O trabalho em laboratório desempenha papel determinante na compreensão das ciências como actividade de natureza conceptual, uma vez que a planificação de trabalhos laboratoriais e experimentais, a formulação de hipóteses e a previsão de resultados, assim como a elaboração de conclusões provêm de teorias preexistentes (*Ibid.*).

Hodson (1994) refere que grande parte do trabalho prático realizado nas aulas de ciências carece de valor educativo real, por corresponder, em geral, apenas a alguns dos apelos feitos em favor da sua utilização. Considera urgente redefini-lo e reorientá-lo como actividade construtivista, reflexiva e interactiva, através do envolvimento dos alunos em processos de investigação. Em suma, constata-se que o que se pretende com a realização de trabalho prático com componente laboratorial e experimental e o que, em geral, dele resulta apresenta notórias diferenças, de que parece emergir a sua ineficácia. Na perspectiva de diversos autores (Almeida, 1998; Caamaño & Corominas, 2004; Gil-Pérez & Valdés-Castro, 1996), a ineficácia educativa decorrente da utilização de trabalho laboratorial nas aulas de ciências, resulta sobretudo da orientação que tem sido dada ao tipo de práticas realizadas. Verifica-se que diversos investigadores defendem a reorientação dos trabalhos práticos como actividade investigativa (Almeida, 1998; 2001; Caamaño & Corominas, 2004; Dourado, 2000; 2001b; 2006; García-Barros, 2000; Gil-Pérez, 1993; Gil-Pérez & Valdés-Castro, 1996; Hodson, 1990; 1993; 1994; 2000; Matos & Morais, 2004; Miguéns, 1999; Miguéns & Serra, 2000; Pedrosa, 2001a; Tenreiro-Vieira &

Vieira, 2006; Veiga, 2000), a fim de que os alunos alcancem, simultaneamente, os diversos objectivos referidos para as actividades laboratoriais e explorem o potencial deste recurso em educação em ciências.

Hodson (1992; 1993; 1994; 2000) propõe a reconceptualização de trabalho prático de acordo com três grandes finalidades da educação em ciências: 1) *aprender ciências* – aquisição e desenvolvimento de conhecimento teórico e de natureza conceptual; 2) *aprender acerca das ciências* – compreensão dos processos científicos e da natureza das ciências, bem como as interacções entre ciência, tecnologia, sociedade e ambiente; 3) *aprender a fazer ciências* – para desenvolvimento de competências investigativas e de resolução de problemas.

2.3.5. ABORDAGENS TRADICIONAIS DE TRABALHO LABORATORIAL

Em trabalho prático tradicional a preparação de actividades laboratoriais é, em geral, relativamente fácil, a sua realização demora o tempo previsto, são menos exigentes em recursos e decorrem num ambiente de trabalho mais controlado (Marques, 2005). Correspondem a actividades em que os professores exercem o controlo relativamente à identificação de problemas, formulação de hipóteses, desenho experimental e métodos para organizar e tratar dados (Hodson, 1993; 1994), aspectos que requerem processos cognitivos de nível superior (Membiela, 2000). Os alunos são, então, envolvidos em actividades fechadas, onde o contexto, materiais a utilizar e procedimentos a realizar são escolhidos e organizados pelo professor, para evidenciar determinados conteúdos teóricos, pelo que a preocupação de professores e alunos se centra nas etapas dos protocolos, com vista à obtenção do que consideram *respostas certas* (Almeida, 1998; 2001). Trata-se de processos estruturados e repetitivos em que os alunos se limitam, na maior parte dos casos, à execução de procedimentos, tipo *receitas culinárias* (Almeida, 1998; 2001; Barberá & Valdés, 1996; Caamaño & Corominas, 2004; García-Barros, 2000; Miguéns, 1999; Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006; Valverde *et al.*, 2005; 2006), para confirmar factos e teorias através da obtenção de resultados correctos e esperados (Barberá & Valdés, 1996; Marques, 2005). Muitas vezes, os alunos não percebem o que estão a fazer e porque é que o fazem, assim como as razões pelas quais utilizam determinados procedimentos e não outros (Almeida, 1998; 2001), além de revelarem limitações relativamente à compreensão dos conceitos subjacentes às actividades realizadas (Hodson, 1994). Assim, por falta de compreensão teórica

adequada, os alunos não sabem para onde olhar, nem como olhar, para fazerem as observações necessárias, ou não sabem interpretar o que vêem, pelo que a actividade será improdutiva e levará os professores a apresentarem as respostas (Hodson, 1994; 2000). Os resultados são conhecidos previamente pelo professor e, por vezes, também pelos próprios alunos e, quando desconhecidos por estes, o professor utiliza os resultados obtidos para os comparar com os pretendidos e/ou esperados (Valverde *et al.*, 2005; 2006).

Pelas ausências de debate, exploração e testagem de ideias, identificação de conhecimentos e/ou experiências prévias, reflexão e avaliação crítica sobre o trabalho desenvolvido, estas actividades remetem os alunos para estados de passividade intelectual (Almeida, 1998; 2001), o que reforça a perspectiva de que, em trabalho prático tradicional, há um divórcio entre fazer e pensar (García-Barros, 2000). Em trabalho prático tradicional, as actividades laboratoriais limitam-se ao desenvolvimento de competências manipulativas, à observação e comprovação de teorias, desvalorizando aspectos importantes como a contextualização teórica, a formulação de hipóteses e o delineamento de procedimentos para as comprovar ou refutar (García-Barros *et al.*, 1995). Por outro lado, não promovem a discussão de resultados e a formulação de conclusões a partir de evidências sustentadas pelas hipóteses orientadoras dos ensaios efectuados, bem como a avaliação do trabalho realizado, nomeadamente pela identificação de erros e apresentação de propostas de reformulação (*e.g.* hipóteses e ensaios), se necessário (Pedrosa & Dourado, 2000). Neste sentido, assiste-se a “uma depreciação de um dos valores notórios deste tipo de trabalho [laboratorial e experimental], o de desafio intelectual” (Marques, 2005, p.137). Poderá, então, dizer-se que o “trabalho prático é válido para mostrar o *que* acontece (fenómenos, acontecimentos) e algumas vezes *como* (processos) mas raramente para explicar *porquê* acontecem as coisas (teorias)” (Sequeira, 2000, p.25), sendo uma actividade de ensino e aprendizagem, em que o envolvimento do “fazer” (...) é muito limitado sem o envolvimento do “pensar” (Miguéns, 1999, p.81).

A “falta de trabalho experimental que se ligue aos interesses dos alunos e aos problemas actuais, a execução de experiências para confirmar ou reconfirmar princípios e leis bem conhecidas não deixando os alunos envolverem-se em investigação original, a metodologia de “passo a passo” dos protocolos experimentais” (Oliveira, 1999, p.40-41), determina, acima de tudo, aprendizagens rotineiras que conduzem ao desenvolvimento de competências manipulativas em detrimento da compreensão de conceitos e, em geral, da construção de conhecimentos, repercutindo-se em aprendizagens pouco aliciantes

para os alunos e ao seu afastamento de carreiras em áreas de ciências (*Ibid.*). Além disso, os alunos não se sentem motivados com este tipo de actividades que, por lhes serem indiferentes, causam desinteresse pelas ciências e pelo trabalho científico (Barberá & Valdés, 1996). Com o carácter fechado dos trabalhos laboratoriais sugeridos pelos manuais escolares (Silva, 1999) e implementados pelos professores, põem-se em causa muitos dos argumentos a favor da utilização deste recurso didáctico em aulas de ciências. Questiona-se, assim, se, estando os alunos fisicamente envolvidos em actividades fechadas e muito estruturadas, além de competências técnicas, aprenderão metodologias científicas e desenvolverão interesse por aprender ciências (Almeida, 1998).

Neste tipo de práticas destaca-se a pretensa independência de valores (Pedrosa, 2001a), a primazia da observação no acesso directo ao conhecimento e a suposição da existência de um método científico universal, aplicável a todas as ciências, cujos dados, desprovidos de ambiguidade (Almeida, 2001; Oliveira, 1999), se obtêm através de procedimentos simples e algorítmicos (Pedrosa, 2001a), o que reforça a visão empirista das ciências como corpo de conhecimentos verdadeiros e imutáveis (Barberá & Valdés, 1996). Acentuam a ideia de que a construção de conhecimento científico não é problemática, ao evitarem atitudes que favoreçam dúvidas e hesitações (Almeida, 2001), não criando oportunidades para os alunos se aperceberem e compreenderem a sua complexidade. Requerendo processos cognitivos de baixa ordem ou baixo nível, representam mal as actividades científicas (Valverde *et al.*, 2005; 2006), uma vez que os alunos, para verificarem se conseguiram, ou não, atingir os resultados correctos e esperados, passam mais tempo a observar, medir, manipular equipamentos e a descrever resultados (Grau, 1994; Membiela, 2000) do que a planificarem e organizarem as actividades laboratoriais (Valverde *et al.*, 2005; 2006). Este tipo de actividades, geralmente, não exige a reflexão necessária para os alunos estruturarem os novos conceitos e processos desenvolvidos, articulando-os com conhecimentos prévios, para os integrarem nas suas representações mentais – característica essencial de aprendizagens significativas (Valverde *et al.*, 2006).

2.3.6. TRABALHO PRÁTICO EM DIFERENTES PERSPECTIVAS DE ENSINO DE CIÊNCIAS

Subjacente a qualquer proposta didáctico-pedagógica há concepções e ideias, mais ou menos generalizadas, relativamente aos processos envolvidos em ensino e aprendizagem de ciências (Marsulo & Silva, 2005). Estes processos reflectiram-se em perspectivas de ensino que marcaram o percurso evolutivo da didáctica das ciências (Lucas & Vasconcelos, 2005) e que contemplam actividades práticas, com destaque para ensino por transmissão-recepção, ensino por descoberta e ensino com orientação construtivista. Dado que a importância e os objectivos que se atribuem às actividades práticas variam em função da perspectiva de ensino (García-Barros, 2000), nesta secção apresenta-se uma breve descrição dos pressupostos inerentes àquelas perspectivas, com especial ênfase para o trabalho prático com componente laboratorial e experimental, que se justifica, designadamente pelo desfazamento existente entre os objectivos pretendidos e o que, em geral, se consegue com a sua implementação em contextos escolares (Dourado, 2006; Hodson, 1994; 2000; Leite, 2000; 2001; Wellington, 1998; 2000).

2.3.6.1. PERSPECTIVA DE ENSINO POR TRANSMISSÃO-RECEPÇÃO

Nesta perspectiva de ensino, ainda muito presente nas escolas, o professor explica o que, geralmente, vem referido nos manuais escolares (García-Barros, 2000), configurando um ensino verbalista baseado, fundamentalmente, na exposição oral de conteúdos científicos pelo professor (Almeida, 2001), fazendo emergir a dimensão de educação *em* ciências – centrada na aprendizagem de conteúdos científicos (Santos, 2001). Os conteúdos científicos, “entendidos como produtos acabados, certos e infalíveis e, como tal, inquestionáveis” (Almeida, 2001, p.52), “constituem-se num fim em si mesmo, como algo de verdade absoluta” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.8).

Esta perspectiva baseia-se no pressuposto de que a aprendizagem decorre pela acumulação de informações, em que o nível de conhecimentos é avaliado, designadamente em termos da capacidade de memorização (Almeida, 2001), isto é, requer que os alunos utilizem a sua “actividade mental para acumular, armazenar e reproduzir [as] informações” recebidas (Cachapuz *et al.*, 2000, p.7). Por outro lado, radica na ideia de que os conhecimentos existem fora dos aprendizes, pelo que, para aprender

é suficiente ouvir e ver com atenção (Almeida, 2001; Cachapuz *et al.*, 2000). A maneira de proceder dos alunos é de grande passividade cognitiva, sendo vistos sobretudo como arquivadores de conhecimentos, não se lhes reconhecendo papel activo na sua construção (Almeida, 2001). Deste modo, o papel dos alunos consiste em estarem atentos às explicações do professor, estudarem pelo manual escolar, realizarem os exercícios de papel e lápis, e, no que diz respeito às actividades práticas, seguirem os respectivos protocolos (García-Barros, 2000).

As actividades práctico-laboratoriais, normalmente de ocasião (Cachapuz *et al.*, 2000), têm como principal objectivo exemplificar a teoria (García-Barros, 1998; Perales, 1994), constituindo-se como complemento ao ensino verbal, na perspectiva de que “*ver el fenómeno favorece la comprensión y la conceptualización*” (García-Barros, 2000, p.44). Presume-se que a observação meticulosa assume papel central na construção de conhecimentos (Baldaia, 2006; Praia & Cachapuz, 1994), conduzindo indiscutivelmente à aprendizagem de conceitos (Praia & Cachapuz, 1994), uma vez “que o que se pretende são registos neutros, mas rigorosos, do que se vê” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.10). Trata-se de trabalho práctico, nomeadamente de tipo ilustrativo ou demonstrativo, para verificar teorias ensinadas (Almeida, 2001; Baldaia, 2006; Cachapuz *et al.*, 2000). O seu grau de abertura é praticamente nulo e o protocolo disponibilizado aos alunos, por apresentar as etapas muito pormenorizadas, não cria oportunidades de reflexão e questionamento. Normalmente, os textos e materiais específicos das actividades práticas utilizados pelos professores apresentam a seguinte estrutura: a) introdução teórica, em que se justificam as técnicas a utilizar; b) procedimento que os alunos devem seguir; c) questões finais sobre os resultados obtidos e as observações realizadas (García-Barros, 2000). Numa visão mais extremista, as actividades laboratoriais são vistas como actividades sem objectivos didácticos explícitos, carentes de significado para os alunos e de oportunidades para desenvolverem a criatividade (Perales, 1994).

O ensino por transmissão-recepção radica na epistemologia empirista (Almeida, 2001; Cachapuz *et al.*, 2000; Lucas & Vasconcelos, 2005), segundo a qual a ciência é vista como um “corpo de conhecimentos fechado, imutável e que cresce por acumulação”, constituindo-se como uma imagem precisa da realidade (Lucas & Vasconcelos, 2005, np) – o conhecimento científico apresenta-se como verdadeiro, objectivo e evidente (Almeida, 2001; Lucas & Vasconcelos, 2005).

2.3.6.2. PERSPECTIVA DE ENSINO POR DESCOBERTA

O ensino por descoberta, desenvolvido e implementado durante as décadas de 60 e 70, pretendeu que a aprendizagem das ciências se aproximasse das características do trabalho científico (Gil-Pérez, 1993) e integrou diversos projectos educativos, sendo o Nuffield (Grã-Bretanha) e o BSCS (Estados Unidos) os mais divulgados em Portugal (Cachapuz *et al.*, 2000).

Esta perspectiva de ensino pretendeu concretizar a ideia de que os alunos deveriam familiarizar-se com o trabalho científico, particularmente com a especificidade dos seus métodos, de modo a favorecer atitudes mais positivas relativamente às ciências e sua aprendizagem, proporcionando, assim, uma visão mais aberta e acessível das ciências (Gil-Pérez, 1993). Evidencia as actividades práticas, subscrevendo a premissa de que “*hago y comprendo*” (García-Barros, 2000, p.44). Em termos metodológicos, centra-se na descoberta de conceitos e ideias a partir de factos observáveis, obtidos através da utilização de um método pretensamente geral e universal – *método científico* (Almeida, 2001; Baldaia, 2006; Cachapuz *et al.*, 2000; García-Barros, 2000; Lucas & Vasconcelos, 2005; Marsulo & Silva, 2005; Perales, 1994) – considerado como o único caminho, verdadeiro e capaz de contribuir efectivamente para a construção de conhecimentos certos, exactos e provados (Marsulo & Silva, 2005). Criou-se, assim, o mito de um método todo poderoso, que não se aplica apenas para criar conhecimento científico, mas que é capaz de proporcionar aprendizagens aos alunos que o dominarem com exactidão (García-Barros, 2000) e, como tal, deve ser seguido de modo linear, evitando erros, sob pena de não se alcançarem os resultados esperados (Lucas & Vasconcelos, 2005). Enfatiza a dimensão de educação *sobre* ciências, centrada nos processos através dos quais se constrói conhecimento científico, isto é, nos procedimentos científicos (Santos, 2001), partindo do pressuposto erróneo de “que aprender ciências pode equivaler a desenvolver investigação científica” (Pedrosa & Dourado, 2000, p.60). Importa salientar que a “investigação escolar é só uma aproximação da investigação científica e que os alunos e alunas são aprendizes de investigadores. De facto, uns e outros diferem na motivação para resolver um problema, no tempo de que dispõem, nos aparelhos que utilizam e, sobretudo, nos conhecimentos acumulados necessários para fazer ciência” (Oliveira & Pinheiro, 2002, p.1).

No ensino por descoberta verifica-se a “deslocação do fulcro da aprendizagem – do professor para o aluno e dos conteúdos conceptuais para os processos científicos” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.12). Com base em perspectivas empiristas/indutivistas

(Almeida, 2001; Cachapuz *et al.*, 2000; García-Barros, 2000; Lucas & Vasconcelos, 2005; Marsulo & Silva, 2005), enfatiza-se a percepção em prejuízo da reflexão (Almeida, 2001), pressupondo-se que os alunos, a partir da observação, por si só, aprendem conteúdos científicos (Almeida, 2001; Cachapuz *et al.*, 2000; Marsulo & Silva, 2005), isto é, “descobrem as ideias indutivamente a partir de factos observáveis” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.4).

Assume-se como princípio fundamental que a observação permite o acesso directo a conhecimentos verdadeiros e inequívocos sobre o mundo, não influenciados ou influenciáveis por ideias prévias (Almeida, 2001). Assim, as aprendizagens dos alunos centram-se na descoberta, pela “observação cuidada e sistemática, a espontaneidade e o seu sentido intuitivo, como ponto de partida que faz descobrir sem pensar a partir de quadros de referência teóricos, mas sobretudo por ver e acreditar no que vê” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.14). Esta perspectiva de ensino valoriza o trabalho prático como imitações ingénuas da investigação científica, uma vez que cria nos alunos a ilusão de que seguindo o método científico conseguem obter resultados semelhantes aos dos cientistas (Cachapuz *et al.*, 2000; Marsulo & Silva, 2005). Parte-se do pressuposto de que “os cientistas para chegarem à verdade caminham de forma mecânica, invariável e linear dos factos para as ideias” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.13). Deste modo, colocam-se os alunos na posição de pequenos cientistas (Marsulo & Silva, 2005), dando-lhes oportunidades de realizarem actividades prático-laboratoriais e, como se fossem investigadores, testar ideias próprias, daí a imagem, frequente em manuais escolares, de um aluno tipo detective, entendido como “*aluno cientista*” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.11).

O ensino por descoberta transmite, pois, uma visão indutivista das ciências, fundamentada em suposições erróneas acerca da prioridade e certeza das observações, conduzindo a uma imagem distorcida de metodologias científicas (Hodson, 1994), além da fraca contribuição para a aprendizagem dos próprios processos das ciências (*e.g.* observar, classificar, formular hipóteses, prever, inferir), considerados como entidades independentes de conteúdos conceptuais (Almeida, 2001). Como não se podem ensinar processos das ciências, por si só, como se fossem entidades abstractas (Barberá & Valdés, 1996), o ensino por descoberta passou a ser visto como desadequado e veiculador de aprendizagens como actos de repetição padronizados, aspectos relevantes para a perda de sentido do seu uso nas aulas de ciências (Marsulo & Silva, 2005).

Pesem embora as críticas ao ensino por descoberta, considerando que os resultados alcançados se afastaram dos objectivos pretendidos, não deve entender-se simplesmente como fracasso, uma vez que constituiu uma alternativa de renovação que

rompeu com a estabilidade de décadas veiculada pelo ensino por transmissão-recepção (García-Barros, 2000; Gil-Pérez, 1993). Por outro lado, valorizou os alunos nos processos educativos, além de trazer uma visão mais acessível das ciências, particularmente pelo lugar de destaque atribuído às actividades práctico-laboratoriais (Cachapuz *et al.*, 2000).

2.3.6.3. PERSPECTIVA DE ENSINO COM ORIENTAÇÃO CONSTRUTIVISTA

Nas últimas décadas, a importância de orientações construtivistas mereceu, indiscutivelmente, o consenso mais generalizado entre investigadores em educação em ciências (Almeida, 1998; 2001; Cachapuz *et al.*, 2000; Gil-Pérez, 1993; Hodson, 1994; Mintzes *et al.*, 2000; Pedrosa, 2001a; Valadares, 2001; 2006). Orientações construtivistas desvalorizam, em geral, metodologias que se centram na transmissão passiva de informação pelos professores, em trabalho laboratorial tipo *receita culinária*, e em abordagens algorítmicas na resolução de problemas, por se considerar que fomentam aprendizagens mecânicas, cuja tónica centrada na memorização (Mintzes *et al.*, 2000) e no desenvolvimento de tarefas repetitivas, apenas valoriza a reprodução de conhecimentos (Pedrancini *et al.*, 2007). Mintzes *et al.* (2000) defendem que a educação em ciências deve promover nos alunos aprendizagens significativas, em detrimento de aprendizagens mecânicas, através do desenvolvimento de estruturas de conhecimento bem organizadas. Valadares (2006) considera que, para se verificarem aprendizagens significativas, é imprescindível que os alunos se envolvam intelectual e afectivamente na actividade de aprender, o que pode ser proporcionado através do seu envolvimento em investigações.

A construção de significados verifica-se através de “conexões entre conceitos novos e os que fazem parte das estruturas existentes com os conhecimentos anteriores” (Mintzes *et al.*, 2000, p.58), o que requer um “processo activo que exige a ligação consciente de novos conhecimentos a conhecimentos existentes” (Mintzes *et al.*, 2000, p.62) na estrutura cognitiva de quem aprende. Como resultado, destacam-se a importância da estrutura cognitiva e o papel desempenhado pelos conhecimentos anteriores na construção pessoal de novos conhecimentos e, deste modo, na construção de novos significados (Mintzes *et al.*, 2000). Para tal, é necessário ter em consideração as ideias prévias dos alunos, subscrevendo a premissa de Ausubel, muitas vezes citada: “o factor mais importante que influencia a aprendizagem é o que o aluno já sabe. Averigüem o que ele sabe e ensinem em conformidade” (Mintzes *et al.*, 2000, p.52).

Partindo deste pressuposto, considera-se a aprendizagem como um processo activo e pessoal, em que o conhecimento prévio e o modo como está estruturado na mente do aluno (estrutura cognitiva) são aspectos decisivos na construção de conhecimentos (Valadares, 2001; 2006). Assim, é necessário adoptar uma postura diferente sobre o ensino e a aprendizagem de ciências, fundamentada na exploração e no desenvolvimento das ideias dos alunos, em vez de tentar eliminá-las ou substituí-las, sugerindo-se a identificação de ideias e pontos de vista, o desenho de experiências para as explorar, repensar, e possivelmente modificar, designadamente através de actividades investigativas (Hodson, 1993; 1994).

Em suma, dos pressupostos acerca da construção de conhecimento científico em que se fundamentam orientações construtivistas destacam-se: a) quem aprende constrói significados, não se limita a reproduzir o que é lido ou ensinado; b) compreender supõe estabelecer relações com conhecimentos anteriores, partindo do princípio que fragmentos de informação isolados são esquecidos ou tornam-se inacessíveis à memória; c) toda a aprendizagem depende de conhecimentos prévios (Gil-Pérez, 1993).

Em perspectivas construtivistas, o papel de trabalho prático é valorizado de formas diversas (Baldaia, 2006; Cachapuz *et al.*, 2000; García-Barros, 2000; Gil-Pérez, 1993), por exemplo, para diagnosticar ideias dos alunos e desenvolver estratégias para as mudanças conceptuais (ensino por mudança conceptual) ou para os envolver em resolução de problemas através de investigações (ensino por investigação) (Cachapuz *et al.*, 2000; Gil-Pérez, 1993). As perspectivas de ensino por mudança conceptual e por investigação fundamentam-se na “epistemologia racionalista contemporânea, segundo a qual a ciência é uma interpretação possível do Mundo Natural mediante modelos teóricos que são susceptíveis de serem substituídos por outros” (Lucas & Vasconcelos, 2005, np), a partir de novas observações e reinterpretações das observações, o que vai de encontro ao carácter provisório do conhecimento científico (Acevedo-Díaz, 2008). Concepções racionalistas consideram que a construção de conhecimento científico se baseia em “teorias que orientam a observação, por outras palavras, uma observação dependente da teoria” (Praia & Cachapuz, 1994, p.351).

O ensino por mudança conceptual pode integrar dimensões de educação *em* ciências e *sobre* ciências (Santos, 2001) e consiste, numa primeira fase, em fazer emergir as ideias dos alunos e os significados que atribuem aos seus saberes (Cachapuz *et al.*, 2000), seguindo-se, a apresentação de propostas alternativas capazes de provocar conflitos cognitivos, isto é, dúvidas e insatisfação que incentivem e estimulem cognitivamente os alunos à mudança dos seus conhecimentos prévios para

conhecimentos científicos adequados e aceitáveis (Cachapuz *et al.*, 2000). Trata-se de uma estratégia de ensino que resulta fundamentalmente de três fases: a primeira corresponde à identificação das ideias dos alunos; a segunda baseia-se na criação de conflitos cognitivos, capazes de originar insatisfação relativamente a essas ideias, de modo a criar condições para a introdução de conceitos científicos; a terceira é uma fase de aplicação, no sentido de desenvolver oportunidades para os alunos usarem e aplicarem as novas ideias em diversos contextos (Gil-Pérez, 1993). Importa, pois, que o professor ajude os alunos a envolverem-se activamente na construção de representações mais consentâneas com a forma como deverão pensar (Cachapuz *et al.*, 2000). Para tal, é fundamental ter em consideração possíveis dificuldades de aprendizagem dos alunos causadas por concepções alternativas, ou seja, “ideias em oposição a concepções cientificamente adequadas” (Cachapuz *et al.*, 2000, p.22).

Embora esta estratégia possa contribuir positivamente para chamar a atenção de certas ideias de senso comum, quando utilizada de forma sistemática pode conduzir a inibições e rejeições entre os alunos (Gil-Pérez, 1993). Por outro lado, esta perspectiva de ensino sobrevaloriza a aprendizagem de conceitos, considerados como fins, desvalorizando finalidades educativas relevantes associadas a atitudes e valores (Cachapuz *et al.*, 2000). Torna-se, assim, necessário pensar que as mudanças conceptuais dos alunos requerem, igualmente, mudanças metodológicas, “por lo que las estrategias de enseñanza han de incluir *explícitamente* actividades que asocien el cambio conceptual com la práctica de la metodología científica”, a fim de fundamentar a construção de conhecimento científico contra o pensamento de senso comum (Gil-Pérez, 1993, p.202). Para que os alunos se apropriem de metodologias científicas, através de trabalho cooperativo, intra e intergrupar, devem, a partir de problemas, envolver-se na formulação de hipóteses e previsões, desenhar procedimentos e implementá-los, analisar cuidadosamente os resultados e confrontá-los com as previsões, para darem o salto qualitativo em termos de mudança conceptual necessário à construção de conhecimentos científicos (Gil-Pérez, 1993). Assim, as mudanças conceptuais não ocorrem através de situações pontuais, mas sim devido à aquisição de um corpo de conhecimentos capaz de alterar as concepções iniciais, designadamente pelo envolvimento dos alunos em investigações (Gil-Pérez & Valdés-Castro, 1996). Nestas situações, as mudanças conceptuais parecem menos forçadas do que naquelas em que o professor confronta os alunos através de constantes questionamentos (Pereira, 2004), já que é o próprio aluno que, envolvendo-se em actividades investigativas, sente necessidade de (re)construir conhecimentos.

Esta orientação educativa de ciências, valorizando problemas e a sua resolução através de trabalho prático de natureza investigativa (Almeida, 1998; 2001; Cachapuz *et al.*, 2000; Gil-Pérez, 1993; Hodson, 1994; Pedrosa, 2001a; Valadares, 2001; 2006), pressupõe abordagens de situações problemáticas abertas que os alunos possam considerar interessantes para encontrarem soluções, participando efectivamente na construção de conhecimentos (Gil-Pérez, 1993). Assume-se que “ensinar Ciências já não é ensinar um corpo de conhecimentos, mas é ensinar os alunos a construir o seu próprio conhecimento” (Lucas & Vasconcelos, 2005, np).

Para que o trabalho prático de natureza investigativa valorize e fomente aprendizagens significativas “é necessário que os alunos compreendam, apreciem a importância, adequação e pertinência das actividades propostas e propósitos pretendidos, reconhecendo-lhes interesse e valor” (Pedrosa, 2001a, p.26). Assim, as actividades devem apresentar-se compreensíveis, adequadas, interessantes e com utilidade, para que os alunos se empenhem nas fases de planeamento, implementação e avaliação (*Ibid.*). Para tanto, importa contextualizar os percursos investigativos a realizar pelos alunos, através do tratamento de situações-problema do quotidiano, que permitam não só construir conhecimentos, mas também reflectir sobre os processos das ciências e tecnologias, assim como das suas inter-relações com a sociedade (Cachapuz *et al.*, 2000). Desta forma, facultam-se aos alunos aprendizagens científicas e tecnológicas que oferecem maiores possibilidades de tomada de decisões informadas e de desenvolver competências, atitudes e valores numa perspectiva de cidadania activa e responsável (*Ibid.*). Trata-se de conceber a aprendizagem de ciências, não como simples mudança conceptual, mas como mudança conceptual, metodológica e atitudinal (Gil-Pérez, 1993).

Uma das condições necessárias para aprendizagens significativas de conteúdos escolares “é a sua transposição para contextos potencialmente significativos” para os alunos (Pedrancini *et al.*, 2007, p.306), de que constitui exemplo, a apropriação de conceitos fundamentais como DNA, cromossomas e genes na compreensão de questões polémicas do quotidiano das pessoas, como as relacionadas com os alimentos transgénicos (*Ibid.*) Neste sentido, a escolha de situações-problema deve inserir-se e articular-se com a integração de inter-relações CTS em educação em ciências (Cachapuz *et al.*, 2000; Pedrosa, 2001a), como ponto de partida para o desenvolvimento de percursos investigativos resultantes de questões e problemas importantes para os alunos (Pedrosa & Moreno, 2007), com a finalidade de dar mais sentido ao que se aprende (Cachapuz *et al.*, 2000). Neste contexto e numa perspectiva de educação científica tripolar (Loureiro *et al.*, 2008), devem articular-se as dimensões de educação *em, sobre e*

pelas ciências (Loureiro *et al.*, 2008; Pedrosa & Moreno, 2007; Santos, 2001), estimulando o reconhecimento do valor social, cultural e ético das ciências e tecnologias, através de um ensino mais humanista que tenha por objectivo a aquisição de uma cultura científica estreitamente relacionada com educação para a cidadania (Santos, 2001).

A Figura 2.16 sumariamente apresenta para as perspectivas educativas analisadas, características, dimensões epistemológicas, tipo de actividades e papel atribuído aos alunos.

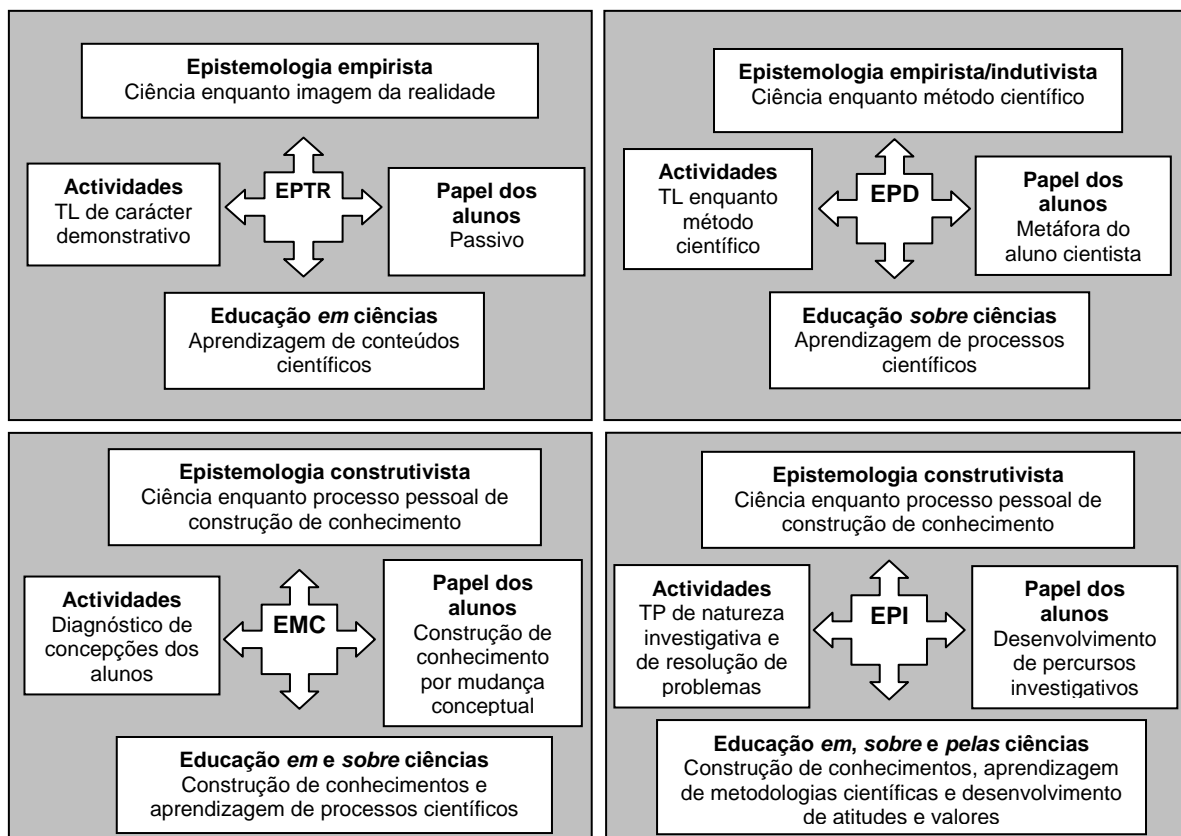


Figura 2.16 – Esquematização das perspectivas EPTR – ensino por transmissão-recepção, EPD – ensino por descoberta, EMC – ensino por mudança conceptual e EPI – ensino por investigação (Baseada em Lucas & Vasconcelos, 2005, np).

2.3.7. PERSPECTIVA INVESTIGATIVA DE TRABALHO PRÁTICO EM EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS

2.3.7.1. IMPORTÂNCIA DA INTEGRAÇÃO DE INTER-RELAÇÕES CTS EM CONTEXTOS DE TRABALHO PRÁTICO INVESTIGATIVO

Nas últimas décadas, os avanços científico-tecnológicos verificados em biologia, sobretudo em biotecnologia, assim como o impacto que esses conhecimentos poderão ter na sociedade, mostram “que a Biologia ensinada em contexto escolar está desarticulada da realidade social” (Martins *et al.*, 2000, p.177). Assim, a “exigência de uma reforma curricular nesta área, resulta de uma consciência pública de que o que aparece nos currículos, não reflecte a Biologia actual, com as suas dimensões pessoal, social e económica” (*Ibid.*).

Os resultados da aplicação de anteriores reformas na educação em ciências marcaram o contexto de emergência de inter-relações CTS, caracterizado pela insatisfação com a “incapacidade da maioria dos alunos [revelada] sobretudo na utilização das informações recebidas durante as aulas e na utilização dos processos científicos treinados e supostamente aprendidos nos laboratórios escolares, em contextos diferentes daqueles onde foram originalmente objecto de tratamento e de aplicação” (Canavarro, 1999, p.118-119). A incapacidade dos alunos para “lidar com a ciência e com a tecnologia em proveito da sociedade” (Canavarro, 1999, p.119) foi o ponto de partida de abordagens CTS em reformas do ensino das ciências nos EUA.

Atendendo aos reduzidos níveis de literacia da população, em geral, o ensino de ciências tem sido objecto de críticas por educadores e investigadores em educação em ciências, devido aos resultados das aprendizagens de ciências escolares estarem longe de satisfazer as necessidades das sociedades actuais (Martins, 2002). Neste quadro, torna-se claro que a actual educação em ciências não pode guiar-se por orientações do passado, pois os avanços científicos e tecnológicos repercutem-se na sociedade e influenciam também “o que nela [escola] se ensina e o modo como se ensina” (Martins, 2002, p.29).

Educação CTS visa promover a alfabetização científica e tecnológica, de modo a capacitar os cidadãos para participarem em processos democráticos de tomada de decisões informadas e de acções responsáveis, com vista à resolução de problemas da sociedade relacionados com ciências e tecnologias (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003; Cabo-Hernández *et al.*, 2006; Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006; Membiela, 2000). Nesta

perspectiva, a alfabetização científica consiste, nomeadamente em saber usar as ciências em situações da vida quotidiana com propósitos cívicos e sociais, pelo que o seu ensino deve ter “auténtica relevancia social para el alumnado, incluyendo los valores éticos y democráticos que se ponen en juego cuando intervienen la ciencia y la tecnología en la sociedad” (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003, p.82). A inclusão da perspectiva social de ciências e tecnologias em educação em ciências, com o objectivo de promover uma orientação mais adequada para a alfabetização científica e tecnológica de todas as pessoas (Acevedo-Díaz & Alonso, 2003; Acevedo-Díaz *et al.*, 2003), corresponde ao melhor contributo para o desenvolvimento de cidadãos do século XXI (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003).

Nos últimos anos, a “necesidad de una alfabetización científica y tecnológica como parte esencial de la educación básica y general de todas las personas” marca as finalidades da educação em ciências (Acevedo-Díaz, 2004, p.7). Esta preocupação é igualmente referida no âmbito de políticas educativas de organismos internacionais, como o *International Council for Science* (UNESCO-ICSU) e a *Organización de Estados Iberoamericanos para la Educación, la Ciencia e la Cultura* (OEI, 2001). Nos EUA, as reformas do *Project 2061*, propostas pela *American Association for the Advancement of Science* (AAAS), descritas nos relatórios *Science for All Americans* (AAAS, 1990) e *Benchmarks for Science Literacy* (AAAS, 1993), e o documento intitulado *National Science Education Standards* do *National Reserch Council* (NRC, 1996), têm por objectivo comum promover a literacia científica de todos os alunos.

A integração de inter-relações CTS nos currículos de ciências, ao promover uma educação de cariz mais humanista, pela ligação a contextos reais (Martins, 2002) e aos interesses e experiências pessoais e sociais dos alunos, visa desenvolver a compreensão pública das ciências e tecnologias (Acevedo-Díaz, 2004; Acevedo-Díaz *et al.*, 2003). Educação em ciências de cariz humanista (Acevedo-Díaz, 2004; Martins, 2002) deve ser “capaz de preparar melhor os alunos para a compreensão do mundo e das inter-relações do conhecimento científico e tecnológico na sociedade” (Martins, 2002, p.30). Gordillo (2003) resume a educação CTS em dois propósitos: “mostrar que la ciencia y la tecnología son accesibles e importantes para los ciudadanos (por tanto, es necesaria su alfabetización tecnocientífica) y propiciar el aprendizaje social de la participación pública en las decisiones tecnocientíficas (por tanto, es necesaria la educación para la participación también en ciencia e tecnología)” (p.389).

Para promover a alfabetização científica e tecnológica (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003) importa orientar a educação em ciências, incluindo problemas reais e actuais (Martins,

2002), através da selecção de temas sócio-científicos, com utilidade para os alunos e relacionados com a vida quotidiana, “a partir dos quais ganha relevância e sentido a aprendizagem dos conceitos científicos” (Martins *et al.*, 2000, p.170), por exemplo, envolvendo-os em trabalho prático numa perspectiva investigativa e de resolução de problemas. Deste modo, as aprendizagens serão mais significativas e duradouras (Canavarro, 1999), deixando “de ter sentido o ensino de conceitos pelos conceitos, não por estes não terem valor intrínseco mas porque a sua importância será melhor percebida pelo aluno (...) se eles aparecerem como via para dar sentido aquilo que é questionado” (Martins, 2002, p.30). Os interesses dos alunos devem, pois, ser valorizados, cabendo ao professor diagnosticá-los para em seguida “transmitir conceitos e processos científicos fundamentais, cuja utilidade para a resolução de problemas dos alunos se faça sentir, se possível ao nível pessoal, social e de carreira” (Canavarro, 1999, p.123).

Esta orientação dos programas por contextos CTS, ao tornar mais evidente as ciências na vida quotidiana dos alunos (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003), além de os motivar para a sua aprendizagem, promove imagens mais reais, completas e contextualizadas das ciências, contribuindo para desenvolver atitudes mais positivas relativamente às ciências (Chagas & Oliveira, 2000; Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006), a profissões científicas e à utilidade das aulas de ciências (Canavarro, 1999). Pelas mesmas razões, a integração de inter-relações CTS em contextos problemáticos orientadores de trabalho prático investigativo deve constituir ponto de partida no desenvolvimento de percursos investigativos. Assim, situações problemáticas actuais de relevância social, ética e política devem apresentar-se aos alunos para criar oportunidades de reflexão, de formulação de opiniões e de desenvolvimento do pensamento crítico, aspectos considerados fundamentais na formação de indivíduos socialmente intervenientes e com capacidade de resposta aos problemas científico-tecnológicos do mundo contemporâneo (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006). Ao destacar as implicações das ciências e tecnologias na sociedade, a educação CTS promove o enquadramento social dos conteúdos científico-tecnológicos (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003), visando a tomada de decisões de forma mais racional e fundamentada sobre questões científico-tecnológicas de interesse público (Acevedo-Díaz *et al.*, 2003; Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006), no exercício de uma cidadania responsável (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006). Ajudando os alunos “a avaliar as repercussões sociais da Ciência e da Tecnologia, a compreender a contribuição da Ciência e da Tecnologia para a criação e/ou resolução de problemas

sociais” (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006, p.88), pode aumentar-se o seu interesse pelas próprias ciências (Acevedo-Díaz, 2004; Acevedo-Díaz *et al.*, 2003).

Os resultados de uma intervenção sobre OGMs, em especial sobre alimentos transgênicos, com alunos do ensino secundário de áreas curriculares distintas (com e sem Biologia), evidenciam o impacto de abordagens de temas de forte cariz CTS (Santos & Martins, 2009). O workshop baseou-se na realização de actividades diversificadas que incluíram desde a leitura de artigos, análise de rótulos de produtos alimentares, pesquisa de informação na Internet, até à realização de actividades prático-laboratoriais de extracção de DNA de tecidos animais e vegetais. A participação dos alunos permitiu-lhes recolher informações para uma escolha mais consciente e fundamentada em tomadas de decisão futuras sobre OGMs. Os resultados mostraram que os participantes consideraram o tema relevante e interessante para ser estudado por todos os alunos e não apenas por aqueles que escolheram áreas científicas com Biologia.

Em suma, investigadores em educação em ciências salientam, cada vez mais, a relevância da discussão, em contextos escolares, de questões sócio-científicas controversas e actuais, que justificam pelas suas potencialidades para: a) aprender conteúdos e processos científicos; b) desenvolver imagens mais reais e humanas relativamente à consecução de actividades científicas, inerentemente complexas; c) promover o desenvolvimento de competências relevantes para a vida; d) promover literacia científica, fundamental na preparação dos alunos para uma participação activa e responsável na sociedade (Reis & Galvão, 2008). Contudo, pese embora o seu elevado potencial educativo, estas actividades não constituem uma prática comum nas aulas de ciências (Cabo-Hernández *et al.*, 2006; Reis & Galvão, 2008), “mesmo quando integram as orientações curriculares e os professores consideram importante a sua realização” (Reis & Galvão, 2008, p.746). De entre as principais causas para a sua não realização apontam-se: a) escassez de materiais curriculares adequados (Acevedo-Díaz *et al.*, 2002; Chagas & Oliveira, 2005); b) falta de preparação dos professores (Acevedo-Díaz *et al.*, 2002; Reis & Galvão, 2008), quer no que diz respeito à concepção e orientação de actividades de discussão em sala de aula, quer na carência de conhecimentos necessários à discussão de questões sócio-científicas; c) constrangimentos impostos por programas disciplinares demasiado extensos; d) tipo de exames nacionais, que enfatiza a memorização e não valoriza estes temas, conduzindo a práticas docentes pouco centradas em análise crítica e discussão (Reis & Galvão, 2008).

2.3.7.2. INVESTIGAÇÕES E TRABALHO PRÁTICO ORIENTADO POR PROBLEMAS

O grau de participação de professores e alunos em trabalho prático de natureza investigativa, envolvendo a resolução de problemas, está estreitamente relacionado com a importância e o interesse dos problemas identificados para o efeito, pelo que importa esclarecer o que se entende por problema (Almeida, 2001). A esta palavra têm sido atribuídos diferentes significados, de acordo com os contextos em que é usada (Esteves & Leite, 2006). No dia-a-dia, reveste-se de conotação negativa, pois representa um facto, acontecimento ou situação causadora de preocupação e de alguma tensão, sobretudo por não se conhecer, à partida, a solução ou soluções possíveis (*Ibid.*). Caracteriza-se principalmente pela existência de um objectivo a ser alcançado e por corresponder a uma tarefa cuja resolução não implica um caminho directo, evidente e imediato (Almeida, 2001; Caballer *et al.*, 1995), pelo que “implica a escolha de métodos que permitam aceder às “melhores soluções”, e não às “respostas certas”” (Almeida, 2001, p.61). Corresponde a uma situação de conflito para a qual não se dispõe de resposta imediata, nem de um algoritmo que oriente a sua resolução (Garret, 1995) e que pode ter uma ou várias soluções e/ou respostas possíveis ou até nenhuma (Almeida, 2001; Esteves & Leite, 2006).

Em educação em ciências considera-se que um problema corresponde a uma situação para a qual não se tem uma resposta imediata e, portanto, a solução ou o caminho para a solução, passa pela planificação de investigações (Escudero & Moreira, 1999). Assim, as investigações como actividades que valorizam problemas e a sua resolução desenvolvem-se a partir de contextos problemáticos e da formulação de problemas, cuja solução ou soluções, por não serem conhecidas, requerem o delineamento de estratégias para as encontrar (Pedrosa, 2001a).

Atendendo aos vários significados atribuídos a problema, torna-se evidente que a sua resolução corresponde a um “projecto pessoal que envolve componentes cognitivas e não-cognitivas” (Almeida, 2001, p.62), uma vez que envolve curiosidade, interesse e desejo de encontrar soluções e/ou respostas, assim como, imaginação e criatividade na definição de estratégias ou caminhos para o resolver. Os problemas podem ser resolvidos por meio de diversas estratégias, por exemplo, recorrendo a papel e lápis, pesquisa bibliográfica, investigações com recurso a trabalho laboratorial e de campo, inquéritos por questionários e/ou entrevistas (Esteves & Leite, 2006). Porém, frequentemente confunde-se problema com exercício, pelo que importa clarificar o

significado deste último. Os exercícios correspondem a actividades que têm por finalidade exercitar determinadas operações ou procedimentos matemáticos, que apelam à memorização, e cujo processo de resolução envolve resposta ou solução única (Esteves & Leite, 2006) e que, no contexto de trabalho prático, correspondem a actividades do tipo receita (Dourado, 2001b).

Tradicionalmente a resolução de problemas associa-se às disciplinas de Matemática e Física e Química, e corresponde a actividades que envolvem cálculos e aplicação de fórmulas, isto é, equivale a problemas fechados (ou exercícios), com um só caminho de resolução, que favorecendo a memorização de algoritmos são facilmente esquecidos (Caballer *et al.*, 1995). Actualmente, além de outras visões, como as que valorizam problemas abertos, a resolução de problemas aplica-se noutras disciplinas, particularmente em Biologia e Geologia, por exemplo, na realização de trabalho prático de natureza investigativa (Dourado, 2001b).

A resolução de problemas deve ultrapassar contextos de educação científica formal, sendo “de considerar a sua relevância nas situações do dia-a-dia do aluno e na vida quotidiana de qualquer cidadão” (Dourado, 2001b, p.75). Destaca-se que uma atitude aberta à resolução de problemas favorece o desenvolvimento de competências necessárias para os enfrentar e resolver, a fim de que possam ser aplicados novos conhecimentos e aptidões em diversos contextos (*e.g.* educação, trabalho, vida pessoal), e desenvolver aprendizagens ao longo da vida (JOUE, 2006). A crescente facilidade com que actualmente se acede à informação e divulgação de conhecimentos científicos e tecnológicos, requer que qualquer cidadão disponha de “estruturas de pensamento que permitam seleccionar, interpretar, criticar, comparar e sistematizar a informação disponibilizada” (Veiga, 2000, p.545), de forma a avaliar a sua qualidade, para a tomada de decisões de modo informado, com base em evidências científicas credíveis (Esteves & Leite, 2006).

A resolução de problemas assume papel relevante na educação para a cidadania, por permitir a construção de conhecimentos e o desenvolvimento de competências, que os cidadãos devem dispor (*e.g.* pesquisar, seleccionar, prever, planear, formular hipóteses, controlar variáveis) quando enfrentam problemas no seu dia-a-dia (Vasconcelos *et al.*, 2007). Assim, “mais importante do que aprender muitos conteúdos conceptuais é [necessário] desenvolver competências importantes que permitam manter actualizada uma cultura científica ao longo da vida, ou seja, que permitam aos cidadãos tornar-se capazes de *aprender a aprender*” (Esteves & Leite, 2006, np), única garantia da adaptação dos jovens aos desafios das sociedades contemporâneas (Vasconcelos *et al.*,

2007). O desenvolvimento de competências investigativas, que permitam “*aprender a aprender*” (Miguéns & Serra, 2000, p.564), requer que se ensine os alunos a investigar. Não é apenas pela participação em trabalhos investigativos que se aprende a investigar, “aprende-se, se se pensar “porque é que se vai fazer” e qual a melhor forma de o fazer e também se, depois de se fazer (...), se pensar como se pode melhorar o que se fez, de modo a chegar a resultados mais válidos” (Miguéns & Serra, 2000, p.571).

Os alunos desde muito jovens devem, em contextos escolares, desenvolver “competências de observar, levantar questões, experimentar e investigar, raciocinar sistemática e logicamente, apreciar e comunicar resultados e a desenvolverem atitudes de curiosidade, cooperação, autocrítica, responsabilidade e independência de pensamento” (Veiga, 2000, p.545). Os actuais enfoques relativos à resolução de problemas destacam diversos conhecimentos procedimentais, que podem e devem ser ensinados como conteúdos escolares objecto de intervenção educativa, através da planificação e realização de actividades que promovam a sua aprendizagem (De Pro Bueno, 1998), designadamente pelo envolvimento dos alunos em trabalho prático de natureza investigativa. Pese embora a dificuldade de encontrar uma definição concreta e precisa do que são conhecimentos procedimentais, De Pro Bueno (2000) salienta que não são: a) exclusivos de actividades laboratoriais; b) limitados à observação e medição; c) independentes de conhecimentos conceptuais e atitudinais; d) conhecimentos inatos que se adquirem por casualidade. Este autor classifica os conhecimentos procedimentais em três categorias:

1. Competências investigativas – identificação de problemas (formulação de questões); formulação de hipóteses e previsão de dados e/ou resultados; relações entre variáveis (identificação de variáveis dependentes – o que vou fazer variar, independentes – o que vou medir/observar, e de controlo – o que vou manter constante); desenhos experimentais; observação; medição; classificação; técnicas de investigação (domínio de técnicas de trabalho laboratorial e definição de estratégias para a resolução de problemas); tratamento e análise de dados; elaboração de conclusões;
2. Competências manipulativas – manipulação de materiais e equipamentos; realização de montagens e simulações; construção de aparelhos;
3. Competências de comunicação – análise de material escrito; pesquisa e utilização de dados e informações de diversas fontes; elaboração de relatórios (descrição de experiências e processos vividos).

A realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa pressupõe: a formulação de questões; a selecção de métodos e o delineamento de estratégias para as resolver; a descrição dos procedimentos a adoptar; a indicação do tipo de dados a recolher e a forma de os registar; a realização das vias de experimentação delineadas; o registo e interpretação de dados recolhidos; o confronto de resultados com a hipótese de partida; a discussão da validade das respostas e a comunicação dos resultados e/ou soluções obtidas (Leite, 2001; Miguéns & Serra, 2000; Veiga, 2000). O formato investigativo proporciona aos alunos a possibilidade de usarem capacidades de pensamento (e.g. formular questões e hipóteses, efectuar previsões, analisar dados, apresentar conclusões, comunicar resultados) (Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006) consideradas imprescindíveis na formação científica dos alunos (De Pro Bueno, 2000). Assim, potencia o uso de processos cognitivos de elevada ordem (Valverde *et al.*, 2005; 2006) e permite “maior aproximação à natureza da actividade científica, [além da] promoção do desenvolvimento da imaginação, da capacidade de sistematização, reflexão e análise, da capacidade crítica e da consciencialização sobre os limites das conclusões” (Veiga, 2000, p.548).

Esta perspectiva de trabalho prático fomenta situações de aprendizagens significativas, uma vez que os alunos através dos seus conhecimentos prévios podem “explorar o alcance e limitações de certos modelos e teorias, testar experimentalmente ideias alternativas e ganhar confiança na sua aplicação e/ou investigar as aplicações práticas de conteúdos científicos previamente adquiridos” (Almeida, 1998, p.5; Almeida, 2001, p.69). Para tal, requer-se a criação de ambientes de aprendizagem favoráveis a situações de debate, confronto de ideias e articulação de conhecimento conceptual e processual, aspectos cruciais para a elaboração de um quadro teórico de referência determinante do desenrolar das investigações nas fases de planificação, implementação e avaliação (Almeida, 2001). Recomenda-se, então, que em trabalho prático de natureza investigativa as actividades “sejam definidas, concebidas e interpretadas no âmbito de uma determinada matriz teórica, na medida em que é esta matriz que orienta a percepção do problema, [e] determina o planeamento experimental” (Almeida, 2001, p.58), no que se refere à selecção de variáveis, aos materiais e equipamentos a utilizar, aos registos a efectuar, influenciando a interpretação de resultados, a elaboração de conclusões e a avaliação crítica do trabalho realizado. Trata-se de trabalho prático “*más teórico y más investigativo*” (García-Barros, 2000, p.49), em que se reconhece a dependência teórica da observação e experimentação (Hodson, 1993; 1994; 2000; Lucas & Vasconcelos, 2005), considerando que “los experimentos ayudan a construir la teoría y

la teoría determina el tipo de experimentos que se realizan” (Barberá & Valdés, 1996, p.370). Não se aplica um algoritmo de regras fixas através de “um método científico, único e universal, que permita aceder ao conhecimento do mundo, mas várias metodologias que dependem do problema a investigar e dos contextos de investigação” (Almeida, 2001, p.59). Na realidade, a prática científica é uma actividade incerta, imprevisível e intuitiva que exige a cada investigador idealizar a sua própria maneira de actuar (Barberá & Valdés, 1996; Hodson, 1994; 2000) e que requer uma multiplicidade de métodos e processos em função dos seguintes aspectos: objectivos pretendidos, conteúdos científicos envolvidos, contextos de aprendizagem (Almeida, 2001), objecto de estudo, conhecimento teórico prévio relevante, experiência do investigador e meios técnicos disponíveis (Barberá & Valdés, 1996). O facto da comunidade científica utilizar “como criterio de calidad de la investigación los métodos empleados en llevarla a cabo es una muestra clara de la existencia de numerosas y plurales metodologias”, bem como da sua importância na actividade científica (Barberá & Valdés, 1996, p.375). Os investigadores ao planearem estratégias escolhem as metodologias que consideram adequadas ao trabalho que pretendem realizar, seleccionando processos e procedimentos de entre os que existem disponíveis e que são aceites pela comunidade científica (Hodson, 1994; 2000).

Esta perspectiva de trabalho prático, como “processo pessoal e social de construção do conhecimento” (Almeida, 2001, p.59), apela ao poder de iniciativa dos alunos e à tomada de decisões para ultrapassar dificuldades, criando oportunidades para desenvolvimento de trabalho cooperativo e autónomo (Miguéns & Serra, 2000). Segundo Almeida (2001), a componente pessoal é entendida pelo envolvimento efectivo dos alunos nas diversas fases da investigação, não se restringindo à experimentação e observação. Assim, os alunos desempenham papel activo em todas as fases da investigação, devendo o professor estimular cada uma delas de forma a assegurar a progressão dos trabalhos (Veiga, 2000). Enquanto componente social salienta-se como actividade cooperativa, centrada no trabalho de grupo, nomeadamente em pequenos grupos e/ou grupo-turma, onde a relação com os outros assume especial relevância (Almeida, 2001), uma vez que os alunos trabalham na concretização de um objectivo comum, que é alcançado individualmente, se os restantes membros do grupo também o alcançarem (Valverde *et al.*, 2005). Permite desenvolver competências relacionadas com o *saber ser* e *saber estar*, sobretudo as que dizem respeito à comunicação, relação entre pares, cooperação, tolerância e respeito mútuo (Esteves *et al.*, 2006). Envolve negociação em pequeno grupo e/ou grupo-turma na tomada das seguintes decisões:

formulação de questões de investigação, preferencialmente a partir de contextos que se apresentem relevantes e interessantes para os alunos (Pedrosa, 2001a; Pedrosa & Moreno, 2007); planificação de estratégias; selecção de procedimentos, materiais e equipamentos; resultados a obter e registos a fazer (Almeida, 2001). Finalizados os procedimentos, o tratamento de dados, a interpretação de resultados e o seu confronto com as hipóteses e previsões inicialmente formuladas, avaliam-se as estratégias e os processos desenvolvidos, sem as pressões e o constrangimento de se chegar à *resposta certa*, criando oportunidades para os alunos (re)pensarem as suas ideias e estratégias (Almeida, 1998; 2001). A avaliação realizada durante o desenvolvimento de percursos investigativos desempenha um papel fundamental na tomada de decisões que visem a reformulação do projecto inicial ou o desenvolvimento novas investigações (Almeida, 2001). Para tal, a partir da análise crítica dos resultados obtidos e das soluções encontradas, várias decisões se afiguraram possíveis: a conclusão do percurso investigativo por se ter encontrado uma solução adequada ao problema de partida, a reformulação do desenho experimental ou, apenas, a alteração de técnicas laboratoriais e a identificação de novos problemas (*Ibid.*). A avaliação dos percursos investigativos leva, por vezes, a novas ideias, perspectiva estratégias diferentes, conduz à reformulação do problema de partida e à formulação de outras questões, alvo de novas investigações, aspectos que apoiam a visão da ciência como uma actividade dinâmica e interactiva pela constante interacção entre pensamento e acção (Hodson, 1994; 2000). Assim, os alunos “aprendem que no todas las preguntas y problemas tienen una única solución o una respuesta correcta, y que muchas “soluciones” son provisionales y necesitan ser mejoradas con una investigación posterior. En otras palabras, la práctica de la ciencia a menudo genera tantas preguntas como respuestas puede ofrecer” (Hodson, 1994, p.309). A Figura 2.17 representa um diagrama de um ciclo de investigação (Gil-Pérez, 1993) em que se perspectiva o carácter dinâmico e aberto da actividade científica.

Em educação em ciências é fundamental promover imagens mais adequadas da construção de conhecimentos, consentâneas com as formas de trabalhar dos cientistas, pelo que se requer envolvimento intelectual e emocional dos alunos nas diferentes etapas dos percursos investigativos, que permita designadamente a (re)construção, consolidação e articulação de conhecimento teórico-conceptual e prático-processual (Pedrosa, 2001a). Buxton (2006) refere que a autenticidade da educação em ciências deve aferir-se, tanto quanto possível, ao mundo real das práticas levadas a cabo pelos cientistas: “science education is authentic when it is as similar as possible to the real-world activities of practicing scientists” (p.697)”.

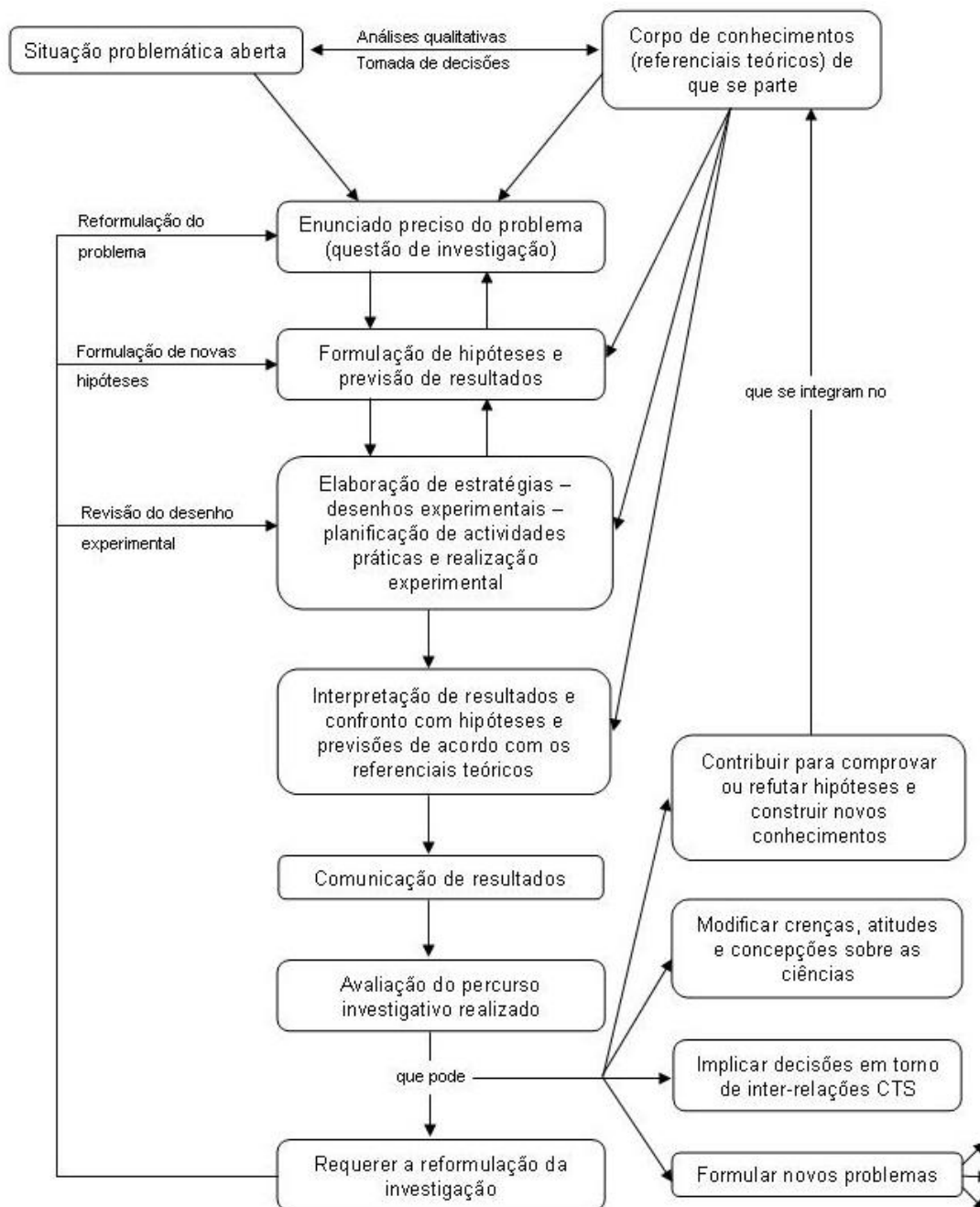


Figura 2.17 – Diagrama de um ciclo de investigação (Adaptada de Gil-Pérez, 1993, p.206).

As actividades laboratoriais “em que o processo de construção dos conhecimentos científicos pelos alunos, de uma forma ou de outra, é orientado por formas como se pensa que cientistas académicos os constroem, podem ser englobadas” na aprendizagem sobre a natureza das ciências (Santos, 2001, p.89), que vem sendo reclamada como um objectivo importante em educação em ciências (Acevedo-Díaz, 2008). Importa destacar que a participação dos alunos em trabalho prático de natureza

investigativa e de resolução de problemas contribui para melhorar a compreensão sobre a natureza das ciências (Almeida, 2001; Hodson, 1994; 2000; Leite & Figueiroa, 2004; Miguéns, 1999) e da actividade científica, além de promover o interesse e o gosto pelas ciências e sua aprendizagem (Almeida, 2001).

Trabalho prático concebido como actividade investigativa e de resolução de problemas corresponde à modalidade que apresenta maior potencialidade “de desenvolver não só uma imagem adequada dos processos de construção de conhecimento nos laboratórios de investigação mas também de permitir aos alunos irem aprendendo a fazer ciência” (Leite, 2001, p.88). É, assim, indispensável na “aprendizagem do “fazer ciência”, dos métodos e procedimentos usados pelos cientistas para investigar fenómenos e resolver problemas” (Miguéns, 1999, p.82). Como consequência, “la práctica de la ciencia es el único medio de aprender a hacer ciencia y de experimentar la ciencia como un acto de investigación” (Hodson, 1994, p.310). A prática da ciência envolve três características: 1) aumenta a compreensão conceptual do tema investigado; 2) melhora a aprendizagem de metodologias científicas (relações entre observação, experimentação e teoria); 3) promove o desenvolvimento de competências investigativas (Hodson, 1994; 2000).

Esta modalidade de trabalho prático é, indiscutivelmente, aquela que contribui para o desenvolvimento de competências mais diversificadas, consideradas “fundamentais para a formação de cidadãos cientificamente [literatos] capazes de se adaptarem a um mundo em mudança e de participarem na resolução de problemas e na tomada de decisão sobre questões sociais que envolvem a ciência e a tecnologia” (Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006, p.455). Neste contexto, “as investigações, mais do que apenas uma estratégia de ensino, podem constituir uma nova forma de encarar o ensino e a aprendizagem das ciências” (Miguéns & Serra, 2000, p.555), sobretudo, pelo facto da aprendizagem ser vista como um processo activo em que os alunos constroem e reconstroem o seu próprio conhecimento, à luz das suas experiências (Hodson, 1994; 2000) e concepções prévias, envolvendo-se pessoal e socialmente na construção de significados (Miguéns & Serra, 2000).

As actividades laboratoriais constituem contextos escolares favoráveis à aprendizagem da identificação de evidências, ou seja, dados relevantes para testar ideias ou construir argumentos necessários à elaboração de explicações e à formulação de conclusões (Leite & Esteves, 2005). Enquadram-se neste âmbito as investigações, que por requerem o desenho de estratégias, envolvem a identificação de evidências que possibilitem testar determinadas ideias e hipóteses, e elaborar conclusões a partir de

evidências escolhidas entre os dados obtidos no laboratório (*Ibid.*). Miguéns & Serra (2000) propõem que se integre em educação em ciências a: “a) procura, recolha, tratamento e a apresentação de evidências; b) exploração e o uso dessa evidência na construção de argumentos; c) conjugação complexa desses aspectos na elaboração de explicações científicas para os fenómenos” (p.558-559).

A apresentação dos percursos investigativos realizados pelos alunos constitui uma actividade recomendada para desenvolver competências de comunicação consideradas cruciais na actividade científica (Caamaño & Corominas, 2004; Gil-Pérez & Valdés-Castro, 1996). A comunicação “desempenha papel central no desenvolvimento de *tp* e a sua apresentação, discutindo e argumentando o *que*, *para quê*, *porquê*, como se desenvolveu, que resultados se registaram e porque se registaram de determinada maneira, que conclusões se extraíram e em que evidências se basearam” (Pedrosa, 2001a, p.26). Pode assumir formatos e suportes diversos, designadamente relatórios, posters, debates e apresentações orais (Esteves & Leite, 2006). No que se refere à comunicação escrita, salienta-se a elaboração de relatórios através da construção de recursos heurísticos (Vês de Gowin e mapas de conceitos) e, para a comunicação oral, destacam-se as apresentações em *PowerPoint*[®], com uma breve descrição das etapas do percurso investigativo realizado, que incluam, entre outros, fotografias, gráficos, tabelas e esquemas para mostrar o desenho experimental, os resultados obtidos e as conclusões efectuadas.

Na implementação deste tipo de trabalho prático, Caamaño (2004) e Caamaño & Corominas (2004) propõem as seguintes fases: 1) apresentação da situação-problema; 2) planificação; 3) realização experimental; 4) tratamento de dados; 5) avaliação de resultados; 6) comunicação da investigação.

A Tabela 2.11 apresenta um guião orientador de trabalho prático numa perspectiva investigativa, com base em questões relativas a cada uma das fases anteriormente referidas (Caamaño & Corominas, 2004; Grau, 1994).

Tabela 2.11 – Orientações de um guião para a realização de investigações.

1. Apresentação da situação-problema
<ul style="list-style-type: none"> • Qual o problema de investigação? • Como se apresenta na forma de questão? • Que hipóteses e previsões podem formular-se?
2. Planificação
<ul style="list-style-type: none"> • Que materiais e equipamentos utilizar? • Quais as variáveis independentes, dependentes e de controlo? • Que procedimentos adoptar? • Quais os cuidados a ter?
3. Realização experimental
<ul style="list-style-type: none"> • Quais os registos e observações a fazer?
4. Tratamento de dados
<ul style="list-style-type: none"> • Sob que forma serão apresentados os resultados?
5. Avaliação de resultados
<ul style="list-style-type: none"> • Será adequada a (re)solução obtida em função da questão formulada? • Quais os resultados do confronto entre as hipóteses e as previsões com a (re)solução obtida?
6. Comunicação da investigação
<ul style="list-style-type: none"> • Elaboração do relatório final através da construção de recursos heurísticos: Vês de Gowin e mapas de conceitos. • Apresentação oral da investigação realizada em <i>PowerPoint</i>[®].

(Baseada em Caamaño & Corominas, 2004, p.61; Grau, 1994, p.31)

Gil-Pérez (1993) e Gil-Pérez & Valdés-Castro (1996) assinalam dez aspectos da actividade científica, que embora não representem nenhum algoritmo a ser linearmente seguido, são fundamentais na orientação de trabalho prático investigativo baseado na identificação, formulação e resolução de problemas:

1. Apresentar situações problemáticas abertas, com níveis de dificuldade adequados aos alunos a que de destinam (considerando os seus conhecimentos conceptuais e procedimentais), para serem transformadas em problemas concretos. Salienta-se, ainda, “que na criação de situações-problema há que garantir que estas situações constituam desafios que estimulem os alunos a pensar sobre elas e que os alunos sintam ser capazes de as resolver” (Almeida, 2001, p.62);
2. Favorecer a reflexão sobre a relevância e o possível interesse das situações apresentadas, considerando possíveis implicações CTS, de modo a evitar que o percurso investigativo realizado se apresente descontextualizado e socialmente neutro;
3. Valorizar análises qualitativas das situações problemáticas, que permitam a compreensão das situações propostas (de acordo com os conhecimentos prévios e o interesse do problema) e que auxiliem na formulação de perguntas operativas sobre o que se procura. Almeida (2001, p.65) considera que “esta fase de compreensão

conceptual revela-se da maior importância, não só porque nela confluem os conhecimentos prévios dos alunos, mas também porque irá influenciar o desempenho do aluno em todas as outras fases”;

4. Formular hipóteses como parte integrante da actividade científica, que orientem o tratamento das situações problemáticas propostas, de modo a tornar explícitas as concepções prévias dos alunos. Almeida (2001) salienta que as concepções prévias também podem ser utilizadas para os alunos fazerem previsões;
5. Na planificação de actividades práticas, valorizar as estratégias elaboradas pelos próprios alunos – desenhos experimentais. Os desenhos experimentais devem estar concordantes com as hipóteses que se pretendem testar e corresponder ao melhor caminho conducente à resolução do problema de que se partiu (Almeida, 2001);
6. Promover a análise detalhada de resultados (sua interpretação e fiabilidade), de acordo com os conhecimentos disponíveis, as hipóteses formuladas e os resultados de outros grupos de trabalho. Caso necessário aponta-se para a revisão dos desenhos experimentais, das hipóteses e inclusivamente do problema de partida. Especial atenção é necessária para o confronto entre resultados e previsões iniciais, uma vez que a existência de divergências é facilitadora de mudanças conceptuais;
7. Perspectivar a reformulação do percurso investigativo a outro nível de complexidade e a novos problemas, e considerar, especialmente, as implicações CTS do estudo realizado (e.g. possíveis aplicações, repercussões negativas);
8. Solicitar um esforço de integração que valorize o estudo realizado na construção de um corpo coerente de conhecimentos e que perspetive possíveis implicações noutros campos do conhecimento;
9. Atribuir especial importância à elaboração de memórias científicas, que mostrem o trabalho realizado e salientem o papel da comunicação e do debate na actividade científica. Destacam-se Vês de Gowin e mapas de conceitos como formas de apresentar o percurso investigativo realizado;
10. Potenciar a dimensão colectiva do trabalho científico através da organização dos alunos em pequenos grupos e promover a cooperação e o intercâmbio entre eles.

Na preparação e planificação de percursos investigativos os professores devem ter em consideração os conhecimentos (conceptuais e procedimentais) dos alunos (Watson, 1994), uma vez que a capacidade de se envolverem numa determinada investigação depende do domínio dos conceitos e procedimentos a esta associada (Grau, 1994; Watson, 1994). A capacidade dos alunos para formular hipóteses e previsões varia em função dos conhecimentos que possuem sobre os problemas que investigam (Grau, 1994), além da compreensão dos conceitos envolvidos na investigação influenciar o desenho experimental, sobretudo no que diz respeito à selecção de variáveis e à forma de as operacionalizar, ou seja, como as observar ou medir (Watson, 1994). Os professores também devem ter em consideração as competências investigativas e manipulativas de que dispõem os alunos, assim como, as que são necessárias para levar a cabo determinada investigação e as que poderão ser desenvolvidas através dela (Watson, 1994). Em suma, a implementação desta modalidade de trabalho prático implica a escolha de situações-problema adequadas a abordagens investigativas, com utilidade, quer para o desenvolvimento de conhecimentos conceptuais, procedimentais e atitudinais, quer para as aprendizagens e competências que se pretendem promover (Veiga, 2000).

As dificuldades na implementação de trabalho prático de natureza investigativa relacionam-se com os seguintes factores: a) grau de abertura do problema e a idade dos alunos (Caamaño, 2004); b) grau de autonomia no desenho experimental (Grau, 1994); c) complexidade dos conceitos e procedimentos implicados nas investigações e nos contextos em que elas se desenvolvem (Caamaño, 2004; Grau, 1994). Para que a carga conceptual não se transforme num obstáculo intransponível ao seu desenvolvimento, Grau (1994) sugere que as primeiras investigações realizadas pelos alunos devem centrar-se em contextos familiares e requerer apenas conhecimentos limitados dos conceitos envolvidos. As actividades investigativas devem conduzir progressivamente ao envolvimento dos alunos em problemas centrados em contextos menos familiares, onde inicialmente não são necessários conhecimentos aprofundados de natureza conceptual e procedimental, para desenvolverem posteriormente percursos investigativos que requeram conhecimentos mais amplos ou aplicações mais complexas.

Segundo testemunhos de professores, a preferência por actividades laboratoriais demonstrativas resulta de considerarem que o maior grau de abertura e de autonomia dos alunos aumenta a incerteza em relação aos resultados (Marques, 2005). Além das investigações serem mais exigentes no planeamento das actividades laboratoriais, os professores consideram mais difícil controlar os alunos e gerir o tempo. Assim, os

factores que dificultam o desenvolvimento de investigações relacionam-se com o grau de exigência na planificação prévia de todas as actividades a realizar, na preparação de materiais (Marques, 2005) e com a necessidade de mais tempo para obter resultados e elaborar conclusões (Caballer *et al.*, 1995; Caamaño & Corominas, 2004). Caamaño & Corominas (2004, p.62) questionam por “acaso no es mejor hacer menos prácticas y que estas sean más provechosas e ilustrativas de lo que es el trabajo científico?”. Como em trabalhos de investigação não se obtêm resultados imediatos, a exigência de mais tempo constitui parte da aprendizagem acerca da actividade científica (Caballer *et al.*, 1995).

Caamaño & Corominas (2004) referem que a implementação desta modalidade de trabalho prático requer mudanças de mentalidade sobre o papel dos professores na organização das actividades laboratoriais. O professor assume agora um novo protagonismo, como organizador do currículo, seleccionando temáticas e estruturando situações-problema, a partir das quais os alunos formulam problemas e desenvolvem percursos investigativos (Perales, 1994). Os alunos planeiam investigações sob a orientação e supervisão do professor em todas as fases, desde a formulação de problemas, passando pelo planeamento e implementação da investigação, até à sua avaliação (Miguéns & Serra, 2000). Cabe ao professor o papel de conselheiro nas escolhas dos alunos e na clarificação dos caminhos a seguir (Almeida, 2001), de modo a auxiliá-los na tomada de decisões adequadas em cada fase da investigação (Miguéns & Serra, 2000). A planificação de percursos investigativos requer que os professores, em colaboração com os alunos, analisem a sua validade e discutam reformulações a efectuar (Grau, 1994). Por exemplo, o professor deve intervir questionando os alunos de forma intencional, estimulando diálogos e reflexão, procurando clarificar ideias e significados dos conceitos implicados na investigação, de modo a ajudar e encorajar a progressão dos trabalhos (Miguéns & Serra, 2000).

2.3.8. OS PROFESSORES NO CONTEXTO DA EDUCAÇÃO EM CIÊNCIAS

2.3.8.1. CONCEPÇÕES E PRÁTICAS DOS PROFESSORES DE CIÊNCIAS

Os professores são os agentes de mudança mais “importantes para o sucesso educativo e, no caso dos professores de ciências para se conseguir a divulgação e o gosto pela Ciência entre os alunos” (Oliveira, 1999, p.36), pelo que, “tudo aquilo que se

vier a alcançar com qualquer ciclo de estudos dependerá sempre da sua vontade e acção (condicionadas pelas suas concepções e crenças)” (Martins, 2002, p.34).

As concepções “que os professores têm sobre o que é a Ciência, sobre o que é fazer Ciência, sobre o que é “o” método científico, interferem não só no que ensinam, mas, sobretudo, no “como ensinam”” (Praia, 1999, p.61), influenciando, em parte, a planificação de actividades laboratoriais nas aulas de ciências. As relações entre as concepções epistemológicas dos professores de ciências, o papel atribuído às actividades prático-laboratoriais e a forma como as integram nas suas práticas lectivas têm constituído objecto de investigação (Chagas & Oliveira, 2005; Praia & Cachapuz, 1994; Sanches & Jacinto, 2004). O estudo de Praia & Cachapuz (1994), desenvolvido com professores portugueses de ciências do ensino secundário, mostra que as suas concepções são maioritariamente orientadas por perspectivas empiristas/indutivistas em relação à natureza do conhecimento científico, independentemente da área disciplinar e da experiência profissional. Mais recentemente, Dourado & Sequeira (2003, citados em Chagas & Oliveira, 2005, p.255) verificaram “que as concepções que os professores de Biologia revelaram sobre o ensino das ciências em geral e do trabalho laboratorial em particular, foram e continuaram a ser fortemente condicionadas pelos princípios subjacentes à APD (Aprendizagem por Descoberta)”. Chagas & Oliveira (2005, p.192) sugerem existir “uma relação entre as concepções de natureza epistemológica dos professores acerca da ciência e o modo como concretizam o trabalho prático nas suas aulas”. Sanches & Jacinto (2004) salientam que o predomínio de perspectivas epistemológicas empiristas/indutivistas se traduz em actividades prático-laboratoriais como forma de recolha de dados ou informações factuais. Esta perspectiva de ensino tem propiciado a orientação de trabalho laboratorial como exercício guiado para a verificação de conceitos e princípios, de acordo com um modelo de descoberta orientada, em detrimento da visão de trabalho laboratorial como actividade investigativa (Chagas & Oliveira, 2005).

A realização de trabalho prático de natureza investigativa, de acordo com perspectivas epistemológicas construtivistas, parece ser praticamente nula nos estudos realizados por Chagas & Oliveira (2005) e Sanches & Jacinto (2004). Os resultados de um estudo realizado com professores portugueses sobre as práticas de trabalho prático que implementam nas aulas de ciências, revela que não são propostas aos alunos actividades de natureza investigativa, mas sim actividades muito estruturadas de natureza ilustrativa e de baixa exigência conceptual, pelo que “as percepções das professoras acerca de trabalho experimental de natureza investigativa e a sua

competência para o implementar apontam direcções para a formação de professores” (Matos & Morais, 2004, p.93). De igual modo, os resultados do estudo desenvolvido por Marques (2005) com professores de Biologia e Geologia, que incluiu a observação de actividades laboratoriais, permitiu verificar uma visão convencional de trabalho laboratorial. Os professores propuseram aos alunos a realização de actividades de natureza demonstrativa “para a ilustração ou descoberta de conceitos simples a partir de factos fornecidos pela observação de fenómenos naturais ou por uma experimentação “receitada” pelo professor/manual escolar” (Marques, 2005, p.150). Deste modo, parece evidente que “propostas de *tp*, como actividades de selecção, identificação e resolução de problemas, requerendo envolvimento dos alunos e pressupondo abordagens investigativas, parecem raras entre nós” (Pedrosa, 2001a, p.23).

Os professores optam por actividades práctico-laboratoriais centradas na observação e interpretação de resultados, em detrimento de investigações (Miguéns & Serra, 2000). Assim, os alunos limitam-se a realizar actividades fechadas, através da execução de procedimentos descritos em protocolos que darão os resultados pretendidos (Chagas & Oliveira, 2005), com o objectivo de comprovar conhecimentos previamente adquiridos e desenvolver destrezas manuais (Banet, 2007). Por outro lado, Chagas & Oliveira (2005) verificaram que o trabalho práctico constitui um recurso didáctico pouco utilizado em biologia e que, embora os professores atribuam importância à sua realização, consideram difícil fazê-lo por requer, por vezes, uma preparação que poucos reconhecem ter.

Lucas & Vasconcelos (2005, np) verificaram que, em geral, os professores manifestam uma visão empirista das ciências que ensinam, pelo que as suas preocupações se centram na compreensão de conceitos, negligenciando “objectivos que privilegiem o desenvolvimento de capacidades, atitudes (competências) e valores”. Deste modo, os professores assumem papel activo nas suas práticas lectivas, leccionando as aulas em função dos programas disciplinares e das sugestões apresentadas pelos manuais escolares, centrando-se nos conteúdos e na sua transmissão – perspectiva de ensino por transmissão (*Ibid.*). Assim, as finalidades educativas centram-se no desenvolvimento de conhecimentos sobre conceitos, princípios e leis específicas das disciplinas de ciências, transpondo para segundo plano dimensões educativas importantes, como o desenvolvimento de competências características da investigação científica e aprendizagens em contextos CTS (Banet, 2007).

Entre as causas apontadas para as representações manifestadas pelos professores em relação ao modo como orientam as suas práticas lectivas, nomeadamente em trabalho práctico, destaca-se a sua experiência enquanto alunos (Hodson, 1994; Martins,

2002; Pedrosa, 2000; Sanches & Jacinto, 2004). Os professores na qualidade de alunos terão recebido uma formação académica tradicional, que poderá ter contribuído para uma visão do ensino centrada na dimensão conceptual (Banet, 2007), pela contínua exposição a conteúdos científicos e a trabalho prático padronizado (Pedrosa, 2000).

Em Portugal, apesar da falta de estudos sobre as práticas de ensino veiculadas em educação em ciências no ensino superior, parece razoável admitir que serão fundamentalmente de natureza transmissiva, com a valorização de conhecimentos de natureza conceptual (conceitos, leis e teorias) e o predomínio de actividades que envolvem a resolução de exercícios em detrimento da resolução de problemas abertos (Martins, 2002), onde se enquadra o desenvolvimento de trabalho prático numa perspectiva investigativa. Presume-se que os alunos de ciências durante o seu percurso escolar, no ensino secundário e na universidade, terão desenvolvido trabalhos práticos concordantes com visões tradicionais de educação em ciências (Pedrosa & Dourado, 2000), em detrimento da realização de investigações. Dado que, “os professores tendem a reproduzir a forma como foram ensinados” (Morais, 2002, p.59), presume-se que orientem as suas práticas lectivas em sintonia com as formas de actuação que vivenciaram ao longo do seu processo pessoal de formação (Pedrosa, 2001a; 2001b). Deste modo, o que mais influencia as perspectivas dos professores são os modelos de ensino que vivenciaram, não sendo, por isso, “legítimo admitir que os jovens professores ao chegarem às escolas se sintam confortáveis e com coragem para fazer de forma diferente daquela que viram fazer” Martins (2002, p.34). Mais, “pedir a alguém que faça algo que desconhece, nem é intelectualmente defensável, nem, (...) eticamente aceitável” (Pedrosa, 2001b, p.45).

A formação disciplinar dos professores nos cursos de formação inicial é manifestamente insuficiente e incompleta na preparação didáctica em âmbitos específicos, como a aprendizagem de metodologias científicas, através do desenvolvimento de trabalho prático numa perspectiva investigativa, e a integração de inter-relações CTS (Banet, 2007). O facto dos professores de ciências não estarem adequadamente preparados para desenvolverem estas abordagens, constitui um dos principais obstáculos à implementação de orientações educativas diferentes das tradicionais e, sentindo insegurança face à inovação, optam por formas simples que conhecem, dominam melhor e com as quais se sentem mais confortáveis (*Ibid*). Educação em ciências que valorize a integração de inter-relações CTS nas práticas lectivas “só poderá ser uma realidade quando o for nas nossas universidades” (Martins, 2002, p.34). O mesmo se aplica a trabalho prático numa perspectiva investigativa.

2.3.8.2. FORMAÇÃO CONTÍNUA PARA A MUDANÇA DE PRÁTICAS DOS PROFESSORES

Actualmente, a formação contínua de professores é considerada central na política educativa, não só pela permanente mudança e constante evolução científica e tecnológica, mas, fundamentalmente, pela necessidade de implementação de reformas educativas (Macedo *et al.*, 2001) com sucesso, sobretudo ao nível das metodologias preconizadas para a educação em ciências veiculadas pelas orientações curriculares e pelos programas disciplinares (Gabriel *et al.*, 2006). A realidade do que é hoje a profissão de professor determina um elevado grau de exigências profissionais e de competências pessoais em diversos domínios, que excedem as possibilidades de uma formação inicial para toda a vida, tornando imprescindível a formação contínua para melhorar a educação escolar (Magalhães, 2005). Esta “formação não pode ser pontual nem fragmentada, mas deve ser realizada segundo um *projecto coerente e contínuo ao longo da vida profissional do professor*” (Oliveira, 1999, p.42). Por outro lado, os professores, em geral, estão pouco familiarizados com resultados da investigação e inovação educativa, designadamente com a aprendizagem através da observação e reflexão crítica das próprias práticas lectivas, além de não estarem cientes das suas carências nestes domínios (Lucas & Vasconcelos, 2005).

Efectivamente, a profissão docente exige permanente actualização de saberes científicos disciplinares e didáctico-pedagógicos, com vista à consecução de práticas lectivas científica e pedagogicamente capazes de responder às mudanças que caracterizam os actuais contextos educativos em ciências (Chagas & Oliveira, 2005). As inovações propostas “só [poderão] ser [levadas] à prática eficazmente se se proporcionar aos professores meios para uma formação adequada nos múltiplos domínios que se põem em causa; de outro modo, as mudanças educativas desejadas dificilmente serão bem sucedidas” (Macedo *et al.*, 2001, p.61). Por outro lado, as reformas educativas requerem que os professores pensem e actuem de forma diferente da que estão habituados; as reformas educativas, e mesmo as mudanças curriculares, estarão “votadas ao fracasso quando os professores não são envolvidos no processo de mudança, quando não se identificam com o sentido das mudanças e não reconhecem a sua necessidade” (Mestre *et al.*, 2004, p.21).

De acordo com a Lei de Bases do Sistema Educativo, a formação contínua de professores, entendida como formação profissional posterior à inicial, deve ser concebida de modo que “complemente e actualize a formação inicial numa perspectiva de educação

permanente” e se baseie “em práticas metodológicas afins das que o educador e o professor vierem a utilizar na prática pedagógica”, além de dever corresponder a uma “formação participada que conduza a um prática reflexiva e continuada de auto-informação e auto-aprendizagem” (artigo 33.º, alíneas b, e, h, respectivamente). Com base nestes princípios, o Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores (artigo 3.º) defende a melhoria da qualidade do ensino e das aprendizagens, numa perspectiva de actualização e aprofundamento de conhecimentos, e de aperfeiçoamento de competências profissionais em diversos domínios da acção educativa, nomeadamente científicos e didáctico-pedagógicos, além de incentivar práticas de investigação e inovação educativas. Acresce que “às acções de formação contínua são atribuídos créditos para efeitos de progressão na carreira docente”, dos quais, “pelo menos dois terços são na área científico-didáctica que o docente lecciona” (Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores, artigo 14.º, respectivamente, pontos 1 e 2).

Os programas de formação contínua devem, pois, incluir aspectos científicos relacionados com as disciplinas específicas dos grupos de docência, que permitam as necessárias actualizações de conteúdos e processos, mas também contemplar aspectos relativos a práticas pedagógicas, nomeadamente de metodologias a utilizar em ensino e aprendizagem, tomando como referência as inovações pedagógicas provenientes da investigação educativa (Macedo *et al.*, 2001). É prioritário promover programas de formação contínua que possam superar carências na formação inicial dos professores e que, de forma explícita, se orientem para actividades educativas inovadoras, que estimulem o desenvolvimento de competências necessárias à integração em aulas de ciências de inter-relações CTS e de trabalho prático numa perspectiva investigativa (Pedrosa, 2001b). Assim, a formação contínua de professores deve perspectivar-se para a actualização e o desenvolvimento profissional, não só ao nível de conhecimentos científicos, mas também de práticas pedagógicas, como forma de resolver problemas relacionados com o insucesso e o abandono escolares, tomando como ponto de partida a experiência profissional dos professores e a realidade dos meios escolares (Estrela *et al.*, 2005). As finalidades da formação contínua resumem-se a: “levar ao desenvolvimento de competências pedagógicas; formar professores para as constantes actualizações e inovações das diversas áreas ligadas ao ensino; articular a formação com o carácter disciplinar e científico, em função dos diferentes níveis de ensino e dos grupos disciplinares” (Estrela *et al.*, 2005, p.126).

Macedo *et al.* (2001) consideram que a formação contínua de professores é um processo de reconhecida importância no desenvolvimento de competências profissionais,

designadamente por: a) ser durante as actividades lectivas que os professores mais facilmente tomam consciência das suas dificuldades e/ou carências, em termos de conhecimentos científicos e didáctico-pedagógicos; b) corresponder à via mais adequada e eficaz para implementar as reformas e inovações curriculares. Se os programas de formação contínua ajudarem os professores a responder às suas necessidades estarão a contribuir para melhorar as aprendizagens dos alunos e, conseqüentemente, a qualidade do ensino e o sucesso escolar.

A investigação sobre formação contínua de professores aponta para modelos de formação de índole construtivista e em comunidades de pares (Macedo *et al.*, 2001), centrados na análise de situações levadas a cabo em contextos educativos e que impliquem questionamento das práticas reais dos professores e reflexão crítica (Chagas & Oliveira, 2005; Estrela *et al.*, 2005; Macedo *et al.*, 2001; Magalhães, 2005). A necessidade de centrar a formação de professores em contextos educativos vivenciados na escola enfatiza “uma concepção de professor como investigador e profissional reflexivo e crítico, que se insere numa comunidade onde a colaboração e partilha de conhecimentos é fundamental” (Magalhães, 2005, p.44).

Os modelos construtivistas têm em consideração as concepções dos professores sobre educação em ciências, pelo que as suas práticas habituais, os seus conhecimentos, as suas experiências passadas e preocupações actuais devem constituir pontos de partida nos processos de formação, por poderem influenciar as aprendizagens e determinar os impactos da formação no seu desenvolvimento pessoal e profissional (Macedo *et al.*, 2001). Assim, importa proporcionar aos professores a realização de actividades de reflexão crítica e discussão, com recurso a trabalho de grupo, para debate e confronto de ideias, “com vista a uma desestruturação de conceitos e práticas e respectiva reestruturação” (Macedo *et al.*, 2001, p.63).

Os professores manifestam formas de pensar, comportamentos e atitudes sobre educação em ciências “que reflectem muitas vezes os métodos utilizados pelos seus professores ou formadores durante o seu processo de formação”, o que constitui um importante obstáculo ao desenvolvimento de actividades de ensino inovadoras (Macedo *et al.*, 2001, p.63) que impliquem romper com práticas habitualmente utilizadas, em muitas situações, ao longo de muitos anos de experiência em docência. Importa, pois, desenvolver programas de formação contínua que permitam desenvolver competências nos professores que os capacitem a aprender como e o que fazer para serem capazes de melhorar a qualidade do seu ensino, de modo a traduzir-se em melhores aprendizagens dos seus alunos (*Ibid.*). Para tal, os professores devem vivenciar, em contexto de

formação, conteúdos e metodologias concordantes com o que se pretende ver desenvolvido nas escolas (Chagas & Oliveira, 2005; Macedo *et al.*, 2001), nomeadamente no que diz respeito a trabalho prático de natureza investigativa (Caamaño & Corominas, 2004; Chagas & Oliveira, 2005). Nesta perspectiva, os actuais modelos de formação contínua de professores devem orientar-se por metodologias que visem desenvolver ambientes de aprendizagem que possam ser reproduzidos em contextos escolares (Macedo *et al.*, 2001).

A formação contínua de professores, tem sido principalmente da responsabilidade de instituições de formação, muitas com orientação tradicional, em que grande parte dos formadores não terão tido oportunidades de formação consonantes com as inovações actualmente preconizadas para a educação em ciências e, eventualmente, sem as necessárias e desejáveis qualificações em didácticas específicas (Martins, 2002). Caso a formação contínua não integre os conhecimentos provenientes da investigação em didáctica das ciências, corre-se o risco de apenas fomentar práticas pouco adequadas e desarticuladas dos objectivos actualmente preconizados para a educação em ciências (Oliveira, 1999), de que constituem exemplo, a integração nas práticas lectivas de inter-relações CTS e de trabalho prático numa perspectiva investigativa. Estrela *et al.* (2005, p.135) salientam a “necessidade de uma política de formação de formadores, bem como a sua articulação com instituições do ensino superior”. Por outro lado, importa estabelecer articulações entre centros de formação e instituições de ensino superior, em que o desenvolvimento de parcerias, representa “uma mais-valia que poderá levar a um maior ajustamento da formação às necessidades dos professores” (Estrela *et al.*, 2005, p.133). Será fundamental “o envolvimento de equipas de professores em parcerias de colaboração, com investigadores e formadores de professores, que levem a cabo investigações e projectos de desenvolvimento e gestão curricular” (Miguéns & Serra, 2000, p.573). Oliveira (1999) considera que o desenvolvimento pessoal e profissional dos professores de ciências, nos diversos níveis de ensino, deverá ter por base a colaboração e intensificação das relações entre instituições de ensino superior ligadas à investigação em didáctica das ciências/centros de formação/escolas. Partindo do pressuposto que as mudanças na educação em ciências possam resultar de trabalho conjunto entre professores e investigadores (Matos & Morais, 2004), considera-se vantajoso criar “redes de Universidades interessadas na formação contínua e em projectos de investigação, de modo a evitar tanta dispersão dos estudos realizados, rentabilizando a nível nacional esforços e tempo dispendidos” (Estrela *et al.*, 2005, p.139). Em suma, se a formação inicial começa nas universidades, devem igualmente ser

estas a colaborar na formação contínua, através de propostas de actividades investigativas e reflexivas que permitam aos professores melhorar a sua formação científica, e lhes despertem interesse e os incentivem a aplicar e a diversificar estratégias nas práticas lectivas (Estrela *et al.*, 2005). Note-se que as universidades têm oferecido cursos de pós-graduação e de mestrado que têm proporcionado a muitos professores uma qualificação pessoal e profissional em educação em ciências (Martins, 2002).

No âmbito de estudos efectuados sobre a formação contínua de professores em Portugal, entre 1991 e 2004, Estrela *et al.* (2005) referem a necessidade de avaliar o impacto da formação recebida nas práticas lectivas dos professores, nomeadamente através do seu acompanhamento durante e após a formação. Consideram fundamental repensar a orientação e o processo de selecção de formadores, de modo a possibilitar-lhes esse acompanhamento. Por outro lado, referem que apesar da oferta formativa dos centros de formação ser pouco diversificada em termos de práticas lectivas, os professores têm preferência por metodologias centradas nestas. Quanto à dinâmica e organização dos centros de formação, salientam a importância da maior articulação entre as propostas de acções de formação apresentadas e as necessidades e interesses reais dos professores.

É fundamental que os temas a abordar na formação de professores sejam do seu interesse, de modo a assegurar que as aprendizagens sejam significativas (Macedo *et al.*, 2001) e com potencialidades de repercussão nas suas práticas lectivas. Em relação a necessidades e interesses, os resultados do estudo realizado por Mestre *et al.* (2004, p.34) mostram que os professores de ciências manifestam necessidades de formação “em áreas relacionadas com o currículo (organização e desenvolvimento), com o trabalho cooperativo entre pares, com a planificação do ensino, com a execução na sua vertente de ensino experimental e de trabalho de projecto e com a utilização de novas tecnologias”. Assim, é necessário desenvolver e avaliar programas de formação de professores de ciências que respondam às suas necessidades, no sentido de as superar eficazmente. Salienta-se que o êxito de um programa de formação estará sempre condicionado, tanto pela capacidade dos formadores para desenvolverem metodologias concordantes com as expectativas dos professores, como para responderem às necessidades, dificuldades e desejos por eles manifestados (Mestre *et al.* 2004).

CAPÍTULO 3

METODOLOGIAS

3.1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo apresentam-se e justificam-se as metodologias adoptadas para a realização da investigação. Além desta introdução (3.1), apresentam-se as actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia (3.2) e descreve-se a acção de formação realizada com professores de Biologia e/ou Geologia (3.3).

No primeiro sub-capítulo (3.2) enquadram-se as actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia nos actuais currículos de Ciências Naturais e de Biologia (3.2.1), descrevem-se os procedimentos testados, concebidos e optimizados (3.2.2.) em biotecnologia vegetal (3.2.2.1), na manipulação de DNA e engenharia genética (3.2.2.2) e em microbiologia (3.2.2.3). Para cada uma das actividades laboratoriais e experimentais realizadas, apresenta-se a metodologia adoptada e descrevem-se os objectivos, cuidados a ter, e os materiais e métodos que estiveram na origem desses procedimentos.

No segundo sub-capítulo (3.3) contextualiza-se a acção de formação (3.3.1) e descrevem-se a selecção e caracterização da amostra de professores-formandos que participaram na acção de formação (3.3.2), as técnicas de recolha de dados e os instrumentos utilizados (3.3.3), e enquadram-se os contextos problemáticos na educação *em, sobre e pelas* ciências, para desenvolvimento de percursos investigativos (3.3.4). Finalmente, descrevem-se as sessões de formação e apresentam-se as actividades propostas (3.3.5).

3.2. ACTIVIDADES LABORATORIAIS E EXPERIMENTAIS EM BIOTECNOLOGIA

3.2.1. ENQUADRAMENTO CURRICULAR DAS ACTIVIDADES LABORATORIAIS E EXPERIMENTAIS

As actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia enquadram-se, sobretudo, no programa de Biologia do 12º ano. Algumas enquadram-se, simultaneamente, em Biologia e Geologia dos 10º e 11º anos (parte de Biologia) e, embora com menor aplicabilidade em Ciências Naturais, 3º ciclo do ensino básico (9º ano). Como exemplo, referem-se as actividades laboratoriais que envolveram a manipulação de DNA, designadamente a sua extracção, que se enquadra em vários níveis de ensino, com as devidas adaptações em função dos programas disciplinares,

dos objectivos pretendidos e dos conhecimentos conceptuais e procedimentais dos alunos. A Tabela 3.1 mostra o enquadramento das actividades laboratoriais e experimentais relativamente a conteúdos conceptuais e procedimentais (e sugestões metodológicas) retirados dos programas das disciplinas de Ciências Naturais, Biologia e Geologia dos 10^o e 11^o anos, e de Biologia do 12^o ano.

Tabela 3.1 – Enquadramento curricular, por disciplina e ano de escolaridade, das actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia.

CONTEÚDOS		ACTIVIDADES LABORATORIAIS E EXPERIMENTAIS
CONCEPTUAIS	PROCEDIMENTAIS E SUGESTÕES METODOLÓGICAS	
9º ANO – CIÊNCIAS NATURAIS		
Unidade 2 – Transmissão da vida: noções básicas de hereditariedade.	<ul style="list-style-type: none"> • Conhecer a localização do material genético na célula. 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracção de DNA.
10º ANO – BIOLOGIA E GEOLOGIA		
Unidade 3 – Transformação e utilização de energia pelos seres vivos: fermentação.	<ul style="list-style-type: none"> • Conceber, realizar e interpretar procedimentos experimentais simples. 	<ul style="list-style-type: none"> • Leveduras em processos de fermentação alcoólica – avaliação do rendimento fermentativo.
11º ANO – BIOLOGIA E GEOLOGIA		
Unidade 5 – Crescimento e renovação celular: DNA e síntese proteica.	<ul style="list-style-type: none"> • Análise e interpretação de esquemas, tabelas com dados experimentais, relativos às características das moléculas de DNA e RNA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracção de DNA.
Unidade 6 – Reprodução: reprodução assexuada (estratégias reprodutoras).	<ul style="list-style-type: none"> • Planificar e executar actividades laboratoriais de natureza experimental que permitam pôr em prática procedimentos de propagação vegetativa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Micropropagação de couve-flor e de violeta africana.
12º ANO – BIOLOGIA		
Unidade 2 – Património genético: fundamentos de engenharia genética.	<ul style="list-style-type: none"> • Análise de procedimentos laboratoriais de manipulação de DNA, com vista à compreensão global de processos biotecnológicos envolvidos. • Avaliação da importância das endonucleases de restrição. • Enfatizar a obtenção de organismos geneticamente modificados (OGM) por manipulação de DNA. 	<ul style="list-style-type: none"> • Extracção de DNA e avaliação da sua qualidade por electroforese em gel de agarose. • Digestão de DNA por enzimas de restrição e determinação do tamanho aproximado de cada um dos fragmentos de DNA resultantes. • Transformação genética mediada por <i>Rhizobium radiobacter</i>.
Unidade 3 – Imunidade e controlo de doenças: biotecnologia no diagnóstico e terapêutica de doenças.	<ul style="list-style-type: none"> • Recolha, organização e interpretação de informação relacionada com a utilização de procedimentos biotecnológicos na produção de substâncias com fins terapêuticos. 	<ul style="list-style-type: none"> • Detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos. • Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos. • Detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.
Unidade 4 – Produção de alimentos e sustentabilidade: 1. Microrganismos e indústria alimentar (fermentação e actividade enzimática; conservação, melhoramento e produção de novos alimentos). 2. Exploração das potencialidades da Biosfera: cultivo de plantas e criação de animais.	<ul style="list-style-type: none"> • Concepção e realização de actividades laboratoriais e/ou experimentais para estudo de factores que condicionem a actividade enzimática. • Redacção de memórias descritivas e interpretativas de trabalhos laboratoriais e/ou experimentais. • Análise e interpretação de técnicas de cultura de tecidos vegetais e compreensão das suas potencialidades. 	<ul style="list-style-type: none"> • Leveduras em processos de fermentação alcoólica – avaliação do rendimento fermentativo. • Estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase. • Acção enzimática na produção de sumo de maçã. • <i>Peeling</i> enzimático de citrinos. • Acção da lactase sobre o leite por imobilização da enzima. • Micropropagação de couve-flor e de violeta africana.

3.2.2. PROCEDIMENTOS TESTADOS, CONCEBIDOS E OPTIMIZADOS

3.2.2.1. BIOTECNOLOGIA VEGETAL – CULTURA *IN VITRO* DE COUVE-FLOR E DE VIOLETA AFRICANA

Em biotecnologia vegetal foram concebidos e otimizados procedimentos para a micropropagação de plantas, através de técnicas de cultura *in vitro*, com vista à produção de clones de couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) e de uma planta ornamental, a violeta africana (*Saintpaulia ionantha* Wendl.). Enquanto que a selecção da couve-flor teve por base os motivos referidos no Capítulo 2 (ver secção 2.2.2.4. Espécie modelo: *Brassica oleracea* var. *botrytis* L., p.38), a escolha da violeta africana resultou do seu papel de modelo para trabalhos de clonagem vegetal, em diversos manuais escolares dos actuais programas das disciplinas de Biologia e Geologia do ensino secundário (Silva *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2008) – aspecto determinante para a sua escolha na cultura *in vitro* de plantas.

A cultura *in vitro* inicia-se com a escolha e selecção da planta-mãe a partir da qual são retirados os explantes para a regeneração de novas plantas. No caso da couve-flor, utilizaram-se como explantes porções da inflorescência e para a violeta africana, face às dificuldades verificadas na indução de rebentos, testaram-se os seguintes tipos de explantes: limbo e pecíolo da folha; pétalas.

A couve-flor a utilizar deve ser fresca e não mostrar quaisquer sinais de envelhecimento (manchas acastanhadas), devendo escolher-se para explantes as porções mais centrais, dada a menor probabilidade de serem portadoras de infecções. Relativamente à violeta africana, preferencialmente escolheram-se órgãos jovens, pela maior probabilidade de responderem ao meio de cultura.

No desenvolvimento das fases de micropropagação das duas plantas foram concebidos e otimizados os seguintes procedimentos: a) desinfecção e inoculação dos explantes no meio de cultura para a indução de rebentos; b) transferência dos rebentos para o meio de enraizamento; c) transferência das plântulas para o substrato de transplante e aclimatização. No que diz respeito à desinfecção do material biológico, foram testados diversos procedimentos, com variações na concentração das soluções de álcool etílico (50 e 70%) e das de lixívia com detergente (14, 20, 30 e 40%), descrevendo-se e ilustrando-se nos procedimentos 1A e 1B, respectivamente, Anexo 2 (couve-flor) e Anexo 3 (violeta africana), apenas aquele que permitiu obter, para cada uma das plantas, os melhores resultados, ou seja, o procedimento que resultou na menor taxa de infecção

e de mortalidade dos explantes. Em virtude dos explantes de violeta africana serem de reduzidas dimensões, a indução de rebentos efectuou-se em placas de Petri, enquanto para a couve-flor foram utilizados frascos de vidro. Os explantes depois da desinfectação e inoculação em meio MS foram colocados em câmaras de crescimento com condições de luz, intensidade luminosa e temperatura controladas.

Ao meio de cultura foram adicionadas citocininas, pois além dos rebentos *in vitro* produzirem pequena quantidade destes reguladores de crescimento, o seu principal local de síntese são as raízes, e os explantes utilizados não possuem sistema radicular (Canhoto, 2010). Deste modo, explica-se a sua inclusão nos meios de cultura para a indução e o crescimento dos rebentos. Após o desenvolvimento e o crescimento dos rebentos procedeu-se ao seu enraizamento, descrito e ilustrado no procedimento 2 para a couve-flor e também utilizado para a violeta africana (ver Anexo 4). Este processo efectuou-se transferindo os rebentos do meio de crescimento para um meio sem reguladores de crescimento, tal como descrito na literatura para as plantas herbáceas (Canhoto, 2010). Por outro lado, a redução da concentração de sais no meio de cultura para metade é um processo utilizado para promover a rizogénese (Canhoto, 2010), tendo também sido aplicado no enraizamento dos rebentos de violeta africana. As plântulas obtidas foram posteriormente transferidas para um substrato de transplante (turfa e vermiculite), para aclimatização em estufim, antes de serem transferidas para o solo (violeta africana) ou campo (couve-flor). As etapas desta fase descrevem-se e ilustram-se no procedimento 3, para a couve-flor, e também se utilizaram para a violeta africana (ver Anexo 5).

No que diz respeito ao meio de cultura, além da utilização do meio MS, procedeu-se a um ensaio com as duas plantas em que se substituiu este meio por *adubo líquido universal KB*[®] (cuja composição se descreve no Anexo 1), comercialmente usado na nutrição de plantas. Este ensaio destinou-se a testar a possibilidade de substituir o meio MS por outro economicamente mais vantajoso, a fim de tornar o procedimento mais acessível às escolas. Para a indução de rebentos, foram testados os reguladores de crescimento apresentados na Tabela 3.2, que resume as condições de cultura testadas nas duas plantas.

Para avaliar a capacidade de resposta dos explantes de couve-flor ao meio de indução procedeu-se à análise da taxa de crescimento, através do cálculo da quantidade de massa fresca ao longo do tempo (Dixon, 1985). Determinou-se a massa de dezasseis explantes livres de contaminações, de sete em sete dias, durante cinco semanas (em condições de assepsia na câmara de fluxo laminar), através da utilização de frascos

previamente esterilizados e mudando para novo meio de cultura de quinze em quinze dias. Para a violeta africana, analisou-se a capacidade de resposta dos rebentos ao meio de indução, a partir da determinação da massa de vinte rebentos (previamente estabelecidos *in vitro*), com procedimento igual ao referido para a couve-flor.

Tabela 3.2 – Condições de cultura testadas.

	Couve-flor	Violeta africana
Tipo de explante	Inflorescência da couve-flor.	Limbo e pecíolo da folha; pétalas.
Tipos de meio de cultura	MS; <i>adubo líquido universal KB</i> [®] .	MS; <i>adubo líquido universal KB</i> [®] .
<i>Adubo líquido universal KB</i> [®] + Reguladores de crescimento (auxinas e citocininas)	Indução: cinetina (2,5 mg/L); sem adição de reguladores de crescimento (controlo).	Indução: cinetina (2,5 mg/L); BAP (2 mg/L) + IBA (0,5 mg/L); sem adição de reguladores de crescimento (controlo). Enraizamento: NAA (0,5 mg/L e 1 mg/L); IBA (0,5 mg/L e 1 mg/L).
Meio MS + Reguladores de crescimento (auxinas e citocininas)	Indução: cinetina (2,5 mg/L); IAA (8 mg/L); cinetina (2,5 mg/L) + IAA (8 mg/L); sem adição de reguladores de crescimento (controlo). Enraizamento: sem adição de reguladores de crescimento.	Indução em limbo e pecíolo: BAP (2mg/L) + IBA (0,5 mg/L); BAP (2,25 mg/L) + IBA (0,0203 mg/L). Indução em pétalas: NAA (0,2 mg/L) + BAP (1,0 mg/L); NAA (1,0 mg/L) + BAP (1,0 mg/L). Enraizamento: sem adição de reguladores de crescimento.
Soluções desinfectantes	Lixívia com detergente a 20, 30 e 40%; solução de álcool etílico a 70%; <i>Benlate</i> [®] a 1g/L.	Água com detergente; lixívia com detergente a 14, 20 e 30%; solução de álcool etílico a 50 e 70%; <i>Benlate</i> [®] a 1g/L.
Fotoperíodo; intensidade luminosa e temperatura	Fotoperíodo de 16h de luz; intensidade luminosa de 45 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes; temperatura de 22 \pm 1° C.	

Objectivos específicos:

- Conhecer a técnica de micropropagação por cultura *in vitro* como forma de produzir milhares de plantas geneticamente iguais, a partir de uma planta original;
- Manusear material em condições de assepsia;
- Estudar a indução de raízes, caules e folhas na cultura *in vitro* de couve-flor e violeta africana;
- Conhecer as etapas da micropropagação;
- Manipular correctamente material vegetal para a transferência das plântulas estabelecidas *in vitro* para *ex vitro*;

- Conhecer as principais dificuldades na adaptação das plantas às condições *ex vitro*;
- Integrar a micropropagação numa perspectiva mais vasta de produção vegetal com recurso a técnicas de biotecnologia vegetal.

Cuidados para que as culturas não se contaminem por bactérias e fungos:

- Esterilizar durante cerca de 20 minutos, à temperatura de 121°C e à pressão de 1 atmosfera todo o material necessário – pinças, cabos de bisturi, placas de Petri e frascos de vidro. Esterilizar a água destilada para as lavagens dos explantes e a solução de *Benlate*[®]. Note-se que as soluções de lixívia e de álcool etílico para a desinfecção do material biológico não se esterilizam;
- Colocar um número reduzido de explantes em cada frasco ou placa de Petri, para preservar o maior número possível de explantes livres de contaminações – a infecção de um explante propaga-se aos restantes, pelo que deve colocar-se apenas um explante em cada frasco ou placa de Petri;
- Em condições assépticas na câmara de fluxo laminar (depois de previamente esterilizada pela radiação ultravioleta), efectuar as etapas de divisão dos meios de cultura, inoculação dos explantes e transferência dos rebentos para o meio de enraizamento;
- Lavar as mãos e depois passá-las com a solução de álcool etílico (a 70%), antes de iniciar os trabalhos de manipulação na câmara de fluxo laminar. Limpar a bancada da câmara de fluxo laminar com a mesma solução.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se nas Tabelas 3.3, 3.4, 3.5 e 3.6. A preparação de meios de cultura e soluções descreve-se no Anexo 1.

Tabela 3.3 – Materiais, reagentes e equipamentos para a preparação de meios de cultura.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO	REAGENTES	EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 balão <i>Erlenmeyer</i> de 1000 mL • 1 barra magnética • 1 frasco de vidro de 1000 mL, com tampa, para autoclave (<i>e.g. Schott</i>[®]) • frascos de vidro com tampa para autoclave (esterilizados) • 1 micropipeta P200 e P1000 • película aderente • pontas de 200 µL e 1000 µL 	Para 1 litro de meio de cultura: <ul style="list-style-type: none"> • sacarose ou açúcar de cozinha – 30 g • agar – 7 g • água destilada • meio MS (Murashige & Skoog) com macronutrientes, micronutrientes e vitaminas – 4,4 g • reguladores de crescimento (auxinas e/ou citocininas) 	<ul style="list-style-type: none"> • agitador magnético • autoclave • balança de precisão • câmara de fluxo laminar • medidor de pH

Tabela 3.4 – Materiais, reagentes e equipamentos para a desinfecção e inoculação dos explantes no meio de cultura.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • algodão hidrófilo • cabos de bisturi (esterilizados) • 1 colher de chá em inox (esterilizada) • frascos de vidro de boca larga, com tampa, para autoclave (esterilizados) • lâminas de bisturi (esterilizadas) 	<ul style="list-style-type: none"> • marcador de acetato • papel de embrulho (e.g. Kraft) • placas de Petri (esterilizadas) • película aderente • pinças (esterilizadas) 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • câmara de fluxo laminar
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada (esterilizada) • solução de álcool etílico a 50 e 70% (v/v) – 250 mL • solução fungicida de <i>Benlate</i>[®] a 1g/L – 250 mL (esterilizada) • lixívia comercial com detergente <i>Domestos</i>[®] a 14, 20, 30 e 40% (v/v) – 250 mL 		<ul style="list-style-type: none"> • couve-flor (inflorescência) • violeta africana (limbo e pecíolo da folha; pétalas de flor)

Tabela 3.5 – Materiais, reagentes e equipamentos para a transferência dos rebentos para o meio de enraizamento.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO	EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • cabos de bisturi (esterilizados) • marcador de acetato • papel de embrulho (e.g. Kraft) • pinças (esterilizadas) • placas de Petri (esterilizadas) • lâminas de bisturi (esterilizadas) 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • câmara de fluxo laminar • esterilizador de pinças e bisturis • suporte de pinças e bisturis
REAGENTES	MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • solução de álcool etílico a 96% (v/v) 	<ul style="list-style-type: none"> • rebentos de couve-flor e de violeta africana

Tabela 3.6 – Materiais, reagentes e equipamentos para a transferência de plântulas para o substrato de transplante e aclimatização.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO	EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 frasco pulverizador • 2 sacos de autoclave • tabuleiro de plástico • turfa e vermiculite (proporção 2:1) (esterilizadas) • vasos de plástico pequenos (6-8 cm de diâmetro) 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • estufim
REAGENTES	MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 2000 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • plântulas de couve-flor e de violeta africana

3.2.2.2. MANIPULAÇÃO DE DNA E ENGENHARIA GENÉTICA

Os trabalhos práticos iniciaram-se com a extracção de DNA de células vegetais provenientes de diversos alimentos. Estas actividades foram desenvolvidas para contextos educativos dos ensinos básico e secundário, desde procedimentos muito simples, até aos de maior nível de exigência, em termos de reagentes e processos, com

vista à obtenção de amostras de DNA para electroforese. Em engenharia genética, desenvolveu-se uma actividade experimental para determinar o tamanho dos fragmentos resultantes da digestão do DNA lambda (λ) por enzimas de restrição. Realizou-se, ainda, uma actividade laboratorial simples de transformação genética, em discos de raiz de cenoura, utilizando uma estirpe selvagem de *Rhizobium radiobacter*, capaz de levar à formação de tumores numa zona de ferimento.

A) EXTRACÇÃO DE DNA DE CÉLULAS VEGETAIS E AVALIAÇÃO DA SUA QUALIDADE POR ELECTROFORESE EM GEL DE AGAROSE

As células vegetais são, pela sua acessibilidade e facilidade de manuseamento, materiais biológicos excelentes para isolar DNA. Efectuou-se a extracção de DNA utilizando material vegetal de diversas origens – cebola (*Allium cepa* L.), morangos (*Fragaria vesca* L.), kiwi (*Actinidia deliciosa*), ervilhas (*Pisum sativum* L.) e gérmen de trigo (*Triticum aestivum*) – com recurso a procedimentos que permitiram visualizar filamentos esbranquiçados que contêm DNA. Devem escolher-se frutos maduros para a extracção de DNA, uma vez que durante o amadurecimento produzem-se pectinases e celulasas que favorecem a ruptura das paredes celulares⁷.

Para o ensino básico, testaram-se procedimentos simples e rápidos que permitem a fácil visualização de precipitados com DNA – trata-se de misturas de DNA, RNA e proteínas (Marques, 2004). As extracções simples, em que foi utilizado gérmen de trigo e morango, estão descritas e ilustradas, respectivamente, nos procedimentos 4A e 4B (ver Anexos 6 e 7). Para o ensino secundário foram concebidos e optimizados procedimentos mais complexos, mas também mais concordantes com os princípios envolvidos na extracção de DNA de um tecido e adequados à sua utilização em trabalhos posteriores (e.g. electroforese em gel de agarose).

Os procedimentos utilizados na extracção de DNA de tecidos vegetais envolvem quatro etapas principais (Marques, 2004): 1) procede-se à ruptura celular através da acção conjunta de agentes físicos (maceração) e químicos (solução de extracção) que, além de romperem as paredes das células vegetais, desagregam as membranas celulares e os invólucros nucleares, permitindo a libertação do DNA presente nos respectivos núcleos; 2) os fragmentos constituídos pelos restos das paredes celulares e dos constituintes membranares das células são separados por filtração, permanecendo em solução os ácidos nucleicos e outros compostos orgânicos (e.g. proteínas); 3)

⁷ http://ppge.ucdavis.edu/Equipment/Protocols/strawberry_dna_extraction_05.pdf [Acedido: 10/02/2007]

eliminam-se proteínas – desproteínização – algumas das quais por se encontrarem associadas ao DNA constituem o principal obstáculo à obtenção de amostras puras (etapa opcional); 4) procede-se à remoção do DNA da solução, precipitando-o por adição de álcool etílico frio (a 96%), sendo então possível recolhê-lo.

São necessários diversos reagentes para efectuar a extracção de DNA – cloreto de sódio, detergente da louça, protease, ureia e álcool etílico. O cloreto de sódio contribui com iões positivos (Na^+) para neutralizar a carga negativa do DNA (devido à ionização dos grupos fosfato existentes no esqueleto pentose-fosfato). Deste modo, impede-se a repulsão eléctrica entre moléculas de DNA, permitindo a sua agregação em filamentos espessos e compridos, visíveis sob a forma de precipitados esbranquiçados (Marques, 2004). O detergente de louça provoca a ruptura e a desagregação da membrana celular e do invólucro nuclear, devido à inserção de moléculas de detergente na bicamada fosfolipídica, o que contribui para a dissolução do DNA na mistura de extracção (*Ibid.*). A literatura recomenda a utilização de clorofórmio para eliminar proteínas (Correia & Mendo, 2001; Marques, 2004). Devido a pretender-se testar procedimentos adequados à utilização por alunos dos ensinos básico e secundário, não se utilizou clorofórmio por ser tóxico. Optou-se por testar a adição de proteases (EIBE, 1995; Madden, 2006; NCBE, 2001) e de ureia (Howland *et al.*, 1991; Wasko *et al.*, 2003). Como o DNA é insolúvel no álcool etílico, quando este se adiciona lentamente ao filtrado, precipita-o. Inicialmente visualiza-se na interface entre duas camadas – filtrado e álcool etílico – mas, após alguns minutos, localiza-se na camada superior (álcool etílico) (Marques, 2004). O “choque térmico” provocado pela adição de álcool etílico frio, forma bolhas de ar que ajudam à ascensão do DNA para a camada superior (Matias & Martins, 2008).

A avaliação qualitativa do DNA extraído, por electroforese em gel de agarose, requer amostras de DNA mais puras, isto é, o mais possível “livres de contaminações por proteínas e outros componentes moleculares da estrutura celular” (Correia & Mendo, 2001, p.56). Para isso, a desproteínização constitui uma etapa obrigatória e incluiu-se nos procedimentos de extracção de DNA de cebola, kiwi, morango, ervilhas e gérmen de trigo, desenvolvidos para o ensino secundário. Estas extracções por envolverem mais reagentes e processos, apresentam mais etapas, encontrando-se descritas e ilustradas, para a cebola no procedimento 5A (ver Anexo 8) – com algumas adaptações (*e.g.* nas soluções de extracção) para kiwi, ervilhas e morangos – e para o gérmen de trigo, no procedimento 5B (ver Anexo 9).

A electroforese, cujas etapas descrevem-se e ilustram-se no procedimento 6 (ver Anexo 10), realiza-se num gel obtido por dissolução da agarose numa solução tampão

que se utiliza na tina de electroforese. Antes que o gel de agarose solidifique, coloca-se um pente numa das extremidades, de modo a formar uma fileira de poços, onde, posteriormente, se colocam as amostras a analisar. Sobre o gel verte-se uma solução tampão (alcalina) que, além de encher os poços, entra em contacto com os eléctrodos colocados em cada uma das extremidades da tina. Esta solução impede a desidratação do gel e os iões que contém conduzem a corrente eléctrica (Madden, 2001). O EDTA presente nesta solução elimina iões bivalentes (e.g. Mg^{2+}), prevenindo danos no DNA, uma vez que são necessários como co-factores de DNAses (*Ibid.*).

Misturam-se as amostras de DNA com um pequeno volume de solução tampão de carregamento, imediatamente antes de se introduzirem nos poços do gel. O uso de um tampão de carregamento denso facilita a introdução das amostras nos poços e a presença de azul de bromofenol permite observar a progressão da electroforese. As amostras de DNA são colocadas nos poços do gel e com a aplicação de um campo eléctrico vão migrar para o eléctrodo positivo (ânodo), uma vez que em meio alcalino os grupos fosfato do DNA apresentam carga eléctrica negativa (Madden, 2001). Terminada a “corrida”, revela-se o gel através da utilização de um corante inócuo (Azure A) para tornar as bandas de DNA visíveis (*Ibid.*). Este corante substitui o brometo de etídio, substância cancerígena e mutagénica que se intercala nas cadeias de DNA, e que, quando exposta à luz ultravioleta, emite fluorescência de cor laranja (Videira, 2001c). Cada banda individual é constituída por numerosos fragmentos de DNA de igual tamanho que migraram em conjunto no gel (Madden, 2001; Videira, 2001c).

Objectivos específicos:

- Conhecer a composição, estrutura e localização do DNA das células eucarióticas;
- Relacionar as etapas de extracção do DNA com a estrutura das células eucarióticas;
- Visualizar filamentos esbranquiçados com DNA;
- Aplicar a técnica de electroforese;
- Localizar bandas de DNA no gel de agarose;
- Compreender os princípios fundamentais de biologia molecular/engenharia genética.

Cuidados a ter:

- O álcool etílico utilizado na precipitação do DNA deve estar frio, devendo ser colocado no congelador um dia antes da actividade prática;
- Não puxar o êmbolo para fora da microseringa; antes de carregar a microseringa deve puxar-se o êmbolo ligeiramente para fora (1-2 mm), de forma a existir algum ar

extra para que, no final, se consiga expulsar a totalidade do líquido; quando se descarregam líquidos deve segurar-se a microseringa na posição vertical e ao nível dos olhos para melhor visualização do que se está a fazer (Madden, 2001);

- As pontas estão marcadas com 2 e 10 μL , permitindo que pequenos volumes de líquidos possam ser medidos com precisão; não tocar com os dedos na ponta introduzida na microseringa, uma vez que no suor existem proteases e DNAses que podem contaminar e degradar reagentes e amostras; as pontas devem ser esterilizadas no autoclave e, apenas usadas uma vez, utilizando-se uma ponta nova para carregar cada poço (Madden, 2001);
- Os tubos tipo *Falcon*[®] para a centrífuga e os microtubos *Eppendorf*[®], onde se colocam as amostras, devem ser esterilizados no autoclave;
- Não utilizar mais de 36 volts nas pilhas para a tina de electroforese, o que corresponde, no máximo, a quatro pilhas de 9 volts (Madden, 2001). Não ligar o equipamento directamente a uma tomada, pois há o perigo de choques eléctricos mortais;
- Devem utilizar-se luvas durante todas as etapas da electroforese em gel de agarose.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se nas Tabelas 3.7 e 3.8. A preparação de soluções tampão utilizadas em electroforese descreve-se no Anexo 1.

Tabela 3.7 – Materiais, reagentes e equipamentos para os procedimentos de extracção de DNA.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • almofarizes de porcelana de 100 mm – 250 mL c/pilão • 1 caixa de esferovite pequena • espetos de madeira pequenos (e.g. para espetadas) • faca • filtros de café (Nº 2) • funis de vidro (100 mm) • garfo • <i>gobelés</i> de plástico e de vidro de 100 mL • 1 micropipeta P200 e P1000 • microtubos <i>Eppendorf</i>[®] de 1,5 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • papel absorvente • película aderente • placas de Petri • pontas de 200 μL e 1000 μL • provetas de 5 mL e de 100 mL • suporte de tubos de ensaio de 16 mm e de 25 mm • tubos de ensaio de 50 mL/provetas de vidro de 50 mL • tubos de ensaio de 16 mm • tubos de 15 mL para a centrífuga (e.g. tipo <i>Falcon</i>[®]) • varetas de vidro (20 cm) 	<ul style="list-style-type: none"> • balança de precisão • banho-maria • frigorífico • centrífuga • termómetro
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • solução de álcool etílico a 96% (v/v) • detergente da louça • sal de cozinha 	<ul style="list-style-type: none"> • ureia a 20% (m/v) • protease (<i>Neutrase</i>[®]) • tampão TE (Tris-EDTA) 	<ul style="list-style-type: none"> • bolbo de cebola • morango • kiwi • ervilhas • gémen de trigo cru

Tabela 3.8 – Materiais, reagentes e equipamentos para a electroforese em gel de agarose.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • espátula metálica • 1 balão <i>Erlenmeyer</i> de boca estreita de 25 mL • luvas em látex • marcador de acetato • microseringa • parafilme 	<ul style="list-style-type: none"> • pega ou luva de cozinha • película aderente • 1 pinça • placa de Petri • pontas graduadas para microseringas • tesoura 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • balança de precisão • eléctrodos – tecido de fibra de carbono • fios com molas de crocodilo • frigorífico • microondas ou placa de aquecimento • pente de 4 ou 6 dentes • 4 pilhas de 9 volts • tina de electroforese
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • solução de álcool etílico a 96% (v/v) • agarose (0,8% m/v) 	<ul style="list-style-type: none"> • corante <i>Azure A</i> (0,04% em 20% de álcool etílico) • tampão de carregamento • tampão TBE (Tris-Borato-EDTA) 	<ul style="list-style-type: none"> • amostras de DNA

B) DIGESTÃO DE DNA POR ENZIMAS DE RESTRIÇÃO

No trabalho realizado com enzimas de restrição testou-se um procedimento em que se utilizou o DNA lambda (λ), por ser inofensivo para os humanos e a outros organismos eucarióticos⁸, além do genoma ser constituído por apenas 48502 pares de bases (pb) (Madden, 2001). Utilizaram-se duas enzimas de restrição na digestão do DNA lambda: *EcoRI* (isolada de *Escherichia coli*) e *PstI* (isolada de *Providencia stuartii*). As etapas da digestão do DNA lambda pela *EcoRI* e *PstI* descrevem-se e ilustram-se no procedimento 7 (ver Anexo 11).

Durante a digestão o DNA lambda é cortado em fragmentos de diversos tamanhos, os quais se vêem após a realização da electroforese. A electroforese em gel de agarose é o método mais usado para avaliar o tamanho de fragmentos de ácidos nucleicos, DNA ou RNA (Videira, 2001c), permitindo separar fragmentos de diferentes tamanhos (Madden, 2001), de acordo com a sua massa molecular (Correia & Mendo, 2001). Os pequenos fragmentos de DNA movem-se rapidamente no gel, enquanto os maiores deslocam-se mais lentamente. A distância percorrida por um fragmento de DNA é inversamente proporcional ao logaritmo da sua massa molecular e, deste modo, ao seu tamanho (Correia & Mendo, 2001; Madden, 2002; Videira, 2001c).

Determinou-se o tamanho aproximado de cada fragmento de DNA, resultante da digestão, por comparação com fragmentos-padrão de tamanho conhecido, também designados por marcadores/padrões (DNA *standards*) (Correia & Mendo, 2001).

⁸ http://www.bio-rad.com/cmc_upload/Literature/12532/4006102b.pdf [Acedido: 10/02/2007]

Utilizaram-se dois métodos para estimar o tamanho aproximado do DNA lambda não cortado e dos fragmentos resultantes da digestão pelas enzimas *EcoRI* e *PstI*, obtidos em cada uma das colunas do gel. O primeiro baseia-se numa estimativa visual, sendo menos preciso que o segundo, uma vez que este envolve a elaboração de uma curva-padrão. Em ambos os métodos utilizou-se o produto da digestão do DNA lambda com a enzima *HindIII* como padrão ou marcador de massa molecular. A partir da medida (em milímetros) da distância percorrida pelos fragmentos de DNA de massa molecular conhecida, estimaram-se os tamanhos dos fragmentos resultantes da digestão.

Objectivos específicos:

- Compreender a função das enzimas de restrição;
- Preparar reacções enzimáticas envolvendo DNA;
- Compreender o processo de separação de fragmentos de DNA, de acordo com a massa molecular;
- Interpretar o padrão de bandas obtido num gel de agarose;
- Determinar o tamanho aproximado dos fragmentos de DNA resultantes da digestão com enzimas de restrição;
- Compreender os princípios fundamentais de biologia molecular/engenharia genética.

Cuidados a ter:

- Os microtubos *Eppendorf*[®], onde são preparadas as digestões e as pontas da microseringa, devem ser esterilizados no autoclave;
- Devem utilizar-se luvas durante todas as etapas da digestão do DNA;
- Manter os cuidados anteriormente referidos para a realização da electroforese em gel de agarose.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.9. Também são necessários os materiais e equipamentos descritos para a electroforese em gel de agarose.

Tabela 3.9 – Materiais, reagentes e equipamentos para a digestão do DNA lambda por enzimas de restrição.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO	EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • caixa de esferovite pequena • luvas em látex • marcador de acetato • microseringa • microtubos <i>Eppendorf</i>[®] (esterilizados) • pega ou luva de cozinha • pontas graduadas para microseringas (esterilizadas) • suportes para microtubos (esferovite com furos) 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • banho-maria • frigorífico
REAGENTES	MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • tampão de restrição para as digestões enzimáticas • gelo • tampão de carregamento 	<ul style="list-style-type: none"> • DNA lambda • marcador/padrão λ/<i>Hind</i>III • enzimas de restrição: <i>Eco</i>RI e <i>Pst</i>I

C) TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA MEDIADA POR *Rhizobium radiobacter*

A transformação genética mediada por *Rhizobium radiobacter* implica a manipulação do plasmídeo para retirar genes oncogénicos, substituindo-os por genes de interesse. Neste trabalho prático utilizou-se uma estirpe selvagem de *Rhizobium radiobacter*, que tem o plasmídeo Ti (*tumor inducing*) intacto, o qual entrando em contacto com as células vegetais, num local de fermento, transfere para as células hospedeiras o T-DNA. A integração deste no genoma de células da planta infectada vai promover a formação de um tumor.

Nesta actividade procedeu-se à transformação genética de discos de raiz de cenoura (*Daucus carota* L.), após prévia desinfecção do material vegetal, seguida da inoculação de uma pequena alíquota de *Rhizobium radiobacter* (crescida em meio sólido) à superfície de cada um dos discos de cenoura recém-cortados. As etapas concebidas e optimizadas descrevem-se e ilustram-se no procedimento 8 (ver Anexo 12).

Após três semanas de incubação, desenvolvem-se tumores, sobretudo em regiões ricas em tecidos meristemáticos, por exemplo, em torno do cilindro central, na zona do câmbio vascular (Koivunen *et al.*, 2004). Antes de proceder à inoculação dos discos de raiz de cenoura, deve preparar-se a cultura de *Rhizobium radiobacter* em meio NA (*nutrient agar*) e colocá-la a crescer numa estufa a 30°C, durante três dias, com as placas de Petri invertidas.

Objectivos específicos:

- Compreender o princípio básico da transformação genética;
- Compreender o mecanismo geral da transferência de genes mediada por *Rhizobium radiobacter*;
- Manusear material em condições de assepsia;
- Compreender a importância que a engenharia genética desempenha no melhoramento de espécies vegetais.

Cuidados a ter:

- Esterilizar os cabos de bisturi, as pinças, a placa de Petri grande (para corte da raiz de cenoura) e as placas de Petri pequenas (com os discos de papel de filtro no seu interior);
- Desinfectar a bancada do laboratório com lixívia;
- Manter o álcool etílico sempre afastado da chama da lamparina;
- Utilizar uma cultura recente de *Rhizobium radiobacter*;
- Manter as condições de assepsia no manuseamento dos discos de raiz de cenoura, após a desinfectação e durante a inoculação com a bactéria;
- Na fase de inoculação dos discos de raiz de cenoura, levar sempre ao rubro a ansa de inoculação antes e depois da adição da bactéria. Utilizar uma nova alíquota para cada disco de cenoura.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.10.

Tabela 3.10 – Materiais, reagentes e equipamentos para a transformação genética de discos de raiz de cenoura por *Rhizobium radiobacter*.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • ansa de inoculação • cabos de bisturi (esterilizados) • 1 frasco de vidro de 100 mL, com tampa, para autoclave (e.g. Schott®) • gobelé de vidro de 50 mL • lamparina • lâminas de bisturi (esterilizadas) • marcador de acetato 	<ul style="list-style-type: none"> • papel de filtro (diâmetro inferior ao da placa de Petri) • película aderente • pinças (esterilizadas) • 1 placa de Petri grande • placas de Petri pequenas • tina de vidro grande 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada (esterilizada) • solução de álcool etílico a 96% (v/v) • meio de cultura NA (<i>nutrient agar</i>) 		<ul style="list-style-type: none"> • discos de raiz de cenoura • <i>Rhizobium radiobacter</i>

3.2.2.3. MICROBIOLOGIA

As actividades realizadas em microbiologia envolveram vários trabalhos práticos com recurso a diferentes microrganismos e/ou produtos resultantes do seu metabolismo (e.g. enzimas). Numa primeira fase realizaram-se actividades com solo, porque este constitui uma fonte de microrganismos facilmente acessível às escolas, onde existem bactérias produtoras de antibióticos. Foram concebidos e optimizados procedimentos para os seguintes trabalhos práticos: 1) detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos; 2) avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos; 3) detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.

Nos ensaios envolvendo a catálise enzimática realizaram-se os seguintes trabalhos práticos: 1) *peeling* enzimático de citrinos; 2) acção enzimática na produção de sumo de maçã; 3) acção da lactase sobre o leite por imobilização da enzima. Também se realizou uma actividade experimental com a catalase, para quantificar a velocidade da reacção, estudando os seguintes factores: concentração de enzima, concentração de substrato, temperatura e pH. No que diz respeito às transformações biotecnológicas de alimentos, por catálise microbiana, desenvolveram-se actividades experimentais com a levedura *Saccharomyces cerevisiae* para avaliar o rendimento fermentativo em função do tipo de substrato e da temperatura.

A) BACTÉRIAS DO SOLO

A1) DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO PRODUTORAS DE ANTIBIÓTICOS

A obtenção de antibióticos produzidos por microrganismos iniciou-se com a selecção de produtores provenientes do ambiente natural, para que na fase final se obtivesse uma cultura pura do microrganismo produtor. Utilizou-se uma amostra de solo rica em matéria orgânica, proveniente de um terreno não cultivado, onde se pesquisaram bactérias produtoras de antibióticos, principalmente do género *Streptomyces*. A amostra de solo recolhida deve colocar-se num local escuro, durante uma semana à temperatura ambiente, para secar, uma vez que este processo provoca a morte de outras bactérias que competiriam por nutrientes com as do género *Streptomyces* (Barnard, 1994). Deste

modo, as bactérias pretendidas, que formam esporos em ambientes secos, ficam em maior abundância crescendo posteriormente no meio de cultura (*Ibid.*).

As etapas, descritas e ilustradas no procedimento 9 (ver Anexo 13), para o isolamento de bactérias produtoras de antibióticos, iniciou-se com diluições sucessivas da amostra de solo recolhida (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}), seguida do espalhamento de um volume conhecido da suspensão de solo (200 μ L) em meio de cultura sólido. Para a obtenção de isolados bacterianos descrevem-se e ilustram-se as etapas no procedimento 10 (ver Anexo 14). Após o isolamento de colónias, procedeu-se à verificação da sua capacidade produtora de antibióticos utilizando uma estirpe indicadora (*Micrococcus luteus*), com recurso a três técnicas descritas e ilustradas no procedimento 11 (ver Anexo 15), nomeadamente: 1) por sobrecamada directa da estirpe indicadora nas placas de Petri provenientes das diluições do solo 10^{-3} e 10^{-4} ; 2) por isolamento de colónias e posterior sobrecamada com a estirpe indicadora; 3) pela técnica de riscado. Nas duas primeiras, as estirpes produtoras de antibióticos identificam-se pela presença de um halo de inibição do crescimento da estirpe indicadora circundando a colónia produtora (Figura 3.1 A). Na técnica de riscado, a produção de antibióticos verifica-se sempre que ocorrer inibição do crescimento da estirpe indicadora junto à extremidade do traço correspondente à colónia produtora (Figura 3.1 B).

Para esta actividade testaram-se dois meios de cultura selectivos (meio de isolamento e meio de crescimento) para a selecção de bactérias *Actinomycetes* do género *Streptomyces*, e um meio complexo, o *nutrient agar* (NA). A escolha de meios selectivos e complexos, destinou-se a comparar resultados, de modo a escolher o mais adequado para detectar e isolar bactérias produtoras de antibióticos em contextos escolares.

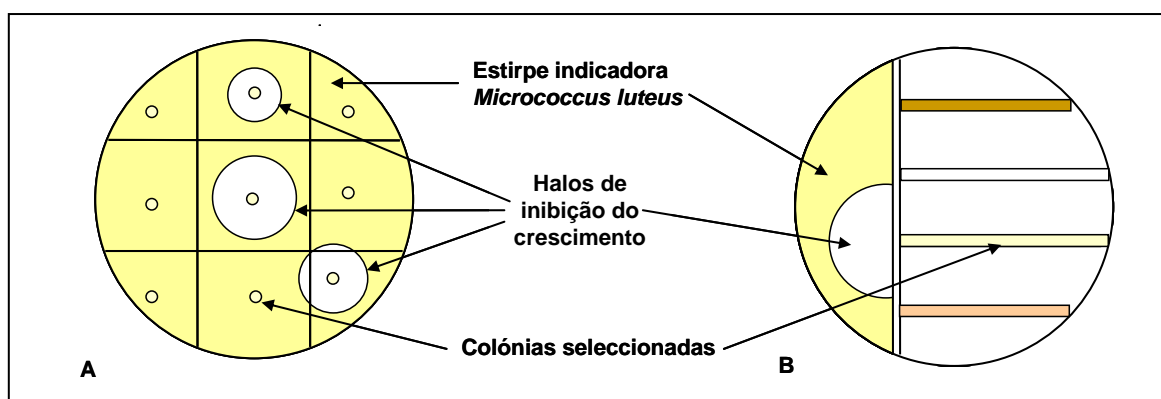


Figura 3.1 – Detecção da produção de antibióticos pela técnica de sobrecamada (A) e técnica de riscado (B). Os halos formam-se pela inibição do crescimento da estirpe indicadora em volta de colónias produtoras (A) e na extremidade do traço de crescimento da colónia produtora (B).

Objectivos específicos:

- Desenvolver competências em técnicas de assepsia para a manipulação de microrganismos;
- Conhecer técnicas de isolamento de microrganismos em cultura pura a partir de uma população mista;
- Aplicar métodos de diluições sucessivas para isolar colónias a partir de populações mistas;
- Aplicar técnicas de inoculação de microrganismos (e.g. incorporação e espalhamento);
- Detectar produtos do metabolismo microbiano – antibióticos;
- Compreender conceitos de microbiologia/biotecnologia microbiana.

Cuidados a ter:

- Antes de iniciar a actividade, desinfectar a bancada do laboratório com lixívia e acender a lamparina;
- Lavar bem as mãos e passá-las por álcool etílico;
- Cumprir rigorosamente as técnicas de assepsia para evitar qualquer tipo de contaminação microbiana indesejada, a nível pessoal, do ambiente de trabalho e do material utilizado, assim como, das culturas de microrganismos que se pretendem estudar (Oliveira & Pampulha, 2000);
- Os instrumentos de trabalho devem ser esterilizados e todos os procedimentos devem realizar-se de modo a minimizar a exposição ao ar (*Ibid.*);
- Depois de inoculadas com microrganismos, a incubação deve fazer-se com as placas de Petri invertidas, para evitar que as gotas formadas na tampa por condensação caiam sobre as culturas em crescimento;
- As placas de Petri com colónias crescidas podem guardar-se no frigorífico;
- Após a conclusão dos trabalhos, deve esterilizar-se no autoclave todo o material que contenha e/ou tenha estado em contacto com microrganismos do solo.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.11. A preparação dos meios de cultura utilizados descreve-se no Anexo 1.

Tabela 3.11 – Materiais, reagentes e equipamentos para a detecção e o isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • algodão cardado • ansa de inoculação • espalhador de vidro • folha de alumínio • 2 frascos de vidro de 500 mL, com tampa, para autoclave (e.g. Schott®) • frascos de urina • gaze • lamparina • marcador de acetato • 1 micropipeta P200 e P1000 • palitos de madeira (esterilizados) • película aderente • 1 placa de Petri de vidro 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 placas de Petri com meio de isolamento (para as diluições) • 3 placas de Petri com meio de crescimento (para o isolamento de colónias) • 19 placas de Petri com meio NA (10 placas para as diluições, 3 para o isolamento de colónias e 6 para a técnica de riscado) • régua • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 5 tubos de ensaio (20x150 mm) • pontas de 200 µL e 1000 µL (esterilizadas) 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • balança de precisão • estufa • frigorífico • microondas
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • solução de álcool etílico a 96% (v/v) • cicloheximida⁹ (opcional) • meio de isolamento (caseína hidrolisada, amido solúvel, nitrato de potássio, hidrogenofosfato de dipotássio, fosfato de magnésio, carbonato de cálcio, agar) • meio de crescimento (glicose, extracto de levedura, nitrato de potássio, hidrogenofosfato de dipotássio, agar) • meio de cultura NA (<i>nutrient agar</i>) • meio de cultura NB (<i>nutrient broth</i>) 		<ul style="list-style-type: none"> • 1g de solo • cultura em meio sólido de <i>Micrococcus luteus</i>

Procedimentos prévios:

- Recolher cerca de 5 g de solo a 10 cm da superfície. Guardar o solo no escuro (e.g. dentro de uma caixa fechada) durante uma semana, num saco de plástico aberto;
- Preparar as placas de Petri com os seguintes meios de cultura – isolamento, crescimento e NA;
- Esterilizar as pontas para as micropipetas e os palitos de madeira (e.g. em frascos de urina);
- Preparar os tubos de ensaio da seguinte forma: numerá-los de acordo com as diluições a efectuar (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) e, adicionar ao primeiro 10 mL de água destilada e 9 mL aos restantes quatro. Esterilizar os tubos tapados com as rolhas (formadas por algodão cardado envolvido em gaze), revestidas por folha de alumínio;
- Colocar a estirpe indicadora *Micrococcus luteus* a crescer em meio NA;
- Preparar 25 mL de meio líquido NB.

⁹ A cicloheximida é utilizada pela sua capacidade de inibir o crescimento de fungos (Barnard, 1994), sendo um inibidor da síntese proteica em células eucarióticas.

http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/AEF/1994/barnard_isolation.php [Acedido: 10/02/2007]

A2) AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ANTIBIÓTICOS, ANTISSEPTICOS E DESINFECTANTES EM BACTÉRIAS DO SOLO PRODUTORAS DE ANTIBIÓTICOS

Para verificar a capacidade de resistência e/ou sensibilidade de bactérias do solo produtoras de antibióticos (isoladas no trabalho prático anterior), quando sujeitas a diferentes agentes antimicrobianos, avaliou-se a eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfectantes. Retiraram-se inicialmente alíquotas das bactérias produtoras de antibióticos e colocaram-se a crescer em meio líquido TSB. Após três dias de crescimento as bactérias foram inoculadas por dois processos: o primeiro, por incorporação em meio de cultura TSA (previamente fundido e mantido a 45-50°C); o segundo, por espalhamento sobre o meio de cultura TSA sólido. As etapas concebidas e optimizadas descrevem-se e ilustram-se no procedimento 12 (ver Anexo 16).

Como antibióticos, sob a forma de discos de potência conhecida (quantidade do agente aplicada no disco em μg ou U) (Alcântara *et al.*, 2001), utilizou-se a penicilina (2 U) e a tetraciclina (10 μg). Em comprimidos e cápsulas comerciais utilizaram-se, respectivamente, amoxicilina (*Clamoxyl*[®]) e um macrólido (*Macropen*[®]). Relativamente aos antissépticos utilizou-se a solução de álcool etílico a 96%, água oxigenada (10 volumes) e *Betadine*[®] (solução dérmica comercial), e como desinfectantes, lixívia e *Amokina*[®]. A avaliação da eficácia destes agentes químicos efectuou-se pelo contacto com discos de papel de filtro saturados com o agente químico a testar e medindo o diâmetro das zonas de inibição do crescimento das estirpes bacterianas. O agente químico absorvido pelo agar circundante entra em contacto com a bactéria inoculada no meio de cultura (Alcântara *et al.*, 2001) e, caso se verifique inibição do seu crescimento, considera-se que o agente testado se revelou eficaz relativamente à bactéria estudada.

A sequência de discos de papel de filtro com antibióticos, antissépticos e desinfectantes, colocados nas placas de Petri inoculadas por incorporação e espalhamento, representam-se na Figura 3.2.

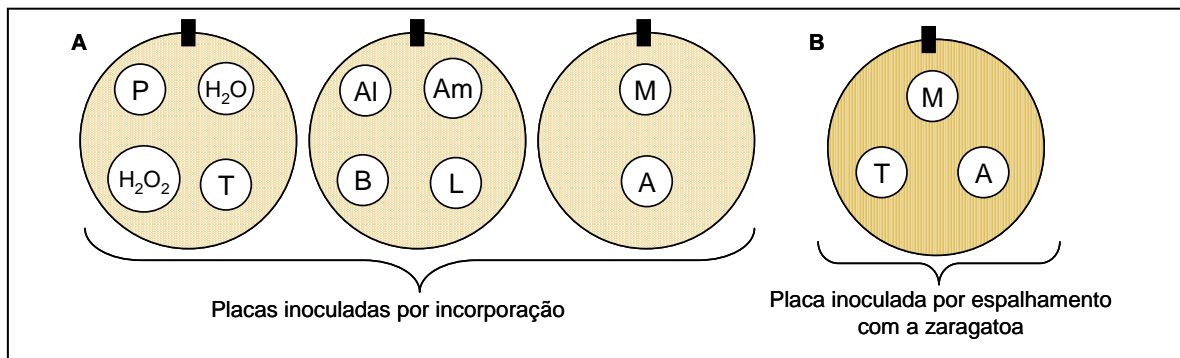


Figura 3.2 – Sequência de discos de papel de filtro embebidos com antibióticos, antissépticos e desinfetantes nas placas de Petri inoculadas por incorporação (A) e espalhamento com a zaragatoa (B). P – penicilina, H₂O – água destilada (esterilizada), H₂O₂ – peróxido de hidrogênio (água oxigenada a 10 volumes), T – tetraciclina, Al – álcool etílico, Am – Amokina®, B – Betadine®, L – lixívia, M – macrólide, A – amoxicilina. A marcação a preto no topo das placas de Petri indica a sequência dos discos de papel de filtro indispensável para registrar as observações e interpretá-las.

Objectivos específicos:

- Desenvolver competências em técnicas de assepsia utilizadas na manipulação de culturas puras;
- Aplicar técnicas de inoculação de microrganismos (e.g. incorporação e espalhamento);
- Conhecer o comportamento de algumas estirpes bacterianas produtoras de antibióticos quando expostas a diferentes substâncias antimicrobianas;
- Compreender conceitos de microbiologia.

Cuidados a ter: Os mesmos para o trabalho prático anterior.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.12.

Tabela 3.12 – Materiais, reagentes e equipamentos para a avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfetantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • ansa de inoculação • discos de papel de filtro (<i>Antibiotic assay discs</i>, e.g. <i>Whatman</i>[®]) • 4 frascos de vidro de 100 mL, com tampa, para autoclave (e.g. <i>Schott</i>[®]) • 5 frascos de urina (esterilizados) • 1 frasco com água destilada (esterilizado) • 2 frascos de vidro de 100 mL, com tampa, para autoclave (esterilizados) • lamparina • marcador de acetato • micropipeta P1000 	<ul style="list-style-type: none"> • 12 placas de Petri (esterilizadas) • 4 placas de Petri com meio TSA • régua • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 4 tubos de ensaio de tampa metálica, cada um com 10 mL de meio TSB (esterilizados) • pontas de 1000 µL (esterilizadas) • zaragatoa 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • balança de precisão • estufa • frigorífico
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada (esterilizada) • solução de álcool etílico a 96% (v/v) • <i>Amokina</i>[®] – 10 mL • <i>Betadine</i>[®] (solução dérmica comercial) – 10 mL • <i>Clamoxyl</i>[®] – 1 comprimido de 1 g • discos de papel com penicilina (2 U) • discos de papel com tetraciclina (10 µg) 	<ul style="list-style-type: none"> • lixívia comercial – 10 mL • <i>Macropen</i>[®] – 1 cápsula de 500 mg • meio de cultura TSA (<i>Tryptic soy agar</i>) • meio de cultura TSB (<i>Tryptic soy broth</i>) • água oxigenada comercial a 10 volumes (3%) – 10 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • bactérias do solo produtoras de antibióticos isoladas anteriormente

Procedimentos prévios:

- Preparar as placas de Petri com meio TSA e os tubos de ensaio de tampa metálica com 10 mL de meio líquido TSB em cada um;
- Esterilizar as pontas para a micropipeta, o frasco com água destilada, os frascos de urina e os tubos de ensaio com meio líquido TSB;
- Preparar 4 frascos de vidro com 80 mL de meio TSA, à temperatura de 45-50°C (e.g. *Schott*[®]);
- Diluir os antibióticos em água destilada esterilizada: *Macropen*[®] 500 mg/50 mL de água (10 mg/mL); *Clamoxyl*[®] 1000 mg/100 mL de água (10 mg/mL). Em função da solubilidade do antibiótico, a concentração final poderá ser inferior à calculada.

A3) DETECÇÃO DE ENZIMAS PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS DO SOLO

Nesta actividade utilizou-se uma amostra de solo rica em matéria orgânica proveniente do mesmo local onde se recolheu a amostra para os trabalhos práticos anteriores. Como se referiu na actividade “*Deteção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos*”, secou-se a amostra de solo depois de recolhida, colocando-a num local escuro, durante uma semana à temperatura ambiente. Para detectar enzimas

hidrolíticas extracelulares – amilases – produzidas por bactérias do solo utilizou-se o meio NA suplementado com amido solúvel (EIBE, 1995; Oliveira & Pampulha, 2000). Conceberam-se e optimizaram-se dois procedimentos: o primeiro consistiu no espalhamento em meio de cultura sólido de volumes conhecidos (200 µL) da suspensão de solo, obtidos a partir de diluições sucessivas da amostra recolhida (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}) (ver procedimento 9, “*Isolamento de bactérias do solo*”, Anexo 13); o segundo consistiu na obtenção de dois poços no meio de cultura, introduzindo água destilada esterilizada num dos poços e o mesmo volume da suspensão de solo (também proveniente das mesmas diluições) no outro poço (ver procedimento 13, Anexo 17).

Após a incubação, detectou-se a actividade hidrolítica determinando a presença, ou ausência, de amido no meio de cultura. Para tal, efectuou-se o teste com soluto de Lugol, que permite identificar a presença de amido pela coloração azul arroxeada (EIBE, 1995; Oliveira & Pampulha, 2000), a qual indica ausência de enzimas capazes de hidrolisar o amido – corresponde a um resultado negativo. A ausência deste polissacarídeo origina uma zona clara (zona de hidrólise) em torno dos microrganismos produtores de amilases – corresponde a um resultado positivo (Oliveira & Pampulha, 2000) (Figura 3.3). Esta zona de hidrólise resulta da degradação enzimática do amido em compostos que não reagem com o iodo do soluto de Lugol (*Ibid.*).

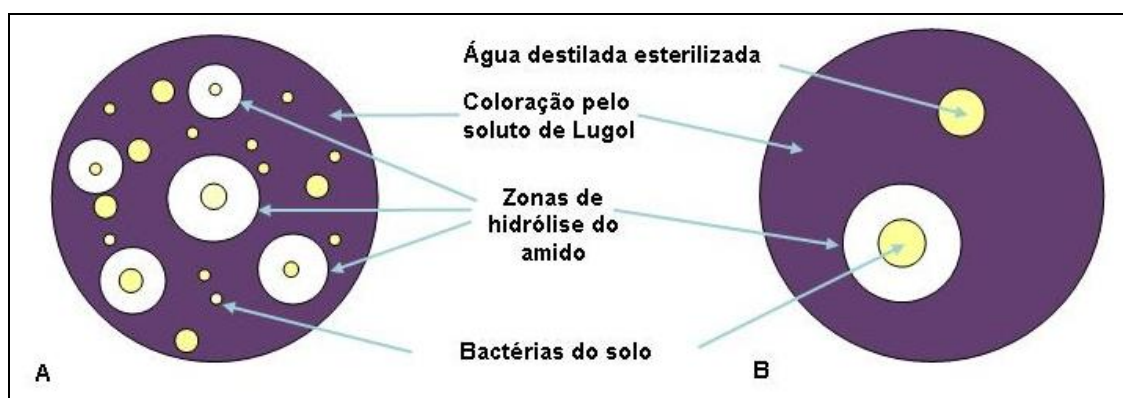


Figura 3.3 – Zonas de hidrólise do amido em torno de bactérias produtoras de amilases, após adição do soluto de Lugol (resultado positivo). Inoculação por espalhamento (A) e adição do inóculo num dos poços (B).

Objectivos específicos:

- Desenvolver competências em técnicas de assepsia utilizadas na manipulação de microrganismos;
- Aplicar técnicas de inoculação de microrganismos (e.g. espalhamento e adição do inóculo em poços no meio de cultura);

- Aplicar métodos de diluições sucessivas para isolar colónias a partir de populações mistas;
- Avaliar a capacidade de microrganismos produzirem enzimas hidrolíticas extracelulares;
- Detectar produtos do metabolismo microbiano – amilases;
- Compreender conceitos de microbiologia/biotecnologia microbiana.

Cuidados a ter: Os mesmos que foram referidos para os trabalhos práticos com bactérias do solo.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.13.

Tabela 3.13 – Materiais, reagentes e equipamentos para a detecção de enzimas produzidas por bactérias do solo.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 agulha lanceolada • algodão cardado • espalhador de vidro • folha de alumínio • 1 frasco de vidro de 1000 mL, com tampa, para autoclave (e.g. Schott®) • furador de rolhas (5 mm) • gaze • 1 <i>gobelé</i> de vidro de 50 mL • lamparina 	<ul style="list-style-type: none"> • marcador de acetato • micropipeta P200 • 1 pipeta de vidro • 1 placa de Petri de vidro • pontas de 200 µL (esterilizadas) • 24 placas de Petri com meio NA e amido solúvel • régua • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 5 tubos de ensaio (20x150 mm) 	<ul style="list-style-type: none"> • autoclave • balança de precisão • estufa • frigorífico
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • amido solúvel • água destilada • solução de álcool etílico a 96% (v/v) 	<ul style="list-style-type: none"> • meio de cultura NA • soluto de Lugol 	<ul style="list-style-type: none"> • 1g de solo

Procedimentos prévios:

- Recolher a amostra de solo e preparar os tubos de ensaio para as diluições, como se descreveu para a actividade “*Deteção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos*”;
- Preparar as placas de Petri com meio de cultura NA suplementado com amido solúvel (adicionar 20 g de meio NA e 2 g de amido, e perfazer o volume de 1000 mL com água destilada);
- Esterilizar as pontas para a micropipeta.

B) ENZIMAS MICROBIANAS NA INDÚSTRIA ALIMENTAR

B1) PEELING ENZIMÁTICO DE CITRINOS

O *peeling* enzimático aplicado a frutos é uma tecnologia que pretende substituir métodos mais antigos que usavam, por exemplo, vapor de água (Madden, 2000). Novas misturas de enzimas podem produzir segmentos de citrinos limpos, sem resíduos, com boa textura e gosto, para usar em produtos frescos, congelados ou de conserva (*Ibid.*). A casca de citrinos é uma fonte de pectina e a sua quantidade depende da variedade do fruto. Embora encontrada em todos os tecidos vegetais, os citrinos e as maçãs são frutos ricos em pectina.

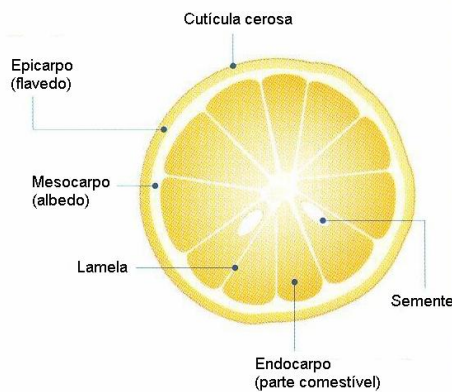


Figura 3.4 – Estrutura da laranja (Retirada de Madden, 2000, p.5).

A laranja (*Citrus sinensis*) (Figura 3.4) é um fruto carnudo em que o endocarpo não forma caroço, apresentando-se membranoso e com pêlos pluricelulares nos quais existe o sumo, constituindo a parte comestível do fruto¹⁰. O exocarpo ou epicarpo, também designado flavedo, é a parte pigmentada e glandular da casca. O mesocarpo esponjoso recebe o nome de albedo devido à sua cor branca.

Nesta actividade, testou-se a acção da pectinase em laranjas, de acordo com as etapas descritas e ilustradas no procedimento 14 (ver Anexo 18).

Objectivos específicos:

- Compreender o mecanismo de actuação enzimática;
- Conhecer como se podem utilizar pectinases para descascar citrinos;
- Estudar processos enzimáticos de produção biotecnológica de alimentos.

Cuidados a ter:

- A laranja descascada nesta actividade não pode ser consumida, devido à elevada quantidade de enzima utilizada (Madden, 2000).

¹⁰ http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema6/6_5cla-carnosos.htm [Acedido: 10/02/2007]

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.14.

Tabela 3.14 – Materiais, reagentes e equipamentos para o *peeling* enzimático de citrinos.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS	
<ul style="list-style-type: none"> • 1 folha de lixa • 1 <i>gobelé</i> de 500 mL • película aderente 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 proveta de 25 mL • 1 proveta de 250 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • banho-maria (regulado entre 35-40°C) • medidor de pH (opcional) 	
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO	
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 285 mL • pectinase (<i>Pectinex</i>[®]) – 15 mL 		<ul style="list-style-type: none"> • 1 laranja/limão 	

B2) ACÇÃO ENZIMÁTICA NA PRODUÇÃO DE SUMO DE MAÇÃ

As enzimas desempenham um papel muito importante na tecnologia da produção de sumos de fruta. A extracção enzimática do sumo de maçã foi introduzida há cerca de 30 anos, e hoje em dia, cerca de 3-5 milhões de toneladas de maçãs são anualmente transformadas em todo mundo (Madden, 2000). As pectinases foram as primeiras enzimas utilizadas comercialmente no fabrico de vinhos e sumos de fruta. Na década de 60 do século XX, com o conhecimento da estrutura e composição química dos tecidos vegetais, foi possível aplicar enzimas, de forma mais eficiente, no processamento de frutas (*Ibid.*).

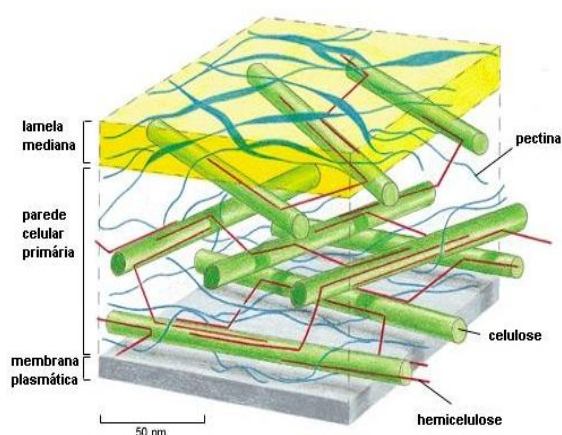


Figura 3.5 – Estrutura da parede celular de células vegetais (Retirada de: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=mboc4&part=A3603&rendertype=figure&id=A3610>). [Acedido: 10/08/2009]

Devido à presença de polissacarídeos nas paredes celulares das células vegetais (Figura 3.5) o processamento de frutas requer tratamento enzimático, quer para aumentar o rendimento da produção de sumo, quer para melhorar a sua qualidade. As pectinases formam um conjunto de enzimas capazes de remover a pectina (Macedo *et al.*, 2003). A degradação enzimática da pectina facilita a digestão da celulose durante o processamento da maçã.

Em termos de procedimento, testou-se o efeito das enzimas pectinase e celulase, isoladamente, e em conjunto, sobre a polpa de maçã (*Malus domestica*, variedade “Royal Gala”). As etapas descrevem-se e ilustram-se no procedimento 15 (ver Anexo 19).

Objectivos específicos:

- Estudar o efeito de diferentes enzimas, isoladamente, e em conjunto, na produção de sumo de maçã;
- Estudar processos enzimáticos de produção biotecnológica de alimentos.

Cuidados a ter:

- O sumo obtido nesta actividade não pode ser consumido, uma vez que a concentração de enzima é muito maior do que a utilizada industrialmente (em que se adiciona 130 mL de enzima por tonelada de maçãs) (Madden, 2000).

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.15.

Tabela 3.15 – Materiais, reagentes e equipamentos para a produção de sumo de maçã.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 faca • 4 filtros de café (Nº 2) • 4 funis de vidro médios • 1 garfo • 4 gobelés/balões Erlenmeyer de 100 mL • marcador de acetato • película aderente 	<ul style="list-style-type: none"> • 3 pipetas de 1 mL • 1 placa de Petri grande • 1 propipeta • 4 provetas de vidro graduadas de 50 mL • 1 suporte de tubos de ensaio • 4 tubos de ensaio • 1 vareta de vidro 	<ul style="list-style-type: none"> • balança de precisão • banho-maria (regulado a 40°C) • frigorífico • relógio/cronómetro
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 5 mL • pectinase (<i>Pectinex</i>[®]) – 1,5 mL • celulase (<i>Celluclast</i>[®]) – 1,5 mL 		<ul style="list-style-type: none"> • 3 maçãs médias – 200 g

B3) ACÇÃO DA LACTASE SOBRE O LEITE POR IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA

A enzima lactase (β -galactosidade) é largamente utilizada na indústria de lacticínios para hidrolisar a lactose (açúcar do leite) transformando-a em glicose e galactose, que além de conferirem um sabor mais doce ao leite, permitem transformá-lo num alimento de fácil digestão (NCBE, 1995b). Este processo é particularmente importante para as

peessoas intolerantes à lactose, estimando-se que esta situação possa atingir 75% da população mundial em idade adulta (*Ibid.*). O leite pode ser tratado com esta enzima de forma directa ou através da sua imobilização para reutilização. Testou-se a acção da lactase sobre o leite por imobilização da enzima, de acordo com as etapas descritas e ilustradas no procedimento 16 (ver Anexo 20).

Uma vez que a lactase é fortemente inibida pela galactose, a velocidade com que o leite atravessa a coluna com a enzima imobilizada é um processo crítico na taxa de reacção enzimática: para um processo rápido não há tempo para que a reacção de hidrólise ocorra; num processo demasiado lento a acumulação de galactose pode inibir a reacção (NCBE, 1995b). A digestão da lactose efectuou-se imobilizando a lactase em pérolas de alginato de cálcio, colocadas no interior de uma coluna por onde passa o leite. Para a obtenção de resultados foi necessário regular a velocidade da passagem do leite pelas pérolas de alginato de cálcio (com a enzima imobilizada) que permitisse o gotejamento do leite, em intervalos regulares, de forma lenta e contínua. Verificou-se a hidrólise da lactose identificando a presença, ou ausência, de glicose no leite que atravessou a coluna com a enzima imobilizada, através de tiras de detecção de glicose (*e.g.* para diabéticos).

Objectivos específicos:

- Compreender a importância da enzima lactase;
- Conhecer uma forma de imobilização enzimática;
- Estudar processos enzimáticos de produção biotecnológica de alimentos.

Cuidados a ter:

- Todas as soluções devem ser preparadas com água destilada uma vez que os iões cálcio da água da torneira podem provocar a precipitação do alginato;
- Para facilitar a dissolução do alginato de sódio na água, deve preparar-se a solução a 2% com aquecimento, mexendo sempre até se obter uma solução viscosa. Devido às dificuldades referidas, esta solução deve preparar-se com antecedência.

Materiais, reagentes e equipamentos:

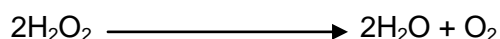
Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se na Tabela 3.16.

Tabela 3.16 – Materiais, reagentes e equipamentos para a acção da lactase sobre o leite.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • espetos de madeira pequenos (e.g. para espetadas) • gaze (círculo de 1 cm) • 1 <i>gobelé</i> de 50 mL e de 250 mL • 1 passador de leite • 1 pipeta de 5 mL • 1 proveta de 10 mL e de 50 mL • propipeta • 1 proveta de vidro graduada de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • 2 seringas de 10 mL • 1 suporte de tubos de ensaio • 2 tiras de teste de glicose (e.g. para diabéticos) • 1 gotejador (adaptado como torneira) • tubo de silicone (3 cm) • 1 vareta de vidro • 2 vidros de relógio 	<ul style="list-style-type: none"> • balança de precisão • placa de aquecimento
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • alginato de sódio a 2% (m/v) – 8 mL • cloreto de cálcio (1,5%) (m/v) – 100 mL • lactase (<i>Lactozym</i>[®]) – 2 mL 		<ul style="list-style-type: none"> • leite do dia – 25 mL

C) ESTUDO QUANTITATIVO DA ACTIVIDADE ENZIMÁTICA DA CATALASE¹¹

O peróxido de hidrogénio (H₂O₂) é um produto tóxico resultante do metabolismo celular. É um forte agente oxidante (Nichols & Cholewiak, 1991), que pode causar danos em muitas moléculas biológicas, como lípidos, proteínas e DNA (Bianchi & Antunes, 1999; Zoppi, 2003) levando à morte celular. A catalase é uma enzima extremamente importante para prevenir danos resultantes de processos de oxidação na célula, impedindo a acumulação de peróxido de hidrogénio, uma vez que acelera a sua decomposição em água (H₂O) e oxigénio (O₂), de acordo com a seguinte equação:



Nesta reacção, o peróxido de hidrogénio funciona como substrato da catalase. A catalase encontra-se nos peroxissomas de células animais e vegetais e também no citoplasma de algumas bactérias. É especialmente abundante nos órgãos de reserva das plantas, como no tubérculo da batateira, bolbos e partes carnudas dos frutos (Nichols & Cholewiak, 1991). Encontra-se igualmente, em abundância, no sangue, medula óssea, mucosas, rim e fígado dos animais (Ferreira & Matsubara, 1997). A catalase, sendo um biocatalisador, baixa a energia de activação necessária numa reacção química, aumentando a velocidade da reacção.

A acção da catalase pode observar-se quando se utiliza água oxigenada na desinfeção de uma ferida. As bolhas de gás que então se observam correspondem ao

¹¹ Parte desta introdução foi utilizada na elaboração do contexto problemático “Menos radicais livres, mais vida...o caso da catalase”, apresentado na OF.

oxigénio libertado na reacção de decomposição do peróxido de hidrogénio (Reinach, 2005).

Esta actividade experimental iniciou-se com a extracção da catalase do tubérculo da batateira, cujas etapas estão descritas e ilustradas no procedimento 17 (ver Anexo 21). Os procedimentos testados para o estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase encontram-se descritos e ilustrados para os seguintes factores: concentração de enzima – procedimento 18 (ver Anexo 22); concentração de substrato – procedimento 19 (ver Anexo 23); temperatura – procedimento 20 (ver Anexo 24); pH – procedimento 21 (ver Anexo 25). O processo consistiu em mergulhar um círculo de papel de filtro na solução de enzima (catalase), seguindo-se a sua introdução na solução de substrato (peróxido de hidrogénio). O oxigénio libertado na reacção enzimática acumula-se debaixo do papel de filtro fazendo-o subir até à superfície onde acaba por flutuar (Nichols & Cholewiak, 1991). O tempo, em segundos, que demora o papel de filtro, desde o momento que é colocado em contacto com a solução de peróxido de hidrogénio, no fundo do tubo de ensaio, até subir à superfície, permitiu quantificar a velocidade da reacção em segundos (velocidade da reacção: $1/t$) (*Ibid.*). Repetiu-se o procedimento duas vezes, para cada ensaio, correspondendo os resultados à média dos tempos registados.

Objectivos específicos:

- Compreender o significado biológico das enzimas e da catálise enzimática;
- Conhecer o mecanismo de actuação e a importância da catalase;
- Avaliar os efeitos da concentração de enzima, concentração de substrato, variação da temperatura e do pH na actividade enzimática;
- Determinar a velocidade da reacção em função da concentração de enzima, concentração de substrato, variação da temperatura e do pH.

Cuidados a ter:

- A extracção da catalase pode efectuar-se previamente, devendo a solução da enzima colocar-se em frascos fechados e guardados no frigorífico. A água destilada utilizada na extracção deve arrefecer-se previamente no frigorífico;
- A catalase, quando fora do frigorífico, deve manter-se sempre em gelo;
- Quando se mergulha o papel de filtro na solução de peróxido de hidrogénio, antes de efectuar novo ensaio, deve passar-se sempre a pinça por água da torneira e secá-la com papel absorvente;

- No estudo do efeito da variação da temperatura na actividade enzimática, não ferver o peróxido de hidrogénio;
- No estudo do efeito da variação do pH deve ter-se especial atenção ao manusear ácidos e bases (utilizar luvas).

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se nas Tabelas 3.17 (extracção de catalase), 3.18 (estudo da concentração de enzima), 3.19 (estudo da concentração de substrato), 3.20 (efeito da variação da temperatura) e 3.21 (efeito da variação do pH).

Tabela 3.17 – Materiais, reagentes e equipamentos para a extracção da catalase.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 faca • 1 folha de papel de filtro (110 mm) • 1 proveta de 100 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 frasco de vidro de 100 mL • 1 funil de vidro (100 mm) 	<ul style="list-style-type: none"> • balança de precisão • frigorífico • liquidificadora (misturadora doméstica)
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 100 mL • gelo picado – 25 g 		<ul style="list-style-type: none"> • 1 batata nova – 50 g

Tabela 3.18 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo da concentração de enzima na actividade da catalase.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 caixa de esferovite pequena • 1 cronómetro • discos de papel de filtro <i>Whatman</i>[®] de 1 cm • 1 folha de papel absorvente • 5 <i>gobelés</i>/tubos tipo <i>Falcon</i>[®] de 50 mL • marcador de acetato 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 pinça de 25 cm • 1 proveta de 25 mL e de 50 mL • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 5 tubos de ensaio (20x150 mm)/provetas de vidro de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • frigorífico
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 50 mL • água oxigenada comercial a 10 volumes (3%) – 200 mL • gelo picado 		<ul style="list-style-type: none"> • extracto de catalase de batata – 50 mL

Tabela 3.19 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo da concentração de substrato na actividade da catalase.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 caixa de esferovite pequena • 1 cronómetro • discos de papel de filtro <i>Whatman</i>[®] de 1 cm • 1 folha de papel absorvente • 1 <i>gobelé</i> de 50 mL • marcador de acetato 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 pinça de 25 cm • 1 proveta de 25 mL e de 50 mL • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 5 tubos de ensaio (20x150 mm)/provetas de vidro de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • frigorífico
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 125 mL • água oxigenada comercial a 10 volumes (3%) – 75 mL • água oxigenada a 20 volumes (6%) – 70 mL • água oxigenada a 30 volumes (9%) – 105 mL • gelo picado 		<ul style="list-style-type: none"> • extracto de catalase de batata – 20 mL

Tabela 3.20 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do efeito da variação da temperatura na actividade da catalase.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 caixa de esferovite pequena • 1 cronómetro • discos de papel de filtro <i>Whatman</i>[®] de 1 cm • 1 folha de papel absorvente • 4 <i>gobelés</i> de 50 mL • 1 <i>gobelé</i> de 100 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • marcador de acetato • 1 pinça de 25 cm • 1 proveta de 25 mL • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 4 tubos de ensaio (20x150 mm)/provetas de vidro de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • frigorífico • banho-maria • placa de aquecimento
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 120 mL • água oxigenada comercial a 10 volumes (3%) – 60 mL • gelo picado 		<ul style="list-style-type: none"> • extracto de catalase de batata – 20 mL

Tabela 3.21 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do efeito da variação do pH na actividade da catalase.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 1 caixa de esferovite pequena • 1 cronómetro • discos de papel de filtro <i>Whatman</i>[®] de 1 cm • 1 folha de papel absorvente • marcador de acetato • 1 pinça de 25 cm • 3 pipetas de 5 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 suporte de tubos de ensaio (25 mm) • 3 tubos de ensaio (16x160 mm)/<i>gobelés</i> de 50 mL • 3 tubos de ensaio (20x150 mm)/provetas de vidro de 50 mL 	<ul style="list-style-type: none"> • frigorífico • medidor de pH
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada – 120 mL • água oxigenada comercial a 10 volumes (3%) – 60 mL • gelo picado 		<ul style="list-style-type: none"> • extracto de catalase de batata – 15 mL

D) LEVEDURAS EM PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO ALCÓOLICA¹²

As leveduras fermentam açúcares, na ausência de oxigénio, produzindo álcool etílico e dióxido de carbono. Na produção de álcool etílico, podem utilizar-se diferentes matérias-primas, de acordo com o tipo de hidratos de carbono presentes:

- Matérias-primas açucaradas, designadamente cana-de-açúcar, beterraba açucareira, mel e frutas – contêm açúcares simples (monossacarídeos), como a glicose e a frutose, directamente fermentáveis e utilizados na produção de bebidas, como o vinho e a sidra, e dissacarídeos, como a sacarose e a maltose, fermentáveis após hidrólise enzimática (Ferreira & Montes, 1999; Rodrigues *et al.*, 2000; SBRT, 2006);
- Matérias-primas amiláceas, designadamente cereais (*e.g.* milho, sorgo, cevada, trigo), tubérculos (*e.g.* batata, batata-doce) e raízes (*e.g.* mandioca) – contêm hidratos de carbono complexos, como o amido (SBRT, 2006).

No âmbito da fermentação alcoólica conceberam-se e optimizaram-se actividades práticas com a *Saccharomyces cerevisiae* (vulgarmente conhecida como levedura de cerveja ou fermento de padeiro), de forma a conhecer melhor o processo de fermentação alcoólica, sobretudo os factores que afectam a velocidade da reacção de fermentação,

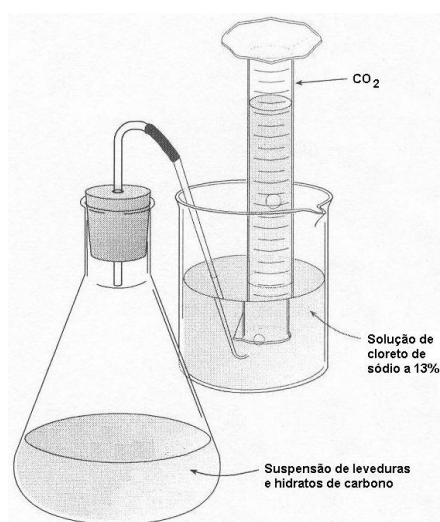


Figura 3.6 – Montagem do fermentador (Adaptada de EIBE, 1995, p.24).

como tipo de substrato e temperatura. As etapas para o estudo do tipo de substrato estão descritas e ilustradas no procedimento 22 (ver Anexo 26) e, para o efeito da variação da temperatura, no procedimento 23 (ver Anexo 27). Avaliou-se o rendimento fermentativo pela quantificação do volume de dióxido de carbono libertado em função do tempo. Na montagem dos fermentadores, o dióxido de carbono deve fluir, no estado gasoso, através da solução de cloreto de sódio existente na proveta invertida, para que seja possível quantificar-se o volume produzido (Figura 3.6).

¹² Parte desta introdução foi utilizada na elaboração do contexto problemático “Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica”, apresentado na OF.

Objectivos específicos:

- Relacionar a degradação de compostos orgânicos com a obtenção de energia biologicamente utilizável;
- Compreender as condições determinantes da ocorrência de fermentação alcoólica;
- Estudar o tipo de substrato e o efeito da variação da temperatura na fermentação alcoólica;
- Medir a velocidade da reacção em função do volume de dióxido de carbono libertado no estado gasoso;
- Estudar processos de produção biotecnológica de alimentos que envolvem a utilização de microrganismos.

Cuidados a ter:

- A suspensão de leveduras, a solução de cloreto de sódio e as soluções de glicose, sacarose e amido devem preparar-se com antecedência. Para facilitar a dissolução da glicose, aquecer ligeiramente a solução de modo a ficar transparente;
- Na montagem dos fermentadores, para evitar acidentes, deve haver especial cuidado nas ligações dos tubos de vidro aos de silicone.

Materiais, reagentes e equipamentos:

Os materiais, reagentes e equipamentos para este trabalho prático apresentam-se nas Tabelas 3.22 (estudo do tipo de substrato) e 3.23 (efeito da variação da temperatura).

Tabela 3.22 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do tipo de substrato no rendimento da fermentação alcoólica.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 4 balões <i>Erlenmeyer</i>, com rosca e tampa, de 250 mL • cordel • 4 <i>gobelés</i> de boca larga de 500 mL • marcador de acetato • parafilme • película aderente 	<ul style="list-style-type: none"> • 4 provetas graduadas de 100 mL • 4 rolhas com um furo • 4 suportes para apoiar as provetas invertidas/suportes universais • 4 tubos de silicone de 50 cm de comprimento • 4 tubos de vidro dobrados em L 	<ul style="list-style-type: none"> • agitador magnético • balança de precisão • placa de aquecimento
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • solução de cloreto de sódio a 13% (m/v) – 3 L • solução de glicose a 30% (m/v) – 200 mL • solução de sacarose a 30% (m/v) – 200 mL • solução de amido (solúvel) a 30% (m/v) – 200 mL 		<ul style="list-style-type: none"> • levedura – fermento de padeiro – 20 g

Tabela 3.23 – Materiais, reagentes e equipamentos para o estudo do efeito da variação da temperatura no rendimento da fermentação alcoólica.

MATERIAL DE LABORATÓRIO E OUTRO		EQUIPAMENTOS
<ul style="list-style-type: none"> • 4 balões <i>Erlenmeyer</i>, com rosca e tampa, de 250 mL • cordel • 4 <i>gobelés</i> de boca larga de 500 mL • marcador de acetato • parafilme • película aderente 	<ul style="list-style-type: none"> • 4 provetas graduadas de 100 mL • 4 rolhas com um furo • 4 suportes para apoiar as provetas invertidas/suportes universais • 4 tubos de silicone de 50 cm de comprimento • 4 tubos de vidro dobrados em L 	<ul style="list-style-type: none"> • agitador magnético • balança de precisão • banho-maria • placa de aquecimento
REAGENTES		MATERIAL BIOLÓGICO
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • solução de cloreto de sódio a 13% (m/v) – 3 L • solução de glicose a 30% (m/v) – 800 mL 		<ul style="list-style-type: none"> • levedura – fermento de padeiro – 20 g

3.3. ACÇÃO DE FORMAÇÃO PARA PROFESSORES DE BIOLOGIA E/OU GEOLOGIA

3.3.1. CONTEXTUALIZAÇÃO

A concepção, desenvolvimento, implementação e avaliação de um programa de formação para professores de Biologia e/ou Geologia decorreu do reconhecimento da necessidade e importância de intervir na formação de professores em que trabalho prático, designadamente laboratorial e experimental, adquire “papel determinante, deixando de constituir mera ilustração de conhecimentos transmitidos e assumindo-se como uma actividade com características investigativas e valor heurístico próprio” (Dourado & Freitas, 2000, p.13). Este programa de formação, além do desenvolvimento de competências investigativas, pretendeu proporcionar aos intervenientes oportunidades de questionamento e reflexão sobre as suas práticas profissionais (Gabriel *et al.*, 2006).

Tal como se referiu no Capítulo 1, a intervenção na formação de professores concretizou-se através do desenvolvimento de uma acção de formação na modalidade de Oficina de Formação¹³: “*Desenvolvimento de actividades práticas em biotecnologia numa perspectiva investigativa: um contributo na (re)orientação de ensino e aprendizagem de ciências*”. Decorreu entre 5 de Março a 24 de Maio de 2007, realizou-se num dos Laboratório de Ciências da Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça, e as sessões presenciais totalizaram 50 horas.

¹³ Esta acção de formação não foi financiada pelo programa FOCO por não se integrar nas prioridades definidas pelo Ministério da Educação (e.g. Tecnologias da Informação e da Comunicação e Bibliotecas Escolares) e a sua concretização careceu de uma autorização especial concedida pelo Secretário de Estado da Educação.

Apesar dos benefícios em termos de unidades de crédito para a progressão na carreira docente, a proposta de formação apresentada é pouco frequente, face ao leque de ofertas de outras acções de formação que a poderiam assegurar. Deste modo, parte-se do pressuposto que os professores que nela se inscreveram revelam motivação e interesse pelo trabalho prático (laboratorial e experimental), assim como, por temáticas de biotecnologia.

A apresentação da acção de formação foi entregue em modelo próprio no Centro de Formação de Associação das Escolas dos Concelhos de Alcobaça e Nazaré (CFAE) e acreditada pelo Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua (CCPFC). Neste modelo descreveram-se os seguintes parâmetros: 1) designação da acção de formação; 2) razões justificativas da acção: problemas/necessidades de formação identificados; 3) destinatários da acção; 4) efeitos a produzir: mudanças de práticas, procedimentos ou materiais didácticos; 5) conteúdos da acção; 6) metodologia de realização da acção; 7) regime de avaliação dos formandos; 8) forma de avaliação da acção. Esta acção de formação integrou o plano de formação contínua deste centro, com sede na Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça.

A modalidade de OF, orientada para a prática e investigação pedagógica e didáctica, correspondeu à que melhor se adequava aos objectivos e estratégias a desenvolver com e pelos professores-formandos, tal como se indica nos seguintes objectivos definidos pelo CCPFC (2004, p.39-40): “a) delinear ou consolidar procedimentos de acção ou produzir materiais de intervenção, concretos e identificados, definidos pelo conjunto de participantes como resposta mais adequada ao aperfeiçoamento das suas intervenções educativas; b) assegurar a funcionalidade (utilidade) dos produtos obtidos na oficina, para a transformação das práticas; c) reflectir sobre as práticas desenvolvidas; d) construir novos meios processuais ou técnicos”. A concretização desta modalidade de formação requer forte investimento dos professores-formandos, quer nos trabalhos práticos a desenvolver nas sessões presenciais, quer em leituras, pesquisa bibliográfica e trabalhos a realizar não presencialmente.

A OF desenvolveu-se com os seguintes objectivos (Gabriel *et al.*, 2006):

- Promover o diálogo e a cooperação entre os professores-formandos estimulantes de reflexão sobre o ensino e as aprendizagens que valorizam nas suas práticas lectivas, com vista a repensá-las, para promover aprendizagens mais relevantes para melhores exercícios de cidadania pelos alunos;
- Desenvolver competências necessárias e adequadas a posturas reflexivas relativamente ao trabalho prático (experimental e laboratorial) e ao papel, e

significados, que deve assumir no desenvolvimento profissional dos professores, nas suas práticas lectivas e nas aprendizagens dos alunos;

- Desenvolver competências científicas disciplinares e didácticas necessárias à implementação de actividades práticas (experimentais e laboratoriais), numa perspectiva investigativa;
- Actualizar conhecimentos científico-tecnológicos em áreas de aplicação de biotecnologia (biotecnologia vegetal, engenharia genética e microbiologia);
- Conhecer técnicas laboratoriais correntemente utilizadas em biologia molecular e desenvolver competências práticas para a implementação de procedimentos em biotecnologia nos laboratórios escolares.

Nesta OF pretendeu-se que a orientação tradicional de ensino e aprendizagem, em que se enfatiza a transmissão de conhecimentos e a recepção passiva de informação, fosse questionada e repensada, de modo a estimular a elaboração de actividades práticas de índole construtivista que envolvessem os professores-formandos em situações-problema potenciadoras de (re)construção de conhecimentos e crenças.

Os conceitos e princípios que envolvem aplicações práticas de biotecnologia foram introduzidos através da valorização dos conhecimentos prévios dos professores-formandos, uma vez que estes condicionam, de modo decisivo, as suas aprendizagens. Assim, as actividades de ensino e aprendizagem centraram-se em problemáticas com significado para professores (e alunos), e incluíram a identificação e a formulação de questões de investigação para delinear e implementar processos para a sua resolução, que se integraram em percursos de aprendizagem intencionais. Os percursos investigativos surgiram de questionamentos relativos a contextos problemáticos em biotecnologia e envolveram o desenho de actividades laboratoriais e experimentais, cuja concretização se previu necessária, assim como, a escolha de materiais e equipamentos para a sua realização na procura de soluções e/ou respostas para as questões de investigação formuladas.

A Figura 3.7 apresenta traços gerais dos percursos investigativos desenvolvidos com e pelos professores-formandos na OF. Analisando-a pode ver-se que este processo não é “linear e sequencial mas, pelo contrário, um processo dinâmico construído através de uma interacção constante entre as várias etapas, pela compreensão progressiva dos problemas, pela permanente reanálise e testagem das hipóteses de trabalho e consequente avaliação e redefinição das actividades planeadas” (Almeida, 2000, p.39).

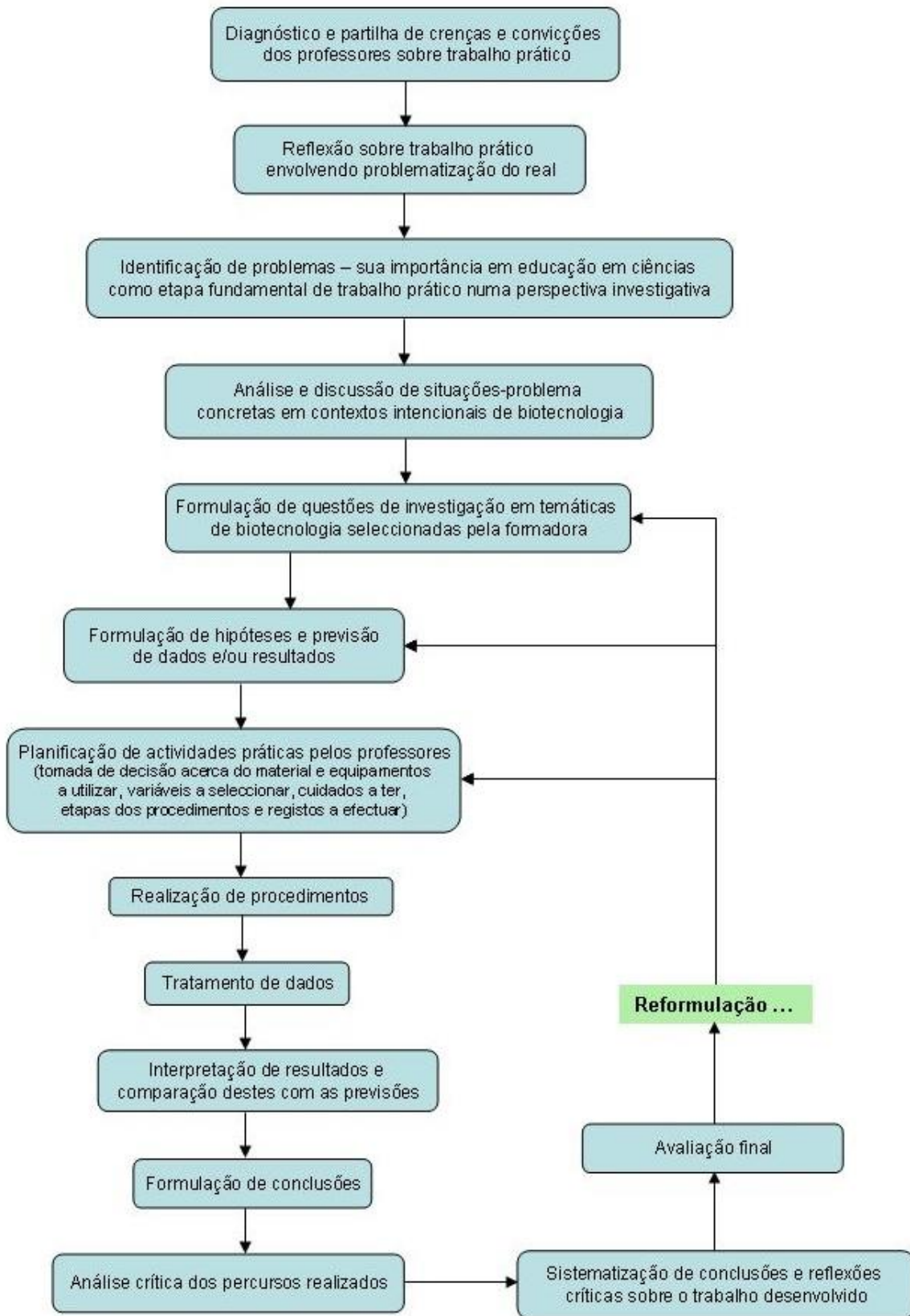


Figura 3.7 – Traços gerais dos percursos investigativos desenvolvidos com e pelos professores-formandos na OF (Adaptada de Gabriel *et al.*, 2006, p.11).

Considerando os objectivos da OF, em articulação com a revisão de literatura apresentada no Capítulo 2, relativa à orientação de trabalho prático de natureza investigativa, enquanto modalidade baseada na identificação, formulação e resolução de problemas, valorizaram-se os seguintes aspectos (Gabriel *et al.*, 2006):

1. Apresentação de situações-problema em biotecnologia, potenciadoras de análises qualitativas que viabilizassem identificar problemas e formular questões, cuja(s) elaboração(ões) de resposta(s) requeresse(m) o desenvolvimento de investigações;
2. Formulação de hipóteses, simultaneamente como parte integrante dos percursos investigativos e como estratégia para fazer emergir concepções prévias dos professores-formandos;
3. Planificação de actividades práticas (experimentais e laboratoriais) pelos professores-formandos, tendo em vista contribuir para elaborar respostas às questões formuladas e, eventualmente, formular outras questões;
4. Tratamento de dados, análise e discussão de resultados, sua interpretação e confronto com as previsões formuladas;
5. Análise crítica dos procedimentos seguidos, metodologias adoptadas e competências desenvolvidas e, eventualmente, das que se considere necessário desenvolver.

Em termos metodológicos, os trabalhos dos (e com os) professores-formandos orientaram-se por actividades expressamente preparadas para o efeito em que se estimulou:

- Trabalho em pequenos grupos que envolveu trabalho prático (laboratorial e experimental), pesquisa bibliográfica, construção e reconstrução de recursos heurísticos (Vês de Gowin e mapas de conceitos) para articular conhecimentos teórico-conceptuais e prático-processuais, bem como, a elaboração e apresentação dos resultados das actividades propostas ao longo da OF;
- Reflexão participada e partilhada por todos os grupos em sessões plenárias, designadamente através da análise e discussão dos trabalhos desenvolvidos pelos pequenos grupos, seguida da avaliação global dos percursos investigativos planeados e implementados.

A OF desenvolveu-se em quatro fases, de acordo com a descrição apresentada na Tabela 3.24, e a calendarização das sessões de formação apresenta-se na Tabela 3.25.

Tabela 3.24 – Descrição sumária das fases do programa da OF.

Fases	Conteúdos	Actividades	Sessões /nº de horas presenciais
1ª	Apresentação do programa da OF. Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos sobre trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial.	Fichas Individuais para caracterização pessoal e profissional dos professores-formandos Questionário de Diagnóstico	1ª e 2ª 5 horas
2ª	(Re)construção de significados atribuídos a trabalho prático, experimental, laboratorial e de campo.	Actividade 1 Actividade 2	3ª e 4ª 6 horas
3ª	Desenvolvimento de percursos investigativos a partir de contextos socialmente relevantes em temáticas de biotecnologia.	Actividade 3 Actividade 4 Actividade 5 Construção de recursos heurísticos (Vês de Gowin e mapas de conceitos) Comunicação dos percursos investigativos realizados	5ª à 16ª 36 horas
4ª	Avaliação das actividades desenvolvidas na OF.	Questionário de Avaliação da OF Relatório Crítico	17ª 3 horas

Tabela 3.25 – Calendarização das sessões de formação.

Mês	Sessões	Dia	Horário	Duração das sessões presenciais
Março	1ª Sessão	05/03/07	19-21h	2h
	2ª Sessão	08/03/07	19-22h	3h
	3ª Sessão	12/03/07	19-22h	3h
	4ª Sessão	15/03/07	19-22h	3h
Abril	5ª Sessão	12/04/07	19-22h	3h
	6ª Sessão	16/04/07	19-22h	3h
	7ª Sessão	19/04/07	19-22h	3h
	8ª Sessão	23/04/07	19-22h	3h
	9ª Sessão	26/04/07	19-22h	3h
	10ª Sessão	30/04/07	19-22h	3h
Maio	11ª Sessão	03/05/07	19-22h	3h
	12ª Sessão	07/05/07	19-22h	3h
	13ª Sessão	10/05/07	19-22h	3h
	14ª Sessão	14/05/07	19-22h	3h
	15ª Sessão	17/05/07	19-22h	3h
	16ª Sessão	21/05/07	19-22h	3h
	17ª Sessão	24/05/07	19-22h	3h
Total de horas				50h

3.3.2. SELECÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA – O GRUPO DE PROFESSORES-FORMANDOS

Os formandos que participaram na OF eram professores do 11^o Grupo B (Biologia/Geologia) que leccionavam no 3^o ciclo do ensino básico e/ou no ensino secundário que, de forma voluntária, se candidataram à sua frequência.

Apesar da divulgação da OF aos delegados do 11^o Grupo B das escolas das áreas geográficas vizinhas ao local de realização (Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça) ter sido da responsabilidade do CFAE, a investigadora-formadora efectuou telefonicamente alguns contactos com professores conhecidos que leccionavam em escolas mais distantes.

Pré-inscreveram-se na OF dezassete professores, dos quais quatro, nunca compareceram às sessões de formação, tendo desistido de a frequentar. Para preservar o anonimato aos treze professores que a frequentaram e terminaram, atribuíram-se-lhes códigos individuais, com as designações de PF1 a PF13.

Na Tabela 3.26 caracterizam-se os treze professores-formandos que participaram nesta OF, oito do sexo feminino e cinco do sexo masculino. A maioria leccionava em escolas do ensino público, próximas da escola onde a OF se realizou, e apenas dois professores-formandos leccionavam numa escola cooperativa (Instituto Educativo do Juncal). Cinco professores-formandos tinham idades compreendidas entre 31 e 35 anos, três entre 26 e 30 anos, três entre 36 e 40 anos, um entre 21 e 25 anos, e outro, entre 46 e 50 anos. Em termos de categoria profissional, a maioria (oito) eram Professores do Quadro de Nomeação Definitiva (PQND), três eram Professores do Quadro de Zona Pedagógica (PQZP) e dois eram Professores Contratados. Quanto à formação inicial, cinco eram Licenciados em Ensino de Biologia e Geologia, três em Biologia (ramo científico) e igual número em Geologia (ramo educacional), e dois em Biologia (ramo educacional). Dois dos professores-formandos com Licenciatura em Biologia, no ramo científico, referiram ter efectuado a Profissionalização em Serviço. Além da licenciatura, cinco professores-formandos mencionaram possuir outras qualificações académicas: Mestrado em Gestão e Conservação da Natureza, Pós-graduação em Biologia da Conservação e diversas especializações, designadamente em Antropologia Biológica, Ensino Especial e em Formação de Formadores.

A maioria dos professores-formandos pertencia a escolas com 3^o ciclo do ensino básico e ensino secundário e tinha, no máximo, até 15 anos de tempo de serviço (3 PF – 1 a 5 anos, 4 PF – 6 a 10 anos e 5 PF – 11 a 15 anos), uma vez que só um seleccionou o

intervalo entre 21 a 25 anos de serviço. Os níveis de ensino que leccionaram no ano lectivo em que frequentaram a OF (2006/2007) foram os seguintes: Ciência Naturais (3º ciclo do ensino básico) – oito PF; Biologia e Geologia do 10º ano – cinco PF; Biologia e Geologia do 11º ano – cinco PF; Biologia do 12º ano – seis PF; Ensino Secundário Recorrente – um PF. Dois professores-formandos mencionaram, ainda, leccionar Área de Projecto e Ciências da Natureza (2º ciclo do ensino básico), e um referiu estar a trabalhar no Ensino Especial.

No que se refere à frequência de acções de formação para efeitos de progressão na carreira docente, os professores-formandos mencionaram ter frequentado acções relacionadas com: os novos programas do ensino secundário (referidas por 4 PF); temáticas relacionadas com Biologia (referidas por 5 PF); as tecnologias da informação e comunicação (referidas por 4 PF). Assim, parte das acções de formação anteriormente realizadas por alguns professores-formandos incidiram em áreas específicas das disciplinas do grupo de docência; apenas quatro professores-formandos referiram não ter frequentado qualquer acção de formação.

Tabela 3.26 – Caracterização do grupo de professores-formandos que frequentaram a OF.

Professores-formandos	Sexo	Escola	Idade	Categoria profissional	Área de formação inicial	Tempo de serviço (anos)	Ciclos de docência	Níveis de ensino leccionados no ano lectivo 2006/2007
PF1	F	Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça	36 a 40	PQND	Licenciatura em Geologia – ramo educacional	11 a 15	3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia e Geologia – 11º Ano
PF2	F	Instituto Educativo do Juncal	31 a 35	PQND	Licenciatura em Biologia – ramo científico	6 a 10	2º e 3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências da Natureza – 2º Ciclo Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia e Geologia – 11º Ano
PF3	F	Escola Básica 2,3/Secundária de S. Martinho do Porto	31 a 35	PQZP	Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia	11 a 15	3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia e Geologia – 11º Ano
PF4	M	Instituto Educativo do Juncal	26 a 30	PQND	Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia	1 a 5	2º e 3º Ciclo Ensino Secundário	Biologia e Geologia – 10º Ano Biologia – 12º Ano
PF5	M	Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça	26 a 30	PQZP	Licenciatura em Biologia – ramo educacional	6 a 10	3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia – 12º Ano Ensino Secundário Recorrente
PF6	F	Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça	36 a 40	PQND	Licenciatura em Geologia – ramo educacional	11 a 15	3º Ciclo Ensino Secundário	Ensino Especial
PF7	M	Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça	46 a 50	PQND	Licenciatura em Geologia – ramo educacional	21 a 25	3º Ciclo Ensino Secundário	Biologia e Geologia – 10º Ano e 11º Ano
PF8	F	Escola Básica 2,3/Secundária de S. Martinho do Porto	36 a 40	PQZP	Licenciatura em Biologia – ramo educacional	11 a 15	3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia e Geologia – 10º Ano
PF9	M	Escola Básica 2,3/Secundária de S. Martinho do Porto	31 a 35	PQND	Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia	11 a 15	3º Ciclo Ensino Secundário	Biologia – 12º Ano Área de Projecto – 12º Ano
PF10	M	Externato D. Fuas Roupinho	31 a 35	PQND	Licenciatura em Biologia – ramo científico	6 a 10	3º Ciclo Ensino Secundário	Biologia e Geologia – 10º Ano e 11º Ano, Biologia – 12º Ano Área de Projecto – 12º Ano
PF11	F	Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça	26 a 30	Contratado	Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia	1 a 5	3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia – 12º Ano
PF12	F	Externato D. Fuas Roupinho	21 a 25	Contratado	Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia	1 a 5	3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia e Geologia – 10º Ano Geologia – 12º Ano
PF13	F	Externato D. Fuas Roupinho	31 a 35	PQND	Licenciatura em Biologia – ramo científico	6 a 10	2º e 3º Ciclo Ensino Secundário	Ciências da Natureza – 2º Ciclo Ciências Naturais – 3º Ciclo Biologia – 12º Ano

3.3.3. TÉCNICAS DE RECOLHA DE DADOS – INSTRUMENTOS UTILIZADOS

Com a finalidade de avaliar o programa da OF desenvolvido e implementado, recolheram-se dados antes, durante e após a sua realização. Considerando que qualquer técnica de recolha de dados tem vantagens e desvantagens (Correia & Pardal, 1995), optou-se pelas técnicas mais adequadas ao trabalho realizado na OF. Dada a natureza do estudo desenvolvido, tendo em consideração os objectivos propostos e a dimensão da amostra de professores-formandos participantes na OF, utilizaram-se diversas técnicas na recolha de dados, designadamente: inquéritos por questionário; observação participante da investigadora-formadora na implementação das diferentes actividades; recolha de informação relevante no caderno da investigadora-formadora; análise de documentos escritos (Vês de Gowin, mapas de conceitos, respostas às questões propostas nas actividades e relatório crítico).

Apesar da técnica de entrevista ser das mais utilizadas em estudos de natureza qualitativa (Dourado, 2001b), por permitir maior profundidade na recolha de dados e obter informação mais rica e detalhada (Correia & Pardal, 1995; Mestre *et al.*, 2004), tem limitações, por exemplo, para recolher informação sobre temas delicados, e a grandes universos de inquiridos é difícil a sua aplicação (Correia & Pardal, 1995). Assim, a escolha do questionário teve em conta a adequação do método aos objectivos da investigação, para uma recolha rigorosa da informação, tendo em consideração as suas principais vantagens, mas também as suas limitações. Em relação a vantagens, pode ser administrado a amostras de maiores dimensões e possibilita o tratamento estatístico da informação recolhida (Mestre *et al.*, 2004), além de garantir o anonimato, aspecto fundamental para a autenticidade das respostas (Correia & Pardal, 1995). Quanto a limitações, não possibilita aprofundar ideias e o diálogo (Mestre *et al.*, 2004), nem a formulação de outras questões decorrentes das respostas dos inquiridos (Dourado, 2001b). Além disso, os inquiridos podem ler todas as questões antes de começarem a responder, o que poderá não ser favorável (Correia & Pardal, 1995).

O *Questionário de Diagnóstico* (ver Anexo 28), aplicado na primeira fase da OF, foi organizado em duas partes. A primeira, correspondente a “*motivações, expectativas e conhecimentos*”, é constituída por três questões destinadas a conhecer as motivações profissionais e/ou pessoais dos professores-formandos para se inscreverem na OF, as suas expectativas relativamente a ela e recolher dados sobre conhecimentos relativos a referenciais teóricos relevantes em educação em ciências, designadamente inter-relações CTS e perspectivas investigativas de trabalho prático.

A segunda parte, relativa a “*crenças, convicções e práticas acerca de trabalho prático*”, tem dezassete questões. Com as primeiras quatro questões pretendeu-se recolher informação para conhecer os significados atribuídos pelos professores-formandos a trabalho prático, laboratorial, experimental e as relações que estabelecem entre eles. As restantes treze questões, dizem respeito a características que assume o trabalho prático (laboratorial e experimental) que habitualmente implementam em aulas do 3º ciclo do ensino básico e do ensino secundário. Com estas questões pretendeu-se conhecer principalmente: a importância que os professores-formandos atribuem à realização de trabalho prático; a frequência de realização; o seu grau de satisfação com o trabalho prático que costumam realizar; as dificuldades sentidas quando o realizam; o tipo de trabalho prático mais utilizado; o grau de consecução de objectivos que pensam atingir com a sua realização; o tipo de relatório sugerido aos alunos.

O *Questionário de Avaliação da OF* (ver Anexo 29), administrado na última sessão presencial (quarta fase), tem dez questões para recolher informação relativa à avaliação que os professores-formandos fizeram da OF, designadamente quanto à forma como decorreu e aos percursos investigativos planeados e implementados. Destinou-se a conhecer a opinião dos professores-formandos relativamente: às competências que consideram ter desenvolvido; às dificuldades/facilidades percebidas na concretização dos percursos investigativos; à avaliação do trabalho prático desenvolvido; às vantagens e desvantagens da realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa; à avaliação global da OF (aspectos positivos e negativos); ao grau de satisfação com os percursos investigativos realizados; à apreciação crítica do desempenho da investigadora-formadora.

O *Relatório Crítico* (ver Anexo 30) é constituído por cinco questões abertas, para reflexão sobre a OF, relativas: ao interesse, pertinência e aplicabilidade nas práticas lectivas do trabalho desenvolvido; a ganhos a nível profissional e/ou pessoal; às actividades propostas ao longo da OF; ao contexto problemático seleccionado e ao percurso investigativo realizado; à apresentação de sugestões que possam contribuir para melhorar futuras OF com objectivos semelhantes.

Quanto ao tipo e modalidade das questões apresentadas nos questionários e no relatório crítico, adoptou-se por seguir a classificação de Correia & Pardal (1995). Em relação ao tipo, apresentam questões: de facto (assuntos concretos de resposta simples); de acção (referem-se a uma acção realizada, ou seja, já passada); de intenção (colocam os inquiridos na situação de mostrar a sua atitude face a uma situação que ainda não ocorreu); de opinião (colocam os inquiridos perante a situação de emitir opinião, isto é, o

que pensam sobre algo). Apresentam questões que se enquadram nas seguintes modalidades: abertas, fechadas ou de escolha múltipla. As questões de resposta aberta conferem total liberdade ao inquirido e preferencialmente utilizam-se quando se pretende estudar um assunto em profundidade, no entanto, dada a diversidade das respostas, o seu tratamento é mais difícil e requer bastante tempo. As questões de resposta fechada, tipicamente de estrutura dicotómica, limitam o inquirido à opção por uma das respostas apresentadas, colocando-o na situação de optar, por exemplo, entre sim e não (*Ibid.*). As questões de escolha múltipla correspondem a uma modalidade tendencialmente fechada, “permitindo ao inquirido a escolha de uma ou várias respostas de um conjunto apresentado” (Correia & Pardal, 1995, p.55).

A formulação das questões de escolha múltipla, embora variada, pode reduzir-se a: questões em leque e questões de avaliação ou estimação. As questões em leque permitem ao inquirido “escolher uma ou várias respostas entre as diversas alternativas apresentadas, podendo-lhe ainda ser pedida a ordenação de algumas ou de todas” (Correia & Pardal, 1995, p.55). Existem questões em leque fechado e aberto, nas de leque fechado o inquirido escolhe uma entre as várias alternativas apresentadas ou é pedida a sua ordenação. Esta modalidade de questões é fechada, uma vez que o inquirido não tem a possibilidade de manifestar a sua opinião fora do conjunto de respostas apresentado, o que constitui uma desvantagem, além de indicarem respostas. Em leque aberto, o inquirido pode optar por uma das alternativas apresentadas ou acrescentar uma outra, pelo que a questão fica com mais potencialidades de recolha de informação. Finalmente, as questões de avaliação ou estimação apresentam, tal como nas questões em leque fechado, um conjunto de respostas a partir das quais o inquirido escolhe uma das alternativas propostas e introduz o aspecto quantitativo ao leque apresentado. As perguntas de estimação procuram recolher os diversos graus de intensidade em relação a um determinado assunto (Correia & Pardal, 1995).

O Anexo 31 apresenta, para os dois questionários e o relatório crítico, os tipos e as modalidades das questões colocadas aos professores-formandos, assim como os objectivos pretendidos em cada uma delas. Quanto à modalidade das questões, optou-se maioritariamente por questões de escolha múltipla (leque aberto e de avaliação ou estimação) e abertas. As primeiras permitem conhecer a opinião dos inquiridos em relação às alternativas de respostas apresentadas e a recolha de maior número de dados, além de facilitarem o seu tratamento estatístico (Gabriel, 2003). As segundas, por possibilitarem a obtenção de informação mais pormenorizada sobre os aspectos em

estudo e de se aplicarem a amostras de pequenas dimensões, tornando mais exequível o tratamento das respostas (Dourado, 2001b).

Os conteúdos das respostas às questões abertas apresentadas nos questionários e no relatório crítico foram analisados, definindo-se categorias de respostas (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006; Mestre *et al.*, 2004; Pedrosa & Dourado, 2000; Silva, 1999) que mostrem, com a maior exactidão possível, a descrição das ideias nelas referidas (Macedo *et al.*, 2001; Mestre *et al.*, 2004). Este método baseia-se na identificação de ideias comuns existentes nas respostas, para se organizarem os dados e definirem-se as categorias. Para cada questão, estas categorias correspondem a interpretações das ideias expressas que, relativamente às respostas individuais, apresentam um carácter mais geral (Silva, 1999). Esta metodologia de análise procura evitar a perda de informação e permite aplicar medidas de estatística descritiva (Pedrosa & Dourado, 2000) para “descrição, interpretação e reflexão sobre o significado dos dados recolhidos” (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006, p.96). Para as respostas às restantes questões, utilizaram-se igualmente medidas de estatística descritiva (*e.g.* frequência absoluta) para obter informações sobre as opções de resposta escolhidas (Mestre *et al.*, 2004). No tratamento das questões abertas propostas nas actividades realizadas durante a OF e nos questionários, assim como, na análise das respostas às questões de reflexão do relatório crítico transcreveram-se excertos (escritos em itálico). Em geral, estes apresentam-se intercalados com a análise e discussão de resultados para exemplificar o que foi escrito, com preocupações de rigor em mostrar as ideias expressas (Maia, 2000) pelos professores-formandos.

Depois de elaborada a versão inicial do *Questionário de Diagnóstico* procedeu-se à sua validação por dois juízes: um docente no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, com experiência em ensino de ciências; o outro, docente na Escola Superior de Educação do Instituto Politécnico de Leiria, especialista em educação em ciências. A cada juiz foi entregue um exemplar do questionário, juntamente com os objectivos pretendidos com cada questão, sendo-lhes pedido que se pronunciassem sobre os seguintes aspectos (Silva, 1999, p.97): “As questões são adequadas para atingir os objectivos definidos? As questões estão formuladas com clareza? Há omissões na formulação das perguntas? Deveriam ser colocadas outras questões no âmbito deste trabalho?”. Com base nas sugestões propostas por cada juiz, procedeu-se às alterações consideradas convenientes e deu-se por concluída a versão final do questionário.

3.3.4. ENQUADRAMENTO DOS CONTEXTOS PROBLEMÁTICOS EM DIMENSÕES DE EDUCAÇÃO EM, SOBRE E PELAS CIÊNCIAS

Os contextos problemáticos apresentados aos professores-formandos para desenvolvimento de percursos investigativos correspondem a situações-problema que abordam temáticas actuais de biotecnologia, concretamente:

- “*Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos*”;
- “*Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica*”;
- “*Menos radicais livres, mais vida...o caso da catalase*”;
- “*Cultura de tecidos in vitro – uma estratégia para a multiplicação de plantas em larga escala*”;
- “*Consumo de alimentos geneticamente modificados e segurança alimentar*”.

A elaboração de situações-problema apresentadas nos contextos problemáticos relativas a conhecimentos em temas de biotecnologia (dimensão de educação *em* ciências) baseou-se em diversas fontes de informação (e.g. artigos de revistas científicas, recortes de jornais e livros da especialidade). A realização de percursos investigativos pelos professores-formandos envolveu o desenvolvimento de competências processuais e de metodologias científicas necessárias à elaboração de actividades práticas, designadamente em termos de competências investigativas, manipulativas e de comunicação (dimensão de educação *sobre* ciências). Por outro lado, pretendeu-se que as situações-problema despertassem curiosidade e interesse nos professores-formandos, por se considerarem aspectos fundamentais para o seu efectivo envolvimento nas fases de planificação, implementação e avaliação dos percursos investigativos. Assim, as temáticas descritas, envolvendo ciências e tecnologias em contextos socialmente relevantes, perspectivam a integração de inter-relações CTS. A reflexão e discussão, designadamente em termos de pertinência e relevância das situações-problema apresentadas, realçando inter-relações CTS podem contribuir para desmistificar investigações científicas pretensamente descontextualizadas e socialmente neutras (dimensão de educação *pelas* ciências). Assim, os trabalhos práticos de natureza investigativa perspectivados para a OF, por não se centrarem apenas na aprendizagem de conhecimentos ou processos científicos, poderão viabilizar aprendizagens aplicáveis no dia-a-dia (Cachapuz *et al.*, 2000), numa perspectiva de formação de cidadãos capazes de formular juízos de valor em questões científico-tecnológicas actuais que impliquem

tomada de decisões no exercício de direitos e deveres de cidadania (Pedrosa *et al.*, 2004).

A Figura 3.8 esquematiza o enquadramento dos contextos problemáticos que foram objecto de estudo na OF em dimensões de educação *em*, *sobre* e *pelas* ciências.

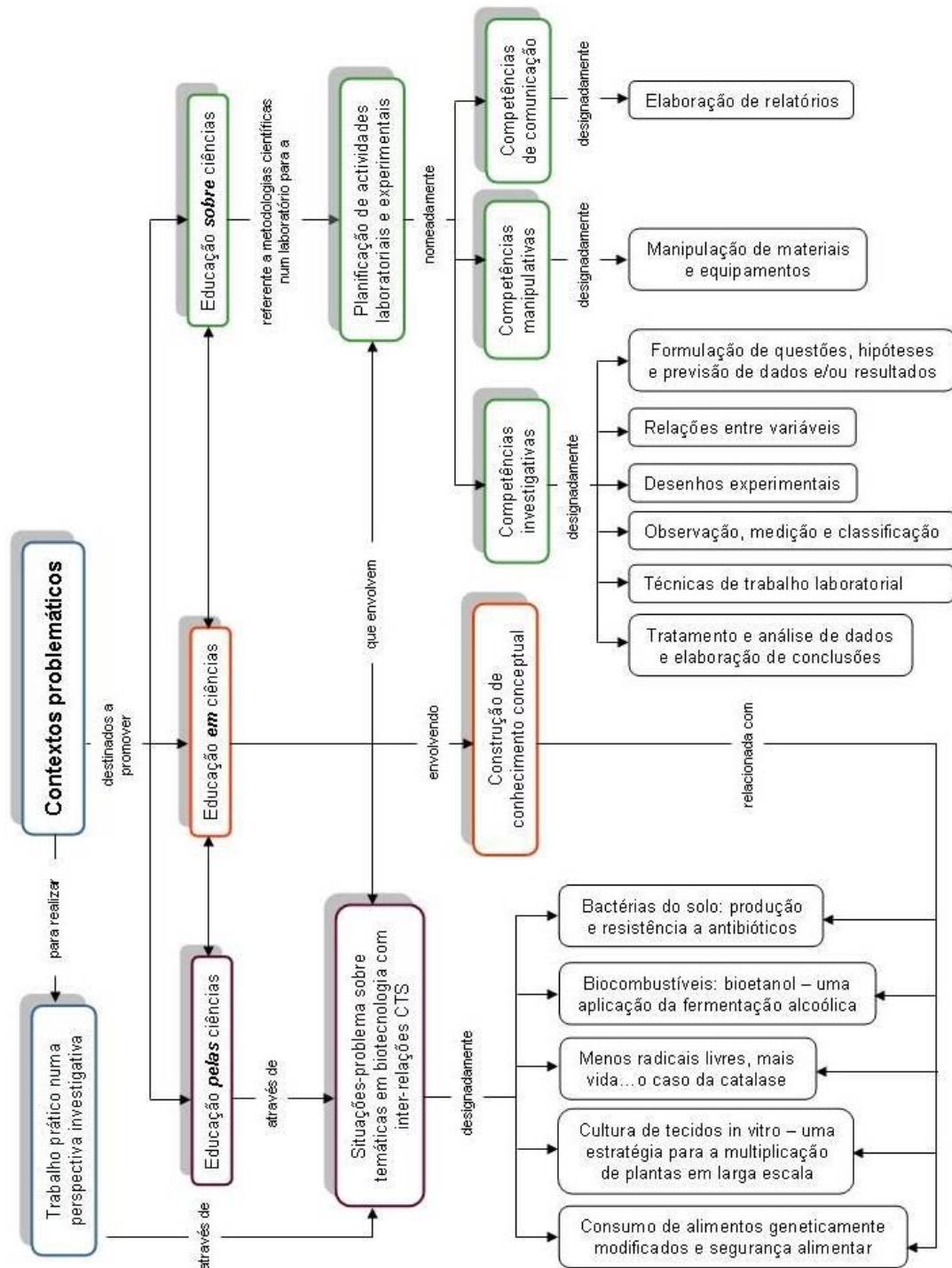


Figura 3.8 – Enquadramento dos contextos problemáticos para desenvolvimento de percursos investigativos em dimensões de educação *em*, *sobre* e *pelas* ciências.

3.3.5. DESCRIÇÃO DAS SESSÕES DE FORMAÇÃO E ACTIVIDADES PROPOSTAS

As fases do programa da OF e as actividades desenvolvidas em cada fase esquematizam-se na Figura 3.9.

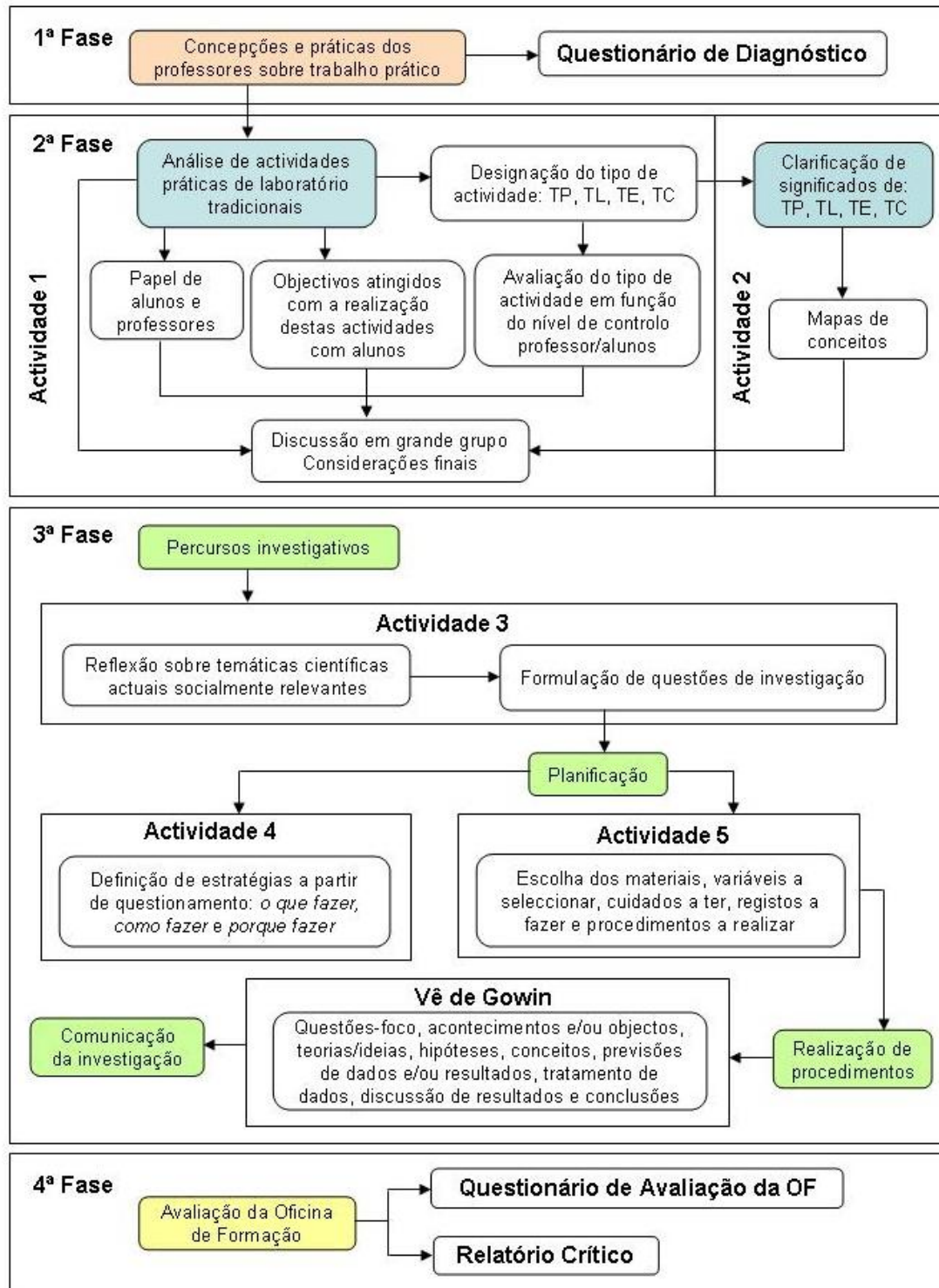


Figura 3.9 – Fases do programa da OF e actividades desenvolvidas em cada fase.

A **primeira fase** abrangeu as duas primeiras sessões. A **sessão um** teve por objectivo a apresentação do programa da OF, especificamente em relação aos objectivos, conteúdos, tipos de sessões previstas, metodologias preconizadas, regime de avaliação dos professores-formandos e calendarização das sessões. Ainda nesta sessão, solicitou-se o preenchimento das **Fichas Individuais dos Professores-Formandos** (ver Anexo 32), para caracterizar pessoal e profissionalmente os professores-formandos, e a assinatura da **Declaração de Aceitação de Colaboração na Investigação** (ver Anexo 33). A investigadora-formadora apresentou o “*Enquadramento da Oficina de Formação no âmbito dos actuais currícula do ensino secundário*” (ver Apêndice 1), utilizando suporte informático (em *PowerPoint®*), de modo a contextualizar as respectivas finalidades, referindo os seguintes aspectos: a) revisão curricular do ensino secundário (programas de Biologia e Geologia e Área de Projecto); b) trabalho prático de natureza investigativa e de resolução de problemas em temáticas de biotecnologia; c) obstáculos à sua implementação. Considerou-se que a análise e discussão destes aspectos foi muito importante, especialmente por permitir aos professores-formandos aperceberem-se que estavam perante uma forma inovadora de abordar trabalho prático, adequada para promover e fomentar novas práticas em educação em ciências.

Na **sessão dois** os professores-formandos responderam a um **Questionário de Diagnóstico** para identificar crenças, convicções e práticas sobre trabalho prático, designadamente laboratorial e experimental, e para estimular a reflexão sobre o modo como dizem pensar e agir no que se refere à sua implementação. As concepções e práticas dos professores-formandos “devem ser conhecidas porque, implícita ou explicitamente, são transmitidas na sala de aula (...) [e] influenciam não só o que ensinam, mas também o como ensinam” (Magalhães & Tenreiro-Vieira, 2006, p.91). Importa, também, “repensar *trabalho prático, laboratorial e experimental* que se faz no ensino das várias ciências escolares, parecendo indispensável começar por questionar e reflectir sobre significados atribuídos a cada uma destas designações” (Pedrosa, 2001a, p.21-22). Procurou-se, pois, conhecer os pontos de vista dos professores-formandos sobre os significados que atribuem a trabalho prático, laboratorial, experimental e as relações que estabelecem entre eles. A necessidade de questionamento decorre também de estes termos serem utilizados por (e entre) professores em diversos contextos educativos, com variados significados, sem que disso se apercebam (Pedrosa & Dourado, 2000).

A **segunda fase**, que envolveu as **sessões três e quatro**, foi dedicada, respectivamente, às **Actividades 1A e 1B** (ver Anexo 34) e à **Actividade 2** (ver Anexo

35), igualmente intituladas: “*Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos, acerca de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo) – clarificação de significados*”. Nas actividades 1A e 1B, os professores-formandos foram confrontados com actividades retiradas de manuais escolares dos ensinos básico e secundário, em vigor no ano lectivo em que decorreu a OF (2006/2007) e, por isso, provavelmente do seu conhecimento (como se veio a confirmar). Com a Actividade 1A e 1B procurou sensibilizar-se os professores-formandos para a necessidade de uma postura reflexiva e de uma outra forma de olhar para a orientação e propósitos dos trabalhos práticos (laboratoriais e experimentais) que habitualmente realizam nas suas práticas lectivas, relativamente ao papel que desempenham na aprendizagem dos alunos. Destaca-se o papel desempenhado pela investigadora-formadora no sentido de proporcionar ambientes adequados “para estimular e ajudar os professores-formandos a questionarem trabalho prático geralmente realizado, particularmente *como e para que se realiza*, [com a finalidade de] reflectirem sobre as suas práticas” (Pedrosa & Dourado, 2000, p.63). No final das Actividades 1A e 1B, após a partilha e discussão das respostas dos pequenos grupos, a investigadora-formadora finalizou a sessão com uma apresentação em suporte informático (em *PowerPoint*[®]) com a designação “*Trabalho prático: abordagens tradicionais versus orientações inovadoras*” (ver Apêndice 2). Com a Actividade 2 pretendeu-se promover a (re)construção de significados atribuídos a trabalho prático, experimental, laboratorial e de campo através da construção de mapas de conceitos, “decorrentes das interpretações, discussões e apropriações realizadas pelos diversos grupos” (Pedrosa, 2000, p.25), após a leitura de bibliografia necessária e adequada (Dourado, 2001a; Leite, 2001). Os mapas de conceitos correspondem a organizadores gráficos “em que os conceitos estão hierarquicamente dispostos e ligados entre si na forma de proposições, através do recurso a palavras de ligação” (Valadares, 2001, p.9), e que esquematizam as ideias dos professores-formandos envolvendo significados e representações de conceitos.

A **terceira fase** destinou-se ao desenvolvimento de percursos investigativos com e pelos professores-formandos nas fases de planeamento, implementação e avaliação. Esta fase abrangeu a maioria das sessões de formação, da **quinta à décima sexta**, e envolveu as seguintes etapas articuladas de forma dinâmica e interactiva na planificação dos percursos investigativos:

1. Formulação de questões de investigação, estimuladas pela leitura de situações-problema – contextos problemáticos em temáticas de biotecnologia – seleccionadas e construídas pela investigadora-formadora;

2. Formulação de hipóteses relativas a testes laboratoriais;
3. Desenho experimental – tomada de decisão acerca de variáveis a seleccionar, materiais e equipamentos a utilizar, cuidados a ter, etapas dos procedimentos e registos a efectuar;
4. Previsão de dados a recolher e/ou resultados a obter;
5. Realização dos procedimentos relativos aos percursos investigativos planeados pelos grupos de trabalho;
6. Recolha e tratamento de dados (qualitativos e quantitativos) e interpretação de resultados;
7. Avaliação de resultados – adequação da(s) resposta(s) em função da questão de investigação formulada, confronto entre previsões de dados e/ou resultados e interpretação das discrepâncias identificadas;
8. Reformulação das etapas que se considerem importantes ou imprescindíveis e sua execução, se necessário.

As **sessões cinco** e **seis** foram dedicadas à **Actividade 3**, “*Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação*”. Formaram-se quatro grupos de trabalho, três grupos constituídos por três professores-formandos e um grupo por quatro, que permaneceram fixos em todas as sessões de formação. Antes de iniciar a actividade 3, a investigadora-formadora apresentou aos grupos de trabalho os cinco contextos problemáticos em temáticas de biotecnologia, a partir dos quais desenvolveriam percursos investigativos, pretendendo-se que cada grupo trabalhasse apenas num dos seguintes:

- “*Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos*” (ver Anexo 36);
- “*Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica*” (ver Anexo 37);
- “*Menos radicais livres, mais vida...o caso da catalase*” (ver Anexo 38);
- “*Cultura de tecidos in vitro – uma estratégia para a multiplicação de plantas em larga escala*” (ver Anexo 39);
- “*Consumo de alimentos geneticamente modificados e segurança alimentar*” (ver Anexo 40).

No desenvolvimento da Actividade 3, os grupos de trabalho caracterizaram o contexto problemático seleccionado, perspectivaram inter-relações CTS, formularam questões de investigação e seleccionaram uma dessas questões para desenvolverem um

percurso investigativo. No que se refere à questão de investigação seleccionada, analisaram o seu enquadramento curricular e previram o interesse que despertaria nos alunos. A investigadora-formadora orientou e auxiliou os grupos de trabalho na selecção de questões de investigação para desenvolverem percursos investigativos, avaliando cada proposta, designadamente em termos de pertinência curricular e exequibilidade, tendo em conta as condições logísticas (materiais e equipamentos disponíveis) e a duração da OF. As expectativas de exequibilidade no planeamento e implementação de percursos investigativos “poderão também aumentar a confiança e entusiasmo de professores-formandos para, em futuros próximos, os transporem para as suas actividades lectivas” (Pedrosa, 2000, p.24).

Na **sétima sessão** realizou-se a **Actividade 4**, “*Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada*”. Nesta actividade apresentaram-se aos grupos de trabalho questões para reflexão (também adequadas a percursos investigativos a desenvolver por alunos), para os ajudar no planeamento das actividades laboratoriais e experimentais. Pretendeu-se promover a reflexão a partir de questionamento para auxiliar a definir o(s) procedimento(s), designadamente – *o que fazer, como fazer e porque fazer* – num diálogo constante entre pensamento e acção, indispensável para promover a integração de dimensões teóricas e experimentais no planeamento de percursos investigativos. Foi atribuída uma actividade diferente a cada grupo de trabalho, de acordo com a temática de biotecnologia seleccionada (ver Anexos 41, 42, 43, 44 e 45).

Na **oitava e nona sessões** realizou-se a **Actividade 5**, “*Planificação de actividades práticas pelos professores-formandos, tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada*” (ver Anexo 46). Uma vez definidas as questões de investigação, os grupos de trabalho planificaram as actividades práticas (laboratoriais e experimentais), através de discussão intragrupal, pesquisa não presencial de procedimentos e consulta de bibliografia pré-seleccionada fornecida pela investigadora-formadora (ver Apêndice 3). Da bibliografia pré-seleccionada, constam exemplos de procedimentos com aplicação em contextos escolares, relacionados com as temáticas de biotecnologia apresentadas nos contextos problemáticos. Os grupos de trabalho, com base nas pesquisas realizadas, planearam o desenho experimental e identificaram: materiais, equipamentos e reagentes; variáveis a seleccionar (variáveis independentes, dependentes e de controlo); cuidados a ter; registos e observações a fazer (o que medir e como medir) e os procedimentos a realizar. A planificação de

actividades práticas (laboratoriais e experimentais) pelos professores-formandos foi orientada pela investigadora-formadora, que apresentou algumas sugestões para auxiliar nos processos a desenvolver e nas etapas dos procedimentos a realizar. Discutiram-se aspectos específicos da gestão dos percursos investigativos a desenvolver, tendo em conta os recursos disponíveis, boas práticas e segurança no laboratório, designadamente.

Na **décima e décima primeira sessões** iniciou-se a construção de recursos heurísticos – Vês de Gowin e mapas de conceitos – para mobilizar e integrar conhecimento teórico-conceptual e prático-processual, fundamental para determinar a melhor estratégia, e previram-se procedimentos a realizar para encontrar resposta(s) à questão de investigação formulada. Os grupos de trabalho começaram por registar na parte central do Vê de Gowin (ver Anexo 47) as questões-foco, referindo com o lado conceptual, as teorias/ideias e os conceitos (mapas de conceitos) subjacentes aos percursos investigativos a desenvolver. Posteriormente, registaram os acontecimentos e/ou objectos e previram dados e/ou resultados. O documento de apoio, “*Guião de percursos investigativos*” (ver Anexo 48), com orientações e indicações que sintetizam os aspectos a ter em consideração na planificação e desenvolvimento de investigações foi utilizado na construção do Vê de Gowin. Este guião esclarece e clarifica os objectivos pretendidos nas várias zonas de registo do Vê de Gowin, revelando-se fundamental para a sua elaboração. Disponibilizou-se bibliografia, com exemplos de Vês de Gowin e de mapas de conceitos, referentes a percursos investigativos desenvolvidos e implementados por professores Acompanhantes Locais do Ensino Experimental das Ciências¹⁴ (ver Apêndice 3).

Na **décima sessão** realizaram-se também os seguintes procedimentos: a) isolamento de bactérias do solo por sucessivas diluições da amostra (amostra 1 – solo argiloso); b) produção de bioetanol através da fermentação alcoólica de diferentes matérias-primas – maçã, cana-de-açúcar e sêmola de milho. A **décima primeira sessão** foi igualmente dedicada à realização dos seguintes procedimentos: a) desinfecção do material vegetal e inoculação no meio de cultura de explantes de couve-flor; b) extracção de DNA de germen de trigo com diferentes soluções de extracção. Na **décima segunda sessão** os grupos de trabalho continuaram a realizar os procedimentos previstos nas planificações. Na **décima terceira, décima quarta e décima quinta sessões**, os grupos de trabalho construíram o lado metodológico do Vê de Gowin: tratamento de dados, discussão de resultados e conclusões. Alguns grupos realizaram também os seguintes

¹⁴ <http://eec.dgidc.min-edu.pt/> [Acedido: 10/02/2007]

procedimentos: a) electroforese em gel de agarose do DNA extraído; b) selecção de colónias isoladas para novas placas de Petri com meio de cultura; c) identificação de bactérias produtoras de antibióticos, através da técnica de riscado e de sobrecamada, com a estirpe indicadora *Micrococcus luteus*.

Após concluírem os percursos investigativos, incluindo os Vês de Gowin e mapas de conceitos, os grupos apresentaram o trabalho realizado na **décima sexta sessão**. Utilizaram apresentações (em *PowerPoint*[®]), que prepararam não presencialmente, a partir dos registos efectuados nos Vês de Gowin e mapas de conceitos, referindo-se criticamente ao trabalho desenvolvido em termos do grau de consecução dos objectivos definidos para cada projecto. Os grupos de trabalho sintetizaram e fundamentaram as metodologias, técnicas e recursos utilizados e, com base nas hipóteses e previsões realizadas, avaliaram as conclusões formuladas e as evidências em que se basearam (Pedrosa, 2001a). Partindo de novas questões de investigação suscitadas pelos resultados obtidos, e por outras abordagens para cada questão-foco seleccionada, perspectivaram outros percursos investigativos. Estas apresentações destinaram-se a criar oportunidades para que cada professor-formando conhecesse os percursos investigativos realizados ao longo da OF.

Na **quarta fase** procedeu-se à avaliação das actividades desenvolvidas na OF, com base na recolha de dados que foi sendo efectuada através da observação das sessões de formação, assim como pela análise de registos escritos (e.g. actividades propostas, questionários). Assim, na **décima sétima sessão**, os professores-formandos responderam individualmente ao **Questionário de Avaliação da OF** para ajuizarem o grau de consecução dos objectivos definidos para a OF, conhecer as razões justificativas de eventuais distanciamentos entre os objectivos e as respectivas realizações e/ou identificar eventuais limitações. Propôs-se aos professores-formandos a elaboração de um **Relatório Crítico**, centrado em respostas a questões “de pendor introspectivo e reflexivo” (Dourado & Freitas, 2000, p.34), a realizar individualmente, o qual foi posteriormente entregue no Centro de Formação de Associação das Escolas dos Concelhos de Alcobaça e Nazaré. Este relatório destinou-se a contribuir para avaliar as potencialidades educativas e formativas da OF. A análise efectuada corresponde aos pontos de vista referidos em alguns relatórios e que foram considerados relevantes e esclarecedores do espírito e sentimentos resultantes das reacções e competências desenvolvidas pela inovação de práticas em trabalho prático, designadamente laboratorial e experimental numa perspectiva investigativa. Por último, salienta-se que os resumos das sessões de formação constituem o Anexo 49.

CAPÍTULO 4

APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

4.1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados do trabalho de investigação realizado. Além desta introdução (4.1), inclui um sub-capítulo em que se apresentam os dados e discutem os resultados das actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia (4.2), especificamente em biotecnologia vegetal (4.2.1), na manipulação de DNA e engenharia genética (4.2.2) e em microbiologia (4.2.3). No segundo sub-capítulo, apresentam-se os dados e discutem-se os resultados da acção de formação para professores de Biologia e/ou Geologia (4.3), em que se apresentam os pontos de vista dos professores-formandos antes da OF, com base nas respostas ao *Questionário de Diagnóstico* (4.3.1). Descrevem-se e discutem-se os resultados das actividades desenvolvidas pelos professores-formandos na OF (4.3.2), designadamente: os significados atribuídos a trabalho prático, laboratorial, experimental e de campo e as relações que estabelecem entre eles (4.3.2.1); os percursos investigativos planeados e implementados nas sessões de formação, as especificidades de cada um e a forma como foram vivenciados por cada grupo de trabalho, assim como os recursos heurísticos construídos (4.3.2.2 e 4.3.2.3). Finalmente, apresentam-se os resultados da avaliação da OF pelos professores-formandos (4.3.3) com base nas respostas ao *Questionário de Avaliação da OF* (4.3.3.1) e nos *Relatórios Críticos* (4.3.3.2).

4.2. APRESENTAÇÃO DE DADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS DAS ACTIVIDADES LABORATORIAIS E EXPERIMENTAIS DESENVOLVIDAS EM BIOTECNOLOGIA

4.2.1. BIOTECNOLOGIA VEGETAL

4.2.1.1. CULTURA *IN VITRO* DE COUVE-FLOR

O procedimento de desinfecção dos explantes de couve-flor (com soluções de álcool etílico a 70%, de lixívia com detergente a 30 e 40%, e finalmente de *Benlate*[®] a 1g/L), revelou-se muito eficaz, aproximadamente com taxas de explantes sem infecções de 91% e de resposta ao meio MS com cinetina (2,5 mg/L) de 98%. Neste meio de cultura o crescimento dos explantes foi rápido, notando-se alterações nos primeiros dez dias – alargaram o volume, aumentaram de tamanho e surgiu uma tonalidade

esverdeada. Após quinze dias, apareceram as primeiras folhas, seguindo-se a formação de muitos rebentos. Passadas cinco semanas, transferiram-se os rebentos para o meio de enraizamento (MS sem reguladores de crescimento). Decorridas quatro semanas no meio de enraizamento, as plântulas, por apresentarem raízes bem desenvolvidas, foram transferidas para o substrato de transplante e aclimatizadas dentro de um estufim. Após seis semanas do início da aclimatização as plantas foram transferidas para o campo. A Tabela 4.1 apresenta os resultados obtidos nas fases envolvidas na micropropagação de couve-flor e a Tabela 4.2 resume a cronologia deste processo.

Tabela 4.1 – Resultados obtidos nas fases da micropropagação de couve-flor.

FASES	CONDIÇÕES	RESULTADOS
Desinfecção	44 explantes	90,9% de explantes sem infecções
Inoculação em meio MS com cinetina (2,5 mg/L)	Temperatura de 22°C e fotoperíodo de 16h durante 5 semanas	Taxa de resposta de 97,5%
Enraizamento em meio MS sem reguladores de crescimento	Temperatura de 22°C e fotoperíodo de 16h durante 4 semanas	Taxa de enraizamento de 90,3%; aparecimento das primeiras raízes em 8 dias.
Transferência para o substrato de transplante e aclimatização	36 plântulas	Taxa de sobrevivência de 100%
Transferência para o campo	32 plantas – condições ambientais não controladas (mês de Março)	Taxa de sobrevivência de 87,5%
Floração das couves-flor	Condições ambientais não controladas (mês de Abril)	Taxa de floração de 89,3% (relativamente ao número de plantas sobreviventes da fase anterior); formação de flores de diversos tamanhos após 2 meses no campo







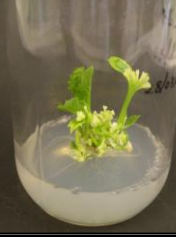

Tabela 4.2 – Cronologia da micropropagação de couve-flor.

DESENVOLVIMENTO DA COUVE-FLOR	TEMPO DESDE O INÍCIO (SEMANAS)
Aumento do tamanho dos explantes e aparecimento de tonalidade esverdeada (produção de clorofilas)	1-2
Aparecimento das primeiras folhas	2-3
Crescimento de rebentos	3-5
Transferência dos rebentos para o meio de enraizamento	5
Formação das primeiras raízes	6
Transferência das plântulas para o substrato de transplante e aclimatização	9
Transferência das plantas para o campo	15

No ensaio em que se utilizou *adubo líquido universal KB*[®], não se verificou qualquer resposta dos explantes, com adição, ou não, de cinetina ao meio de cultura.

Os resultados relativos ao efeito de auxinas e citocininas na indução de rebentos (em meio MS) apresentam-se na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 – Efeito de auxinas e citocininas na micropropagação de couve-flor.

CONCENTRAÇÃO DE REGULADORES DE CRESCIMENTO NO MEIO MS	DESCRIÇÃO DOS RESULTADOS	ILUSTRAÇÃO DOS RESULTADOS EM EXPLANTES COM MÊS E MEIO DE CULTURA	
Cinetina (2,5 mg/L)	Formação de muitos rebentos com folhas e caules bem desenvolvidos		
IAA (8 mg/L)	Formação de raízes e alongamento dos caules		
Cinetina (2,5 mg/L) + IAA (8 mg/L)	Formação de rebentos com folhas e caules Os rebentos cresceram ligeiramente menos do que no meio apenas com cinetina		
Sem adição de reguladores de crescimento (controlo)	Formação de alguns rebentos com folhas e caules, e desenvolvimento de raízes		

Neste caso, a cinetina adicionada isoladamente ao meio de cultura permite maior desenvolvimento de rebentos do que quando adicionada conjuntamente com o IAA. Por outro lado, a rizogénese, além de ocorrer no meio com IAA, também se observou no meio sem reguladores de crescimento (controlo). Justifica-se, pois, que se utilize apenas

cinetina (2,5 mg/L) para formar rebentos e o meio sem reguladores de crescimento para promover a formação de raízes.

A Tabela 4.4 mostra a taxa de crescimento da couve-flor, através da variação das massas registadas semanalmente (durante cinco semanas), por cada explante.

Tabela 4.4 – Massas dos explantes de couve-flor ao longo de cinco semanas.

Explantes	Massa inicial (g)	7 dias (g)	14 dias (g)	21 dias (g)	28 dias (g)	35 dias (g)
Nº 1	0,683	0,976	1,867	4,040	8,463	21,662
Nº 2	0,549	0,860	1,356	2,717	6,655	16,982
Nº 3	0,615	1,164	2,332	5,637	14,955	36,048
Nº 4	0,855	1,136	1,359	2,561	7,133	19,339
Nº 5	0,433	0,611	1,246	3,209	10,099	30,943
Nº 6	0,547	1,167	2,090	7,542	17,422	32,563
Nº 7	0,825	1,155	1,894	4,752	14,854	37,582
Nº 8	0,820	1,338	2,082	4,487	12,802	30,236
Nº 9	0,565	0,620	0,980	2,383	6,114	19,292
Nº 10	0,569	0,807	1,458	4,823	12,714	27,161
Nº 11	0,786	0,887	1,088	4,634	16,196	29,713
Nº 12	0,793	0,986	1,287	2,091	8,734	25,063
Nº 13	0,683	0,792	1,617	4,166	7,638	14,002
Nº 14	0,912	1,204	1,794	3,112	6,767	15,608
Nº 15	0,738	1,009	1,653	5,336	15,275	40,549
Nº 16	0,611	0,741	1,222	2,916	5,035	12,299
Massa total (g)	10,984	15,453	25,325	64,406	170,856	409,042
Massa média (g)	0,6865	0,9658	1,5828	4,0253	10,6785	25,5651
Desvio padrão	0,137	0,218	0,396	1,449	4,135	8,848

Na Figura 4.1 apresenta-se a curva de crescimento dos explantes, que evidencia as primeiras fases (lag e exponencial/linear) típicas de curvas sigmóide (S) de crescimento populacional (Canhoto, 2010; Phillips *et al.*, 1995; Stepan-Sarkissian & Grey, 1990) (e.g. população bacteriana). No caso de células/órgãos vegetais, o tempo necessário para que ocorra a duplicação do número de células pode ser longo (Canhoto, 2010). Inicialmente o crescimento foi lento (durante os primeiros catorze dias), típico da fase de adaptação (Canhoto, 2010) das células às novas circunstâncias, o meio e condições de cultura. Por outro lado, após a terceira semana, registou-se uma fase de crescimento activo, indicativa de uma fase exponencial/linear (Canhoto, 2010), em que a massa foi sempre superior ao dobro da massa registada na semana anterior. Se estas culturas se mantivessem mais semanas, entrar-se-ia numa fase de desaceleração, seguindo-se uma fase estacionária, em que o número de células seria constante e, finalmente, com o desgaste do meio de cultura, as culturas entrariam em declínio (*Ibid.*).

O aumento progressivo do desvio padrão ao longo das cinco semanas indica maior heterogeneidade na resposta dos explantes ao meio de cultura, ou seja, houve explantes

que, para o mesmo intervalo de tempo, cresceram muito mais e, por isso, o seu respectivo aumento de massa foi muito maior do que noutros. Relativamente à média semanal da massa dos explantes, verificou-se maior dispersão dos valores do desvio padrão nas duas últimas semanas.

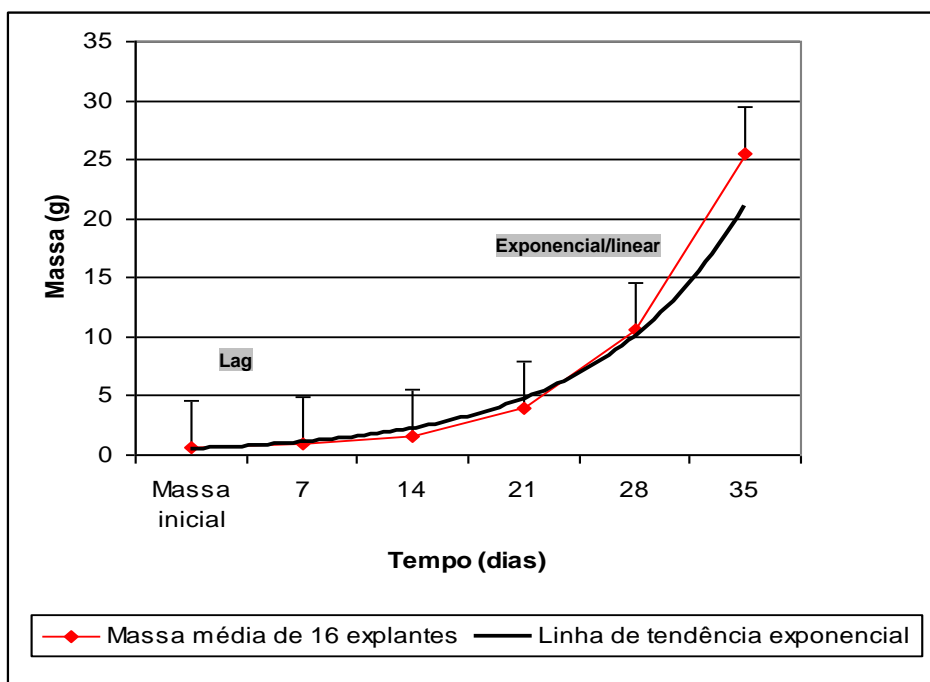


Figura 4.1 – Curva de crescimento dos explantes de couve-flor em meio MS com cinetina (2,5 mg/L). Após a determinação da massa inicial, o cálculo da massa efectuou-se durante cinco semanas. As barras verticais correspondem ao erro-padrão.

A Figura 4.2 mostra a evolução dos explantes, cujo crescimento foi monitorizado através da determinação da massa durante cinco semanas, em que se verifica o contínuo desenvolvimento de rebentos com aparecimento de folhas e caules ao longo do tempo.

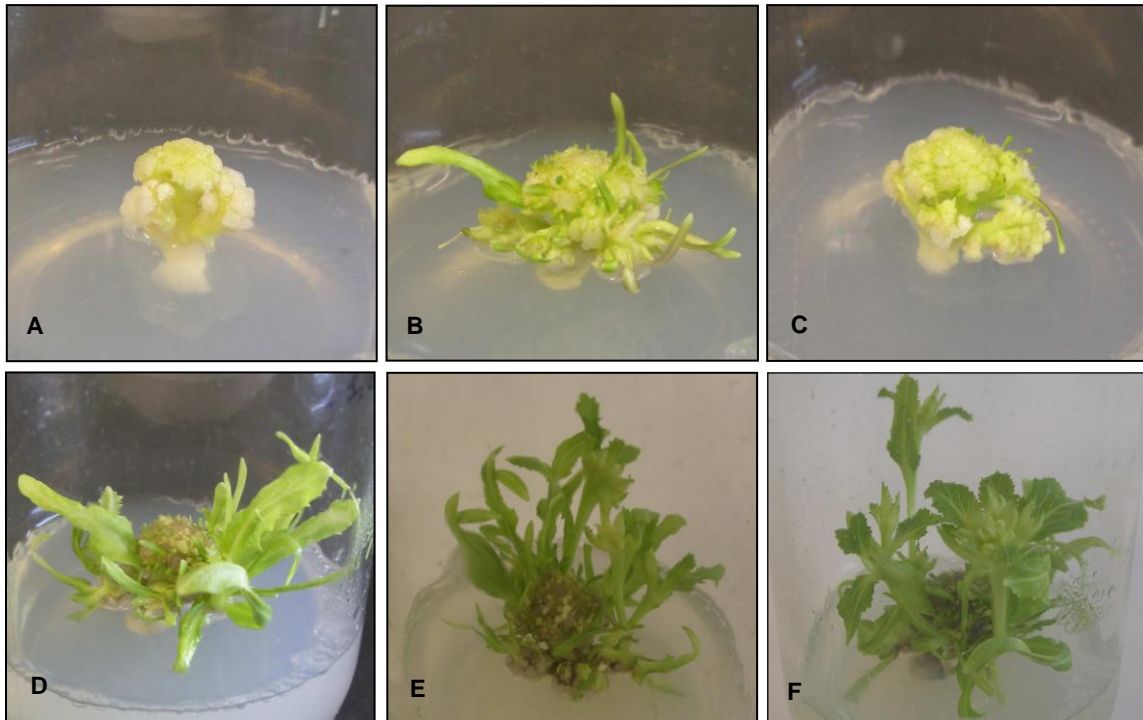


Figura 4.2 – Evolução dos explantes de couve-flor. **(A)** 7 dias – aumento do tamanho do explante e aparecimento da cor verde; **(B e C)** 14 dias – aparecimento de folhas; **(D)** 21 dias – crescimento das folhas; **(E)** 28 dias – desenvolvimento de rebentos com formação de caules e crescimento das folhas; **(F)** 35 dias – crescimento de caules e folhas.

A aclimatização das plântulas no substrato de transplante e a evolução das plantas no campo ilustra-se na Figura 4.3. Em ambas as fases, verificou-se o desenvolvimento das plantas de couve-flor (parte radicular e aérea), sendo de assinalar que no campo e na maioria das plantas, além do crescimento, também ocorreu a floração. A Figura 4.4 esquematiza as fases da micropropagação da couve-flor, desde a desinfecção e inoculação dos explantes no meio de cultura, até à transferência das plantas de couve-flor para o campo, passando pelo enraizamento dos rebentos e a aclimatização das plântulas.



Figura 4.3 – Acclimatização num estufim e transferência das plantas de couve-flor para o campo. (A-1) aspecto inicial das plântulas quando transferidas para o substrato de transplante; (A-2) pormenor do sistema radicular de uma plântula para acclimatização; (B-1 e B-2) plantas com 4 semanas e 6 semanas de acclimatização, respectivamente; (C-1) aspecto inicial das plantas transferidas para o campo; (C-2) aspecto das plantas após 2 meses no campo; (C-3) planta com 1 mês no campo; (C-4) flor de uma couve-flor após 2 meses de transferência para o campo.

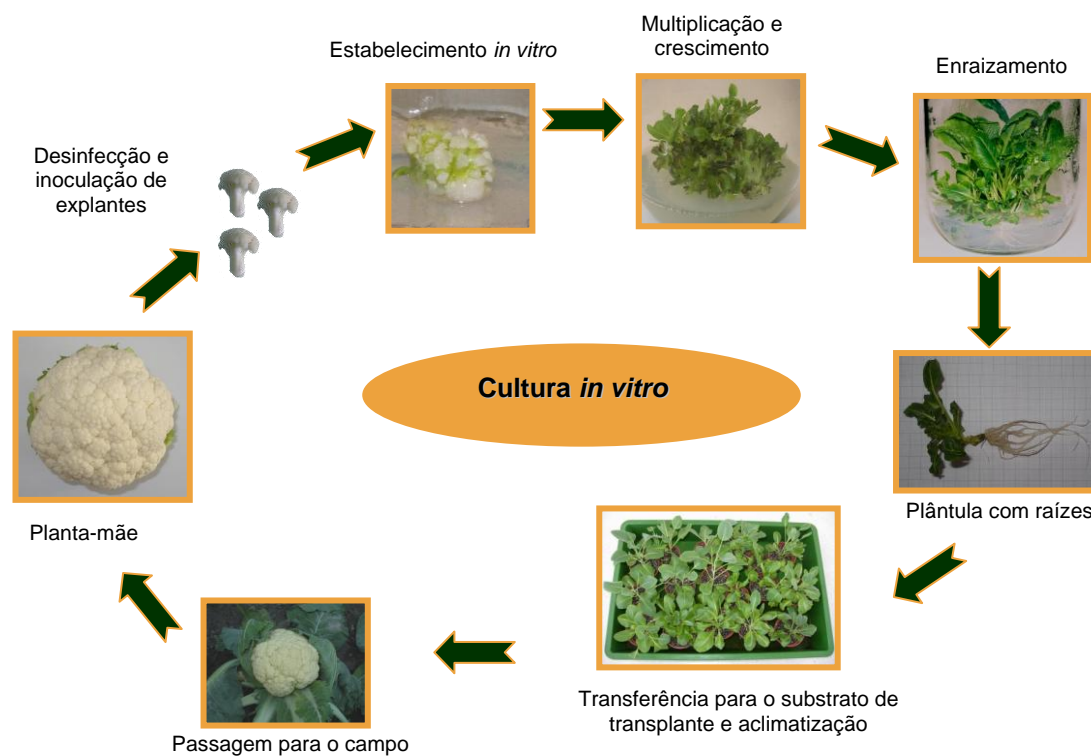


Figura 4.4 – Fases da micropropagação da couve-flor.

4.2.1.2. CULTURA *IN VITRO* DE VIOLETA AFRICANA

O procedimento de desinfecção dos explantes de violeta africana (através de água com detergente, álcool etílico a 70%, lixívia com detergente a 20% e *Benlate*[®] a 1g/L), testado através da inoculação de vinte e cinco explantes obtidos a partir de folhas (10 de limbo e 15 de pecíolo), em meio de indução MS com BAP (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L) foi o que se revelou mais eficaz, aproximadamente com uma taxa de explantes sem infecções de 64%. Verificou-se que, aproximadamente 54% dos explantes de pecíolo originaram rebentos *versus* nenhum proveniente do limbo das folhas, que acabaram por morrer. Os explantes de pecíolo, em corte longitudinal, permitiram os melhores resultados, pelo desenvolvimento de rebentos ao longo de toda a sua extensão, após mês e meio de cultura. Como estes rebentos aumentaram de tamanho, desenvolvendo muitas folhas, efectuaram-se subculturas para novo meio (igual ao anterior), após três meses de estabelecimento *in vitro*. Os rebentos permaneceram neste meio mais dois meses, onde cresceram e se multiplicaram, efectuando-se em seguida a sua individualização e transferência para o meio de enraizamento (MS com metade da concentração salina e sem reguladores de crescimento), com procedimento igual ao descrito para a couve-flor. Mesmo no meio de enraizamento, por vezes, verificou-se a multiplicação de rebentos, o que levou à realização de subculturas para novo meio, de forma a obter plântulas completas e individualizadas. A facilidade de multiplicação dos rebentos tornou-se evidente após ultrapassadas as dificuldades de estabelecimento *in vitro*, quer no que diz respeito à desinfecção do material biológico, quer na capacidade de resposta dos explantes aos reguladores de crescimento adicionados ao meio de cultura. Decorridos aproximadamente dois meses, as plântulas que apresentavam raízes numerosas e desenvolvidas, foram transferidas para o substrato de transplante e aclimatizadas num estufim, por processo similar ao descrito para a couve-flor. Após dois meses de aclimatização transferiram-se as plantas para vasos com solo usualmente utilizado em plantas de casa. A Tabela 4.5 apresenta os resultados obtidos nas fases envolvidas na micropropagação de violeta africana e a Tabela 4.6 resume a cronologia deste processo.

O meio de cultura com BAP e IBA com as concentrações de 2,25 mg/L e 0,02 mg/L, respectivamente, não originaram rebentos em explantes de limbo e pecíolo de folhas, após a desinfecção com o procedimento 1B (ver Anexo 3). Por outro lado, também não se observaram rebentos em explantes de pétalas introduzidos em meio MS, com NAA e BAP, nas concentrações referidas no Capítulo 3 (ver secção 3.2.2.1. Biotecnologia vegetal – cultura *in vitro* de couve-flor e de violeta africana, Tabela 3.2 – Condições de

cultura testadas, p.133), após desinfecção suave (álcool etílico a 50% e solução de lixívia com detergente a 14%).

Tabela 4.5 – Resultados obtidos nas fases da micropropagação de violeta africana.

FASES	CONDIÇÕES	RESULTADOS
Desinfecção	25 explantes provenientes de folhas (10 de limbo e 15 de pecíolo)	64% de explantes sem infecções (3 explantes de limbo e 13 de pecíolo)
Inoculação em meio MS com BAB (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L)	Temperatura de 22°C e fotoperíodo de 16h durante 5 meses	Taxa de resposta de 54% para os explantes de pecíolo; os explantes de limbo morreram
Enraizamento em meio MS (metade da concentração salina) sem reguladores de crescimento	Temperatura de 22°C e fotoperíodo de 16h durante 2 meses	Taxa de enraizamento de 100%; aparecimento das primeiras raízes após 15 dias
Transferência para o substrato de transplante e aclimatização	17 plântulas	Taxa de sobrevivência de 100%

Tabela 4.6 – Cronologia da micropropagação de violeta africana.

DESENVOLVIMENTO DA VIOLETA AFRICANA	TEMPO DESDE O INÍCIO (MESES)
Ligeiro intumescimento dos explantes nas extremidades e formação de rebentos, inicialmente nos limites, desenvolvendo-se depois ao longo de toda a sua extensão	1,5
Formação de muitos rebentos e desenvolvimento de folhas	2,5
Transferência para novo meio de cultura para o crescimento dos rebentos	3
Transferência dos rebentos para o meio de enraizamento	5
Formação das primeiras raízes	5,5
Transferência das plântulas para o substrato de transplante e aclimatização	7
Transferência das plantas para vasos	9

A Figura 4.5 mostra a evolução dos explantes de violeta africana até à fase de aclimatização das plântulas. A Figura 4.6 esquematiza as fases da micropropagação da violeta africana, desde a desinfecção e inoculação dos explantes no meio de cultura, passando pelo enraizamento dos rebentos e a aclimatização das plântulas.

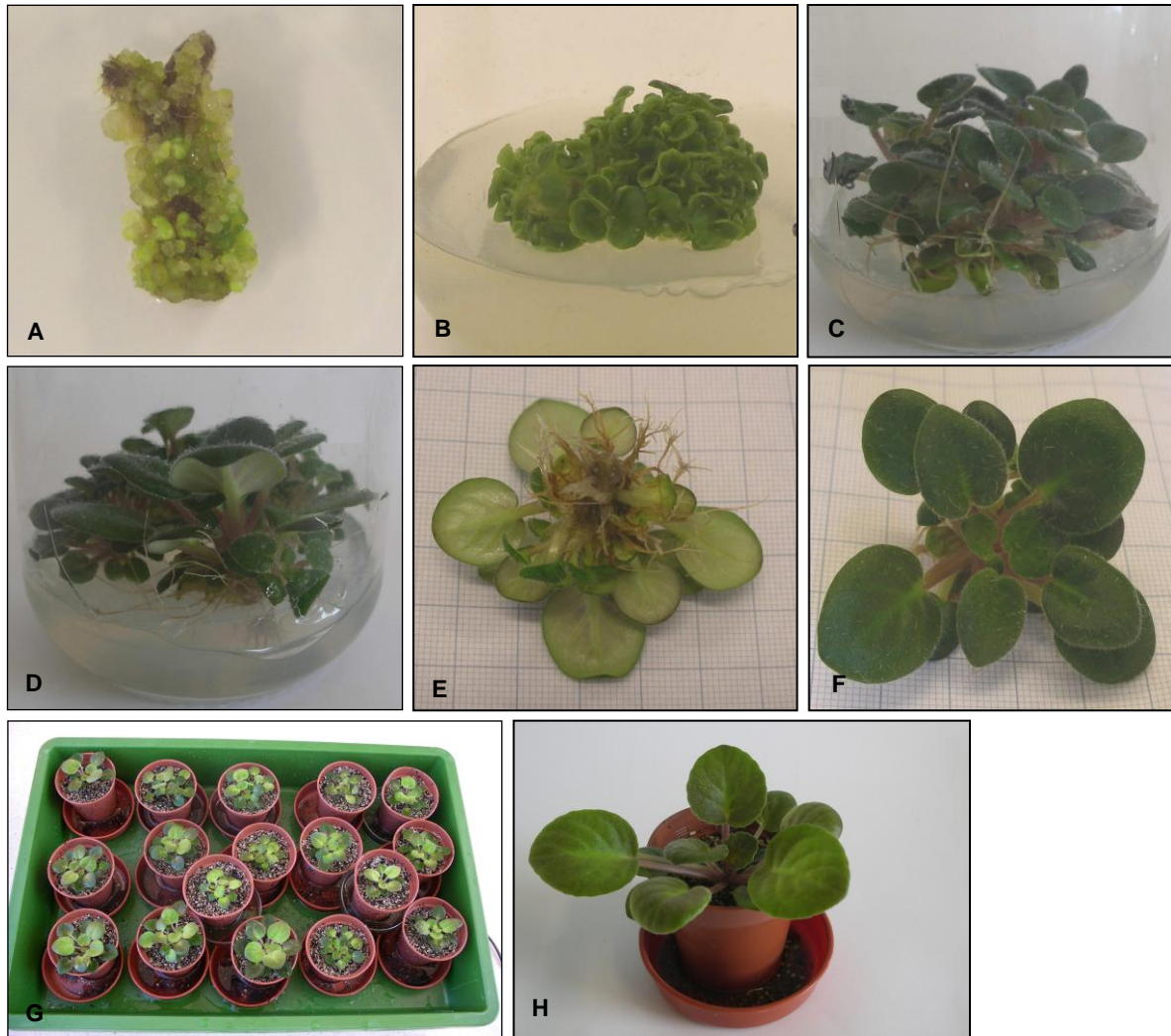


Figura 4.5 – Evolução dos explantes de violeta africana até à fase de aclimatização das plântulas. (A) explante com mês e meio de cultura em que se verifica o desenvolvimento de rebentos em toda a sua extensão; (B) explante com 3 meses de cultura, com multiplicação de rebentos e crescimento das folhas; (C e D) plântulas após 2 meses em meio de enraizamento, com desenvolvimento das raízes; (E e F) plântulas após 2 meses em meio de enraizamento onde se evidenciam as raízes e as folhas, respectivamente; (G) plantas após 1 mês de aclimatização; (H) planta após 3 meses de aclimatização.

Tal como se referiu para a couve-flor, também foi calculada a taxa de crescimento da violeta africana, mas face ao número de explantes de pecíolo que responderam ao meio de cultura (7 explantes num total de 13 sem infecções), utilizaram-se vinte rebentos, já estabelecidos *in vitro*, a partir dos quais se determinou a massa durante o mesmo número de semanas. A Tabela 4.7 mostra a variação das massas registadas em cada semana.

Na Figura 4.7 apresenta-se a curva de crescimentos dos rebentos de violeta africana, verificando-se que apresentam uma dinâmica de crescimento semelhante ao

referido para a couve-flor, com destaque para as primeiras fases (lag e exponencial/linear) características da curva de crescimento de uma cultura de células/órgãos vegetais (Canhoto, 2010). No que diz respeito ao desvio padrão, registaram-se sempre aumentos do valor ao longo das cinco semanas, tal como sucedeu com a couve-flor, no entanto, atendendo a que se verificou menor variabilidade no crescimento dos rebentos de violeta africana relativamente aos explantes de couve-flor, as diferenças semanais do desvio padrão foram menos acentuadas, sugerindo grande homogeneidade na resposta dos rebentos ao meio de cultura e um crescimento semelhante em diferentes rebentos.

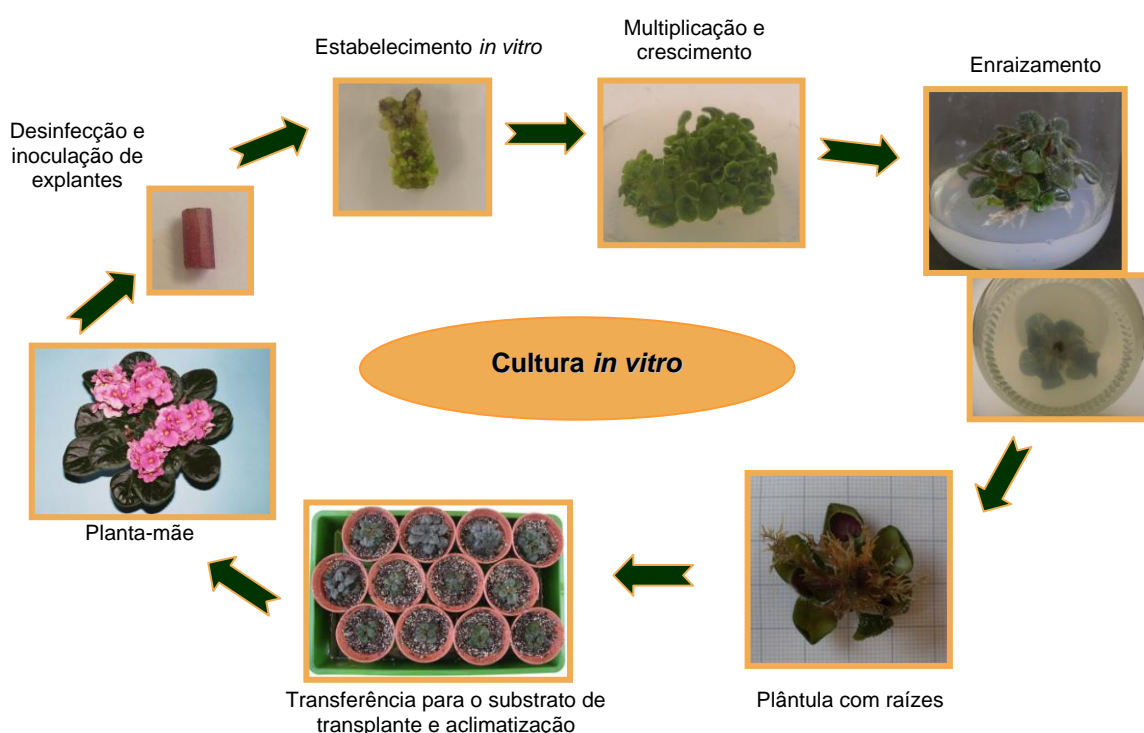


Figura 4.6 – Fases da micropropagação da violeta africana.

Comparando a taxa de crescimento da violeta africana com a de couve-flor (Figura 4.8), verifica-se que o desenvolvimento é muito superior nesta, o que constitui uma evidência da sua grande capacidade de resposta quando cultivada *in vitro*. Assim, para o mesmo intervalo de tempo, as fases lag e exponencial/linear foram evidentes na curva de crescimento da couve-flor, enquanto na violeta africana o aumento de massa foi muito mais lento.

Tabela 4.7 – Massas dos rebentos de violeta africana ao longo de cinco semanas.

Rebentos	Massa inicial (g)	7 dias (g)	14 dias (g)	21 dias (g)	28 dias (g)	35 dias (g)
Nº 1	0,158	0,275	0,454	0,734	1,357	2,240
Nº 2	0,248	0,489	0,877	1,526	2,783	5,394
Nº 3	0,131	0,276	0,512	0,763	1,420	2,043
Nº 4	0,118	0,303	0,543	1,062	1,728	2,830
Nº 5	0,173	0,247	0,447	0,873	1,635	2,659
Nº 6	0,126	0,281	0,573	0,929	1,953	3,457
Nº 7	0,105	0,138	0,281	0,487	0,945	1,880
Nº 8	0,129	0,196	0,328	0,481	0,841	1,284
Nº 9	0,227	0,373	0,619	0,862	1,601	2,388
Nº 10	0,075	0,196	0,438	0,819	1,352	2,601
Nº 11	0,124	0,360	0,742	1,054	1,951	2,983
Nº 12	0,063	0,139	0,283	0,472	0,973	1,621
Nº 13	0,257	0,412	0,844	1,711	2,552	3,943
Nº 14	0,192	0,342	0,526	1,019	2,141	3,956
Nº 15	0,202	0,396	0,564	0,732	1,089	1,926
Nº 16	0,383	0,561	0,894	1,615	3,022	5,872
Nº 17	0,238	0,375	0,725	1,160	1,855	2,756
Nº 18	0,163	0,308	0,533	0,855	1,510	2,843
Nº 19	0,279	0,453	0,705	1,181	1,877	3,152
Nº 20	0,178	0,338	0,559	0,834	1,431	2,261
Massa total (g)	3,569	6,458	11,447	19,169	34,016	58,093
Massa média (g)	0,1784	0,3229	0,5723	0,9584	1,7008	2,9046
Desvio padrão	0,077	0,111	0,182	0,3497	0,593	1,167

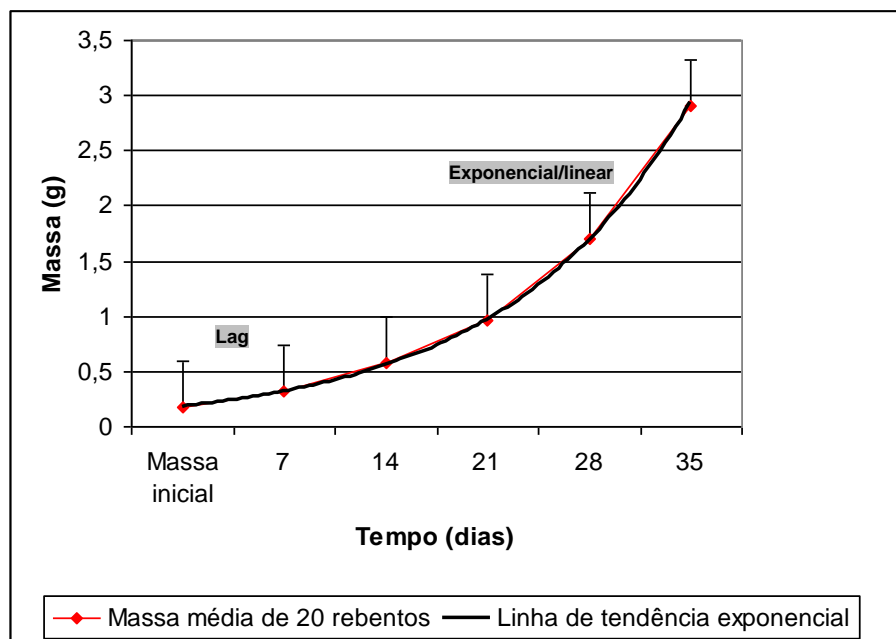


Figura 4.7 – Curva de crescimento dos rebentos de violeta africana em meio MS com BAP (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L). Após a determinação da massa inicial, o cálculo da massa efectuou-se durante cinco semanas. As barras verticais correspondem ao erro-padrão.

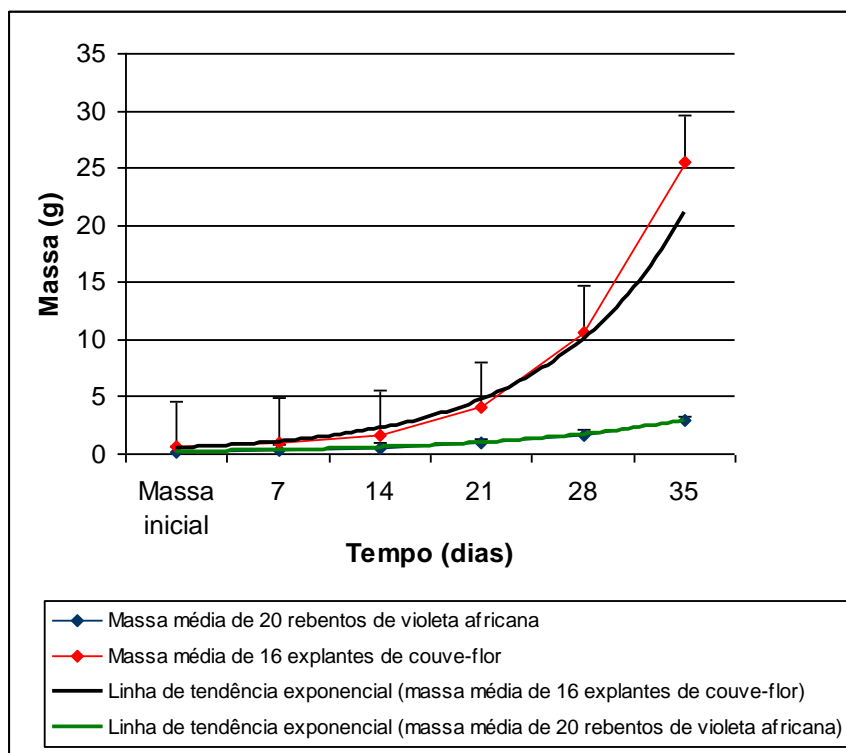


Figura 4.8 – Comparação da curva de crescimento dos explantes de couve-flor (meio MS com cinetina) com rebentos de violeta africana (meio MS com BAP e IBA), durante cinco semanas, após o cálculo da massa inicial. Para o mesmo intervalo de tempo o crescimento dos explantes de couve-flor é muito superior ao verificado nos rebentos de violeta africana. As barras verticais correspondem ao erro-padrão.

No que se refere aos ensaios efectuados com *adubo líquido universal KB[®]*, em substituição do meio MS, verificaram-se resultados positivos com a adição de BAP (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L), como meio de indução. Verificou-se que 20% dos explantes de pecíolo submetidos à desinfecção referida no procedimento 1B (ver Anexo 3) originaram rebentos de modo semelhante à indução com o meio MS, apesar da menor taxa de resposta. Por outro lado, submeteram-se rebentos de violeta, já estabelecidos *in vitro*, a dois tipos de meio de cultura com *adubo líquido universal KB[®]*, um com cinetina (2,5 mg/L) e o outro sem qualquer regulador de crescimento. No meio em que se adicionou cinetina, verificou-se elevada multiplicação dos rebentos, enquanto no meio sem reguladores de crescimento ocorreu, sobretudo o crescimento das folhas, além de se formarem algumas raízes (Figura 4.9). Este último meio, apesar de promover a formação de raízes, originou também novos rebentos, dificultando a individualização de plântulas para aclimatização, pelo que foram feitos outros ensaios com *adubo líquido universal KB[®]* ao qual se adicionaram auxinas (NAA e IBA). Com a adição de NAA (0,5 mg/L e 1 mg/L) os rebentos acabaram por morrer, e com IBA (0,5 mg/L e 1 mg/L), apesar de ser visível a

formação de raízes em alguns rebentos, continuou a predominar a sua multiplicação, formando-se apenas ocasionalmente plântulas individualizadas para aclimatização. Assim, sugere-se a utilização do meio MS para o enraizamento dos rebentos provenientes dos meios com *adubo líquido universal KB*[®] (com e sem cinetina) que, além de permitir o crescimento das folhas e a rizogénese, possibilita a individualização de plântulas.

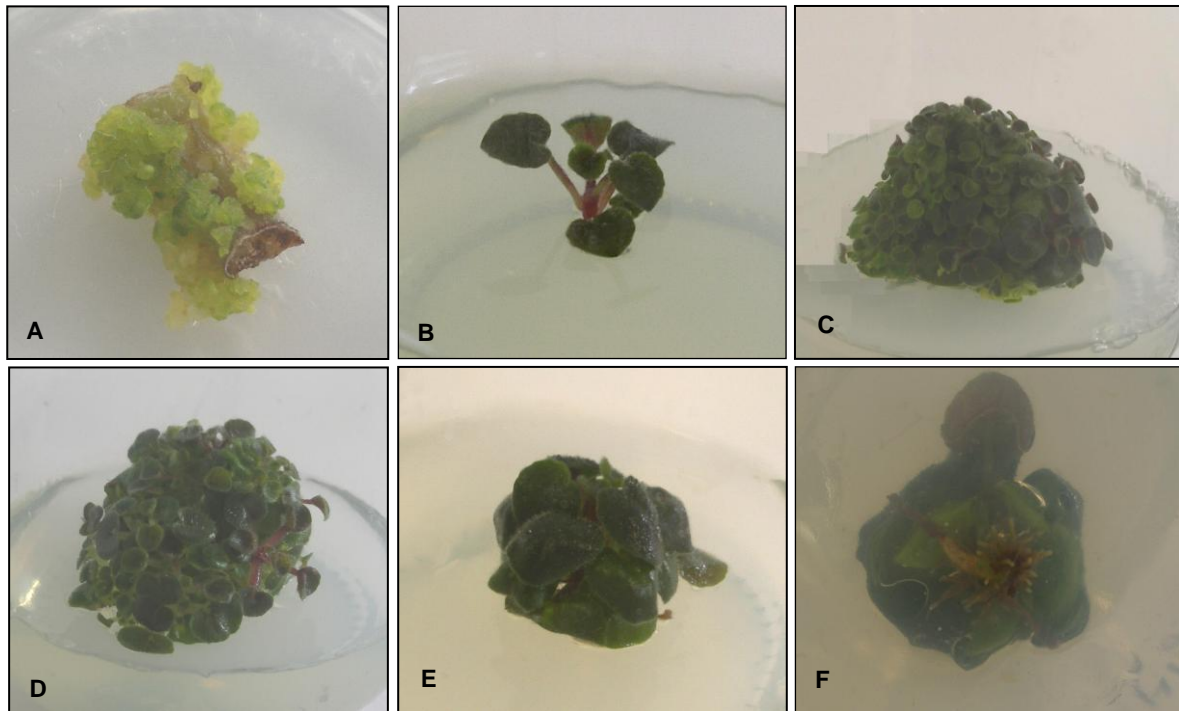


Figura 4.9 – Efeito do *adubo líquido universal KB*[®] na micropropagação da violeta africana. (A) explante com rebentos, em meio com *adubo líquido universal KB*[®] acrescido de BAP (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L), após 2 meses de cultura *in vitro*; (B) rebento em meio com *adubo líquido universal KB*[®] com cinetina (2,5 mg/L) – aspecto inicial; (C) evolução do rebento anterior após 3 meses de cultura – elevada multiplicação de rebentos; (D) evolução de um rebento com 3 meses de cultura; (E) rebento em meio com *adubo líquido universal KB*[®] sem cinetina – crescimento das folhas; (F) o mesmo rebento anterior fotografado na base para mostrar a formação de raízes.

Foi também calculada a taxa de crescimento da violeta africana em meio com *adubo líquido universal KB*[®] acrescido de cinetina (2,5 mg/L), através da determinação mensal da massa de dez rebentos (previamente estabelecidos *in vitro*), durante quatro meses (Tabela 4.8). Os resultados apresentados na Figura 4.10 mostram que este meio de cultura promoveu uma curva de crescimento dos rebentos, semelhante à observada com o meio MS com BAP e IBA, apesar do desenvolvimento ser mais lento, pelo que a escala temporal utilizada foi diferente (meses). No que diz respeito ao desvio padrão,

confirmaram-se os resultados anteriores, verificando-se que ao longo do tempo aumenta a variabilidade no crescimento dos rebentos.

Tabela 4.8 – Massas dos rebentos de violeta africana ao longo de quatro meses.

Rebentos	Massa inicial (g)	1 mês (g)	2 meses (g)	3 meses (g)	4 meses (g)
Nº 1	0,092	0,272	0,730	2,990	9,645
Nº 2	0,079	0,194	1,112	6,227	19,663
Nº 3	0,119	0,305	0,824	3,031	10,564
Nº 4	0,046	0,160	0,667	3,225	10,255
Nº 5	0,104	0,236	0,768	2,699	9,745
Nº 6	0,059	0,127	0,518	3,017	11,626
Nº 7	0,070	0,244	1,623	5,649	12,260
Nº 8	0,059	0,120	0,487	4,596	18,882
Nº 9	0,074	0,229	0,868	5,744	13,470
Nº 10	0,068	0,281	1,112	4,835	14,795
Massa total (g)	0,77	2,168	8,709	42,013	130,905
Massa média (g)	0,077	0,2168	0,8709	4,2013	13,0905
Desvio padrão	0,022	0,064	0,338	1,358	3,653

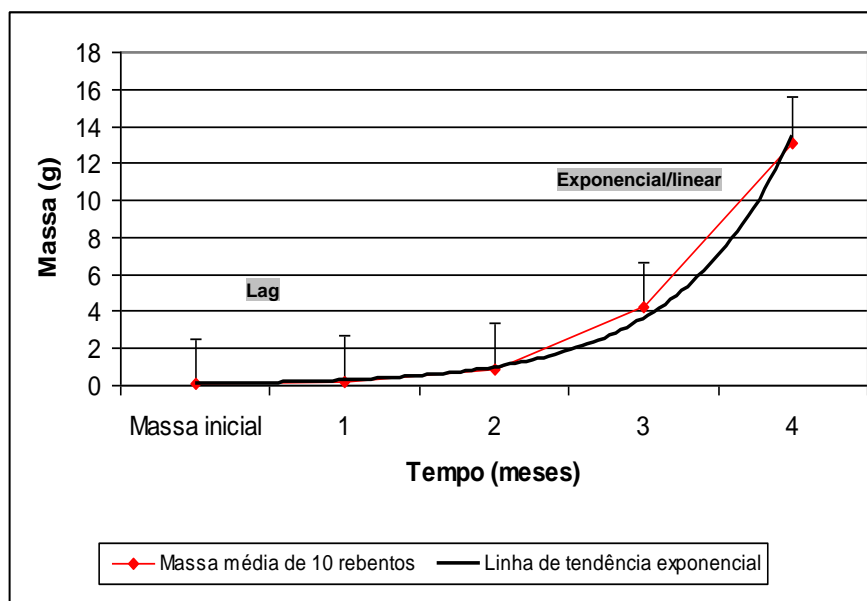


Figura 4.10 – Curva de crescimento dos rebentos de violeta africana em meio de cultura com *adubo líquido universal KB*[®] acrescido de cinetina (2,5 mg/L). Após a determinação da massa inicial, o cálculo da massa efectuou-se durante quatro meses. As barras verticais correspondem ao erro-padrão.

4.2.2. MANIPULAÇÃO DE DNA E ENGENHARIA GENÉTICA

4.2.2.1. EXTRACÇÃO DE DNA DE CÉLULAS VEGETAIS E AVALIAÇÃO DA SUA QUALIDADE POR ELECTROFORESE EM GEL DE AGAROSE

Nas extracções simples, em que foi utilizado gérmen de trigo e morango, apesar do DNA extraído apresentar baixo grau de pureza, os procedimentos realizados apresentam as seguintes vantagens: a) são de execução simples e têm poucas etapas; b) possibilitam obter filamentos esbranquiçados com DNA, por precipitação em álcool etílico; c) têm custos reduzidos; d) adequam-se aos tempos lectivos do ensino básico. A vantagem de utilizar morangueiros agrícolas comuns resulta de serem octoplóides¹⁵ – têm oito cópias de cada um dos sete cromossomas que existem em cada célula (56 cromossomas), originando bastante DNA.

Os procedimentos adequados para o ensino secundário, apesar de serem mais longos, permitem obter amostras de DNA menos contaminadas para avaliação da sua qualidade em trabalhos de electroforese, além de permitirem demonstrar os princípios mais importantes envolvidos na extracção de DNA de um tecido (ver Capítulo 3, secção 3.2.2.2. Manipulação de DNA e engenharia genética, A) Extracção de DNA de células vegetais e avaliação da sua qualidade por electroforese em gel de agarose, p.136).

Quanto aos resultados dos procedimentos realizados especificamente para o ensino secundário, a partir de todos os materiais vegetais utilizados, observou-se a precipitação em álcool etílico de filamentos esbranquiçados com DNA. Nas amostras de DNA obtidas após a remoção de contaminantes (*e.g.* proteínas) que se submeteram a electroforese, verificou-se a presença de bandas de DNA: 1) bem visíveis e espessas, nas amostras de gérmen de trigo; 2) visíveis e finas com a cebola; 3) visíveis, mas menos nítidas, nas amostras de ervilhas. A presença de bandas de DNA nas amostras de cebola ocorreu de forma bastante irregular e nem sempre se apresentaram visíveis. Por outro lado, não se observaram bandas de DNA nas amostras de kiwi e de morango. No esquema da Figura 4.11 sintetizam-se os resultados obtidos.

¹⁵ http://ppge.ucdavis.edu/Equipment/Protocols/strawberry_dna_extraction_05.pdf [Acedido: 10/02/2007]

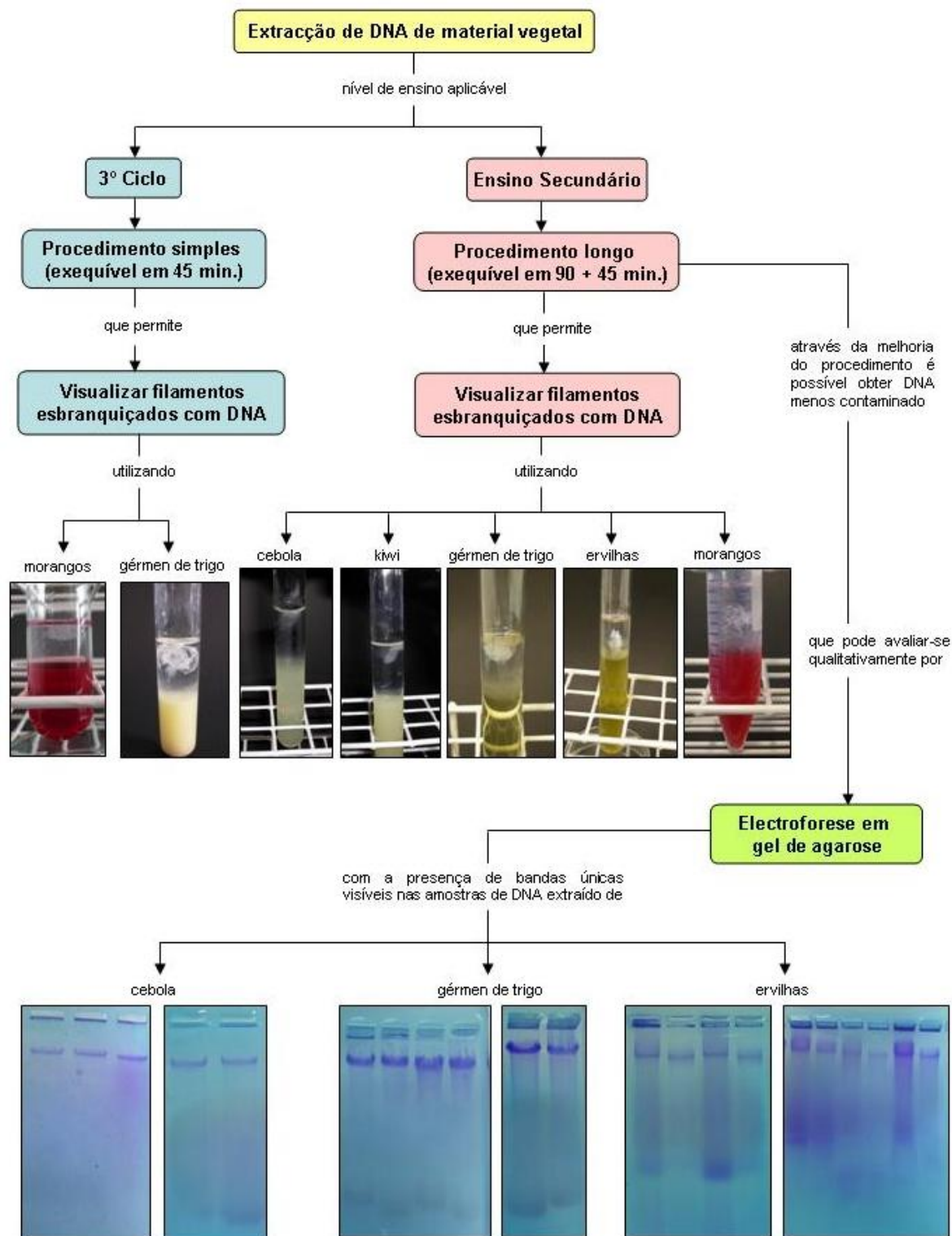


Figura 4.11 – Resultados da extracção de DNA e da electroforese em gel de agarose. As imagens mostram a precipitação de filamentos esbranquiçados com DNA utilizando os procedimentos e os materiais vegetais testados, e a presença de bandas de DNA nas amostras de cebola, gérmem de trigo e ervilhas.

4.2.2.2. DIGESTÃO DE DNA POR ENZIMAS DE RESTRIÇÃO

Para determinar o tamanho aproximado dos fragmentos de DNA/bandas mediu-se a distância, em milímetros, que cada fragmento de DNA migrou a partir do poço, desde a parte inferior do poço à parte inferior de cada banda. O tamanho em pares de bases de cada fragmento resultante da digestão efectuou-se por comparação com as distâncias percorridas pelos fragmentos de DNA de massa molecular conhecida – marcador λ HindIII. Este método permitiu estabelecer o intervalo de valores de pares de bases, para fragmentos de massa molecular desconhecida, provenientes da digestão do DNA lambda com as enzimas *EcoRI* e *PstI*. A Tabela 4.9 mostra as medições efectuadas e os cálculos estimados para cada banda de DNA resultante da digestão. A Figura 4.12 mostra os resultados no gel de electroforese após a digestão.

Tabela 4.9 – Tamanho estimado de cada fragmento, em pares de bases, por comparação com a posição dos fragmentos de tamanho conhecido do marcador λ HindIII (VR – valor real e VE – valor estimado).

	Marcador de DNA λ HindIII ¹⁶		DNA lambda (sem enzima)		EcoRI = produto da digestão do DNA lambda		PstI = produto da digestão do DNA lambda	
	Distância (mm)	Pares de bases (VR)	Distância (mm)	Pares de bases (VE)	Distância (mm)	Pares de bases (VE)	Distância (mm)	Pares de bases (VE)
Banda 1	10	23130	9	> 23130	11	< 23130 > 9416	13	= 9416
Banda 2	13	9416			16	= 6557	19	= 4361
Banda 3	16	6557			18	< 6557 > 4361	24	< 4361 > 2322
Banda 4	19	4361			19	= 4361	26	< 4361 > 2322
Banda 5	27	2322			22	< 4361 > 2322	28	< 2322 > 2027
Banda 6	29	2027					29	= 2027
Banda 7							32	< 2027
Banda 8							40	< 2027

¹⁶ Os valores de pares de bases das bandas provenientes do DNA marcador estão referidos na literatura (e.g. Madden, 2001).

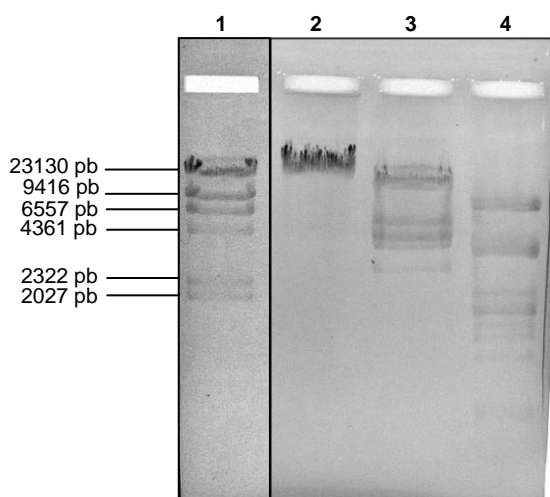


Figura 4.12 – Resultados da digestão do DNA lambda após a electroforese. O poço 1 corresponde ao marcador λ /*Hind*III, com as respectivas massas moleculares (pb – pares de bases); o poço 2 corresponde ao DNA lambda não cortado; o poço 3 corresponde aos fragmentos resultantes da digestão com a enzima *Eco*RI e o poço 4 corresponde aos fragmentos resultantes da digestão com a enzima *Pst*I.

O método mais rigoroso para determinar o tamanho de cada banda de DNA de massa molecular desconhecida consiste na construção de uma curva-padrão. A Figura 4.13 corresponde à curva-padrão determinada a partir do marcador λ /*Hind*III de massa molecular conhecida, através da qual se calcularam (por aproximação) os tamanhos dos fragmentos de DNA lambda, resultantes da digestão pelas enzimas *Eco*RI e *Pst*I. A curva-padrão obtida, tendencialmente linear, está de acordo com a literatura, uma vez que “a relação entre o logaritmo do peso molecular do DNA e a distância percorrida no gel é aproximadamente linear” (Videira, 2001c, p.48).

A Tabela 4.10 apresenta o valor aproximado de cada banda correspondente aos fragmentos de DNA resultantes da digestão. Estes resultados estão de acordo com a literatura (Correia & Mendo, 2001; Madden, 2002; Videira, 2001c), verificando-se que, quanto maior a massa molecular dos fragmentos de DNA, menor a sua migração no gel de agarose e inversamente em relação aos fragmentos de DNA de menores dimensões.

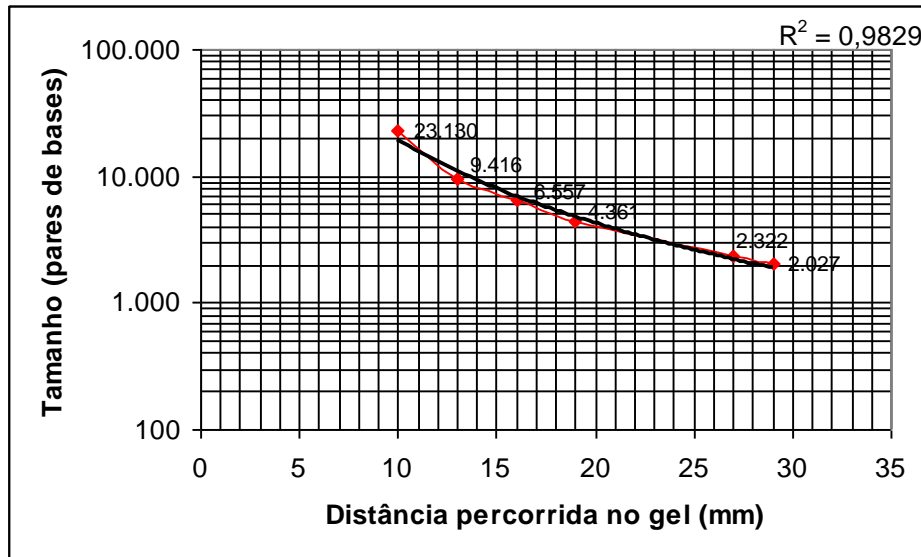


Figura 4.13 – Gráfico semi-logarítmico correspondente à curva-padrão do marcador λ /HindIII de massa molecular conhecida. O traço a preto mostra a linha de tendência aproximadamente linear.

Tabela 4.10 – Valor aproximado do tamanho dos fragmentos de DNA resultantes da digestão pelas enzimas *EcoRI* e *PstI*.

	Digestão pela enzima <i>EcoRI</i>		Digestão pela enzima <i>PstI</i>	
	Distância (mm)	Tamanho dos fragmentos (pb)	Distância (mm)	Tamanho dos fragmentos (pb)
Banda 1	11	18000	13	9416
Banda 2	16	6557	19	4361
Banda 3	18	5000	24	3000
Banda 4	19	4361	26	2500
Banda 5	22	3500	28	2100
Banda 6			29	2027
Banda 7			32	< 2027
Banda 8			40	< 2027

4.2.2.3. TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA MEDIADA POR *Rhizobium radiobacter*

Da desinfecção superficial de secções da raiz de cenoura (através de lixívia com detergente a 20%) e infecção dos discos recém-cortados com *Rhizobium radiobacter* verificou-se um número reduzido dos que desenvolveram tumores. Registou-se uma taxa de sucesso entre 20 a 30%, através da formação de tumores com diferentes graus de desenvolvimento. Os restantes discos não formaram tumores e apresentaram contaminações por fungos e/ou outras bactérias. Os tumores desenvolveram-se,

principalmente, em volta do cilindro central da raiz de cenoura, junto ao câmbio vascular (Figura 4.14). A ocorrência preferencialmente nesta zona da raiz pode explicar-se pela grande abundância de células meristemáticas do câmbio vascular, já condicionadas para elevadas taxas de divisão celular, que sob o estímulo da transformação exercida pela bactéria aumentaram ainda mais a sua taxa de divisão, levando à formação anômala de células do tipo parenquimatoso (pouco diferenciadas) que, acumuladas de forma não organizada, originaram tumores. Este tipo de resposta, com a formação de tumores nas zonas de ferida e/ou mais responsivas dos órgãos corresponde ao descrito na literatura (Andrade *et al.*, 2003; Belo *et al.*, 2001; Oliveira, 2000; Pais, 2003; Riva *et al.*, 1998; Salema, 1999).

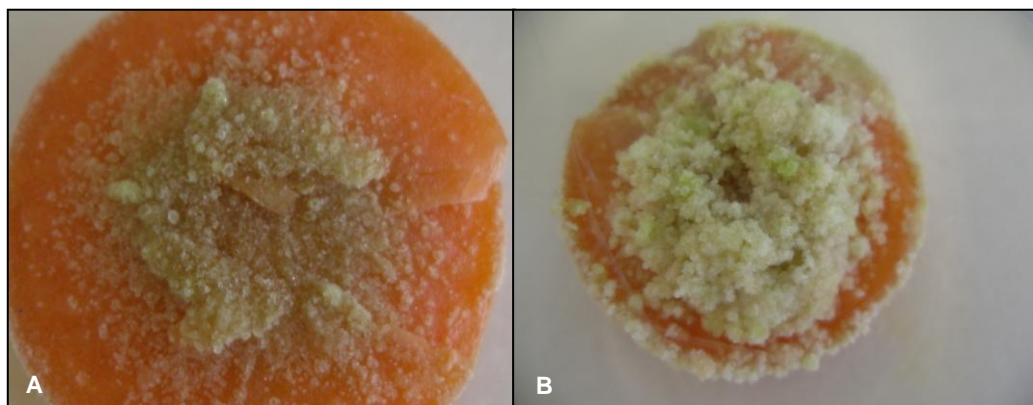


Figura 4.14 – Desenvolvimento de um tumor em discos de raiz de cenoura, por infecção com *Rhizobium radiobacter*, em volta do cilindro central, na zona do câmbio vascular. (A) tumor com três semanas; (B) tumor com quatro meses.

4.2.3. MICROBIOLOGIA

4.2.3.1. BACTÉRIAS DO SOLO

A) DETECÇÃO E ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO PRODUTORAS DE ANTIBIÓTICOS

Os resultados do crescimento das bactérias, a partir de diluições sucessivas da amostra de solo, permitiram verificar que as placas de Petri provenientes da diluição 10^{-3} , independentemente do meio de cultura (selectivo ou complexo) foram as que apresentaram maior número de colónias, adequadamente afastadas para poderem

utilizar-se na técnica de sobrecamada directa e na obtenção de isolados bacterianos para a detecção da actividade antibiótica. Nas placas de Petri com inóculo proveniente da mesma diluição do solo verificou-se maior diversidade das colónias no meio complexo, com tamanhos e consistências diferentes, comparativamente com as que se desenvolveram no meio de selectivo (Figura 4.15).

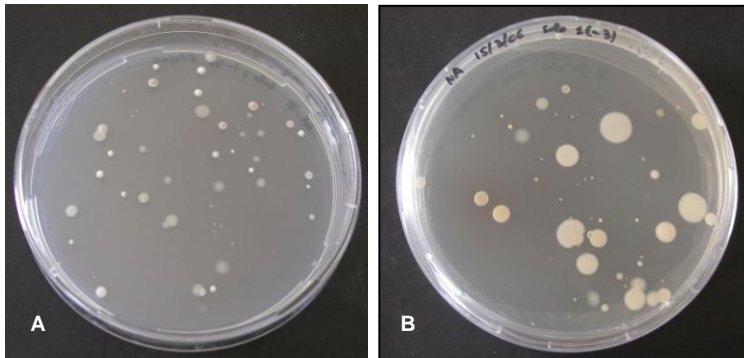


Figura 4.15 – Colónias resultantes da técnica de espalhamento da suspensão de solo proveniente da diluição 10^{-3} em meio selectivo (A) e em meio complexo (B). Salienta-se a maior diversidade de colónias no meio complexo.

Relativamente aos resultados obtidos, tal como referido por Brites (2006), quando comparado o meio selectivo (meio de isolamento e meio de crescimento) com o meio complexo (*nutrient agar*), identificaram-se maior número de colónias produtoras de antibióticos no meio selectivo, atendendo à sua composição específica para promover o crescimento de bactérias do género *Streptomyces* (Figura 4.16 C). Em contrapartida, a estirpe indicadora (*Micrococcus luteus*), com colónias de cor amarela, cresce melhor em meio complexo (Figura 4.16 A), comparativamente com o meio selectivo (Figura 4.16 D e E), igualmente referido por Brites (2006).

Tal como se referiu no Capítulo 3 (ver secção 3.2.2.3. Microbiologia, A1) Detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos, p.144) a metodologia utilizada na detecção da actividade antibiótica efectuou-se recorrendo às técnicas de sobrecamada directa, sobrecamada em colónias isoladas e técnica de riscado. A partir de qualquer uma destas técnicas verificaram-se resultados positivos, com a formação de halos de inibição do crescimento da estirpe indicadora em volta de colónias produtoras (Madigan *et al.*, 2004) (técnica de sobrecamada directa e sobrecamada em colónias isoladas) e/ou na extremidade dos traços de crescimento de colónias produtoras (técnica de riscado).

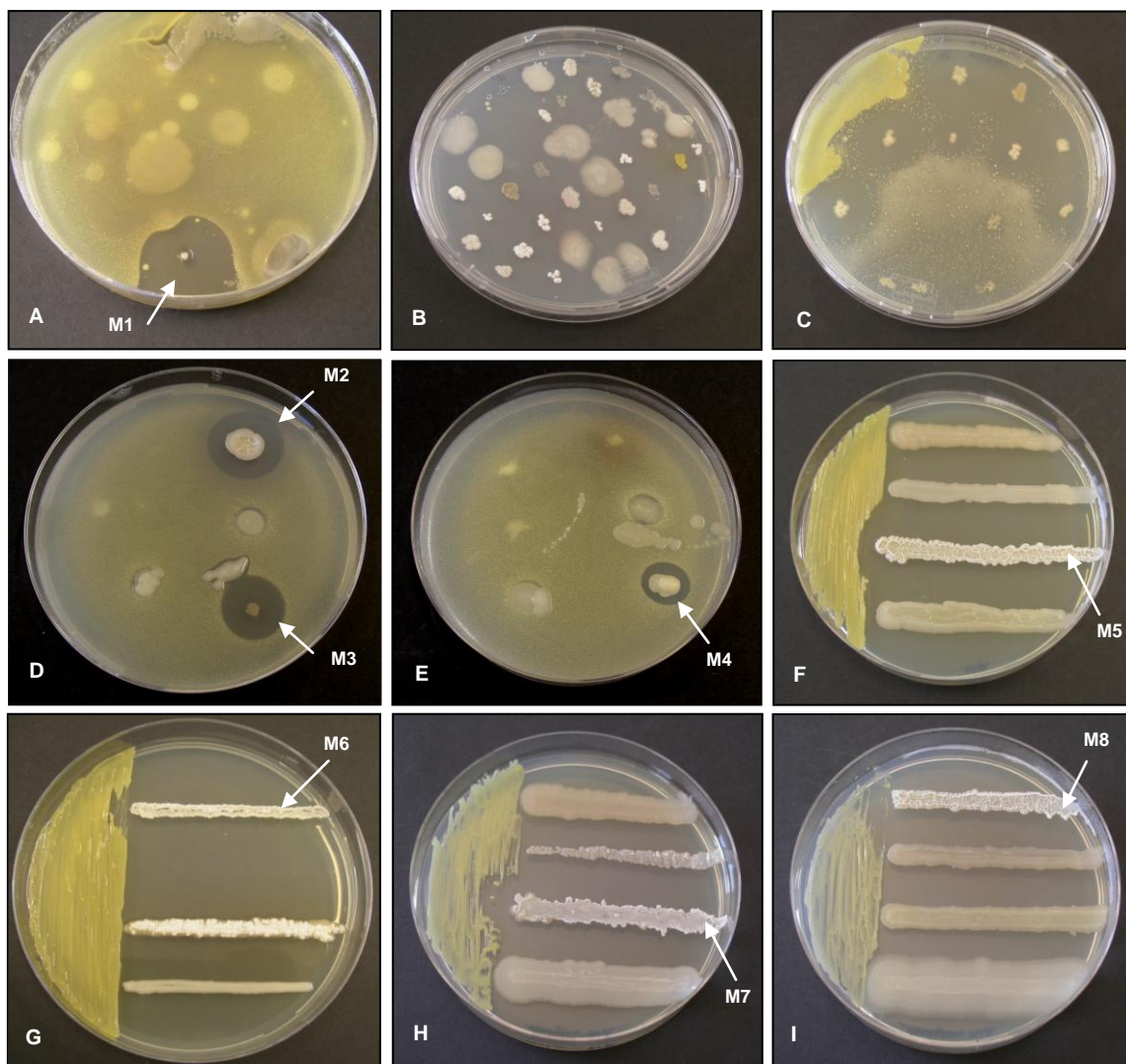


Figura 4.16 – Detecção de bactérias produtoras de antibióticos pela inibição do crescimento da estirpe indicadora (*Micrococcus luteus*). (A) resultado em meio complexo da sobrecamada directa nas colónias provenientes da diluição 10^{-3} – verifica-se a produção de antibióticos pelo microrganismo M1; (B) colónias isoladas em meio selectivo para a detecção da actividade antibiótica; (C) resultado da sobrecamada em colónias isoladas, provenientes do meio selectivo, com vários halos de inibição do crescimento da estirpe indicadora; (D e E) resultados da sobrecamada em colónias isoladas em meio selectivo – verifica-se a capacidade de produção de antibióticos pelos microrganismos M2, M3 e M4; (F, G, H e I) resultados da técnica de riscado em meio complexo – observa-se a inibição do crescimento da estirpe indicadora devido à produção de antibióticos pelos microrganismos M5, M6, M7 e M8.

A técnica de riscado, que exige maior destreza manual do executante, permitiu obter os melhores resultados (Figura 4.16 F, G, H e I), além de facilitar a recolha de bactérias produtoras de antibióticos para futuros trabalhos. A técnica de sobrecamada, apesar de ser mais fácil de executar, possibilita que, no momento da adição da estirpe indicadora, algumas colónias de consistência mais leitosa possam deslocar-se na placa

de Petri tornando os resultados menos claros. O isolamento de colónias mais distanciadas entre si para novo meio de cultura minimiza este risco, pelo que se deve ter em consideração quando se pretende obter melhores resultados com a técnica de sobrecamada. Assim, a técnica de sobrecamada directa apenas deve efectuar-se em placas que contenham poucas colónias, sobretudo nas provenientes da diluição 10^{-4} . A dificuldade de controlar a temperatura do meio de cultura para a incorporação da estirpe indicadora, antes da adição da sobrecamada às placas com as colónias bacterianas isoladas, é outra desvantagem da técnica de sobrecamada.

B) AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ANTIBIÓTICOS, ANTISSÉPTICOS E DESINFECTANTES EM BACTÉRIAS DO SOLO PRODUTORAS DE ANTIBIÓTICOS

Os resultados observados com os antibióticos utilizados, permitiram verificar que as estirpes testadas foram todas resistentes à penicilina e sensíveis aos restantes antibióticos, registando-se maiores halos de inibição do crescimento pela acção do macrólido utilizado. Nos testes com antissépticos verificou-se resistência ao álcool etílico e sensibilidade aos restantes, registando-se maiores halos de inibição do crescimento com água oxigenada relativamente ao *Betadine*[®]. Quanto aos desinfectantes, verificaram-se maiores halos de inibição do crescimento com a lixívia do que com *Amokina*[®] (Figura 4.17).

Ambas as técnicas (incorporação e espalhamento com a zaragatoa) permitiram obter resultados positivos, sendo o espalhamento mais fácil de executar, pois a incorporação implica o controlo da temperatura do meio de cultura ao qual se adiciona o inóculo, além de ser mais exigente em termos de materiais a utilizar.

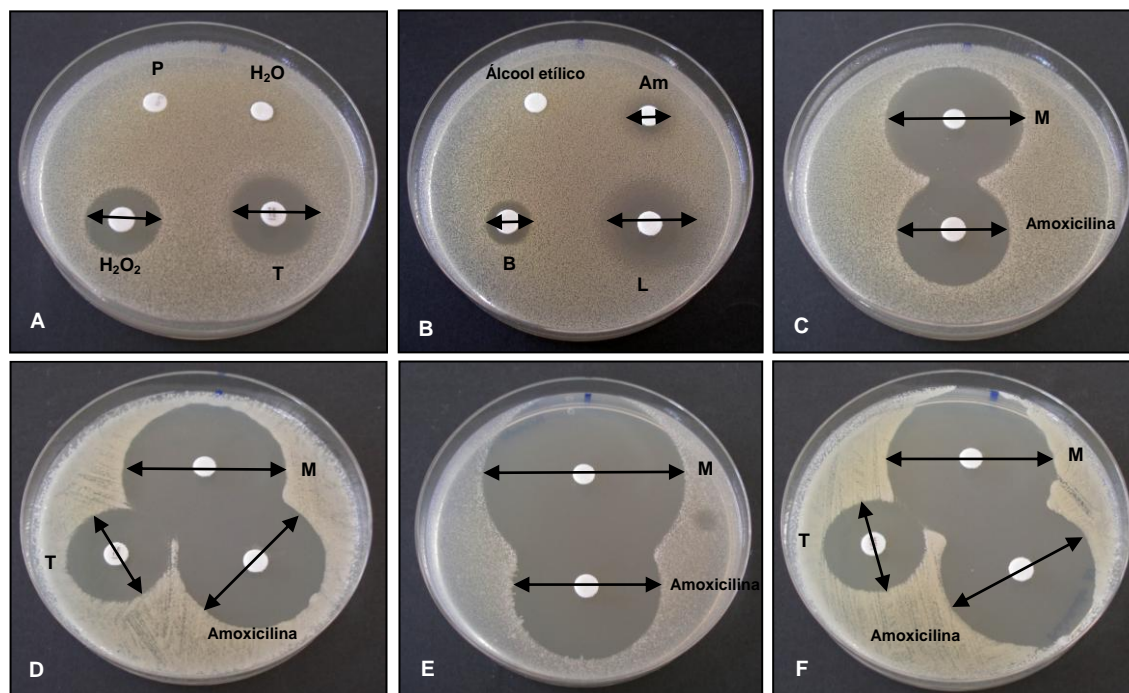


Figura 4.17 – Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfetantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos. As setas indicam o diâmetro dos halos de inibição do crescimento das estirpes utilizadas. P – penicilina, H₂O – água destilada (esterilizada), H₂O₂ – peróxido de hidrogénio (água oxigenada a 10 volumes), T – tetraciclina, Am – *Amokina*[®], B – *Betadine*[®], L – lixívia, M – macrólido. As placas de Petri observadas em A, B, C e D foram inoculadas com a mesma estirpe bacteriana, as três primeiras por incorporação e a quarta por espalhamento com auxílio da zaragatoa. Em E e F observam-se os resultados de estirpes bacterianas diferentes inoculadas, respectivamente, por incorporação e espalhamento. (A) resistente à penicilina e à água destilada; sensível ao peróxido de hidrogénio (1,8 cm) e à tetraciclina (2 cm); (B) resistente ao álcool etílico; sensível à *Amokina*[®] (0,9 cm), *Betadine*[®] (1,1 cm) e lixívia (1,5 cm); (C) sensível aos antibióticos macrólido (3,8 cm) e amoxicilina (2,8 cm); (D) sensível aos antibióticos macrólido (4,5 cm), amoxicilina (3,8 cm) e tetraciclina (2,5 cm); (E) sensível aos antibióticos macrólido (5 cm) e amoxicilina (3,8 cm); (F) sensível aos antibióticos macrólido (4,5 cm), amoxicilina (3,8 cm) e tetraciclina (2,5 cm).

C) DETECÇÃO DE ENZIMAS PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS DO SOLO

Os resultados representados na Figura 4.18 mostram a formação de zonas de hidrólise (zonas claras) em volta das bactérias produtoras de amilases (Oliveira & Pampulha, 2000) nas placas de Petri provenientes da inoculação por espalhamento da amostra de solo, verificando-se melhores resultados a partir das diluições 10^{-3} e 10^{-4} . Em relação às placas de Petri com origem na diluição 10^{-2} , após adição do soluto de Lugol, verificou-se a formação de uma zona clara em todo o meio de cultura em virtude do elevado número de bactérias que hidrolisaram o amido, não havendo zonas azul

arroxeadas. Nas placas de Petri cuja inoculação foi efectuada em poços no meio de cultura, como seria de esperar, verificou-se um decréscimo do tamanho das zonas de hidrólise do amido em função do aumento da diluição da amostra de solo. Nos poços correspondentes ao controlo, dada a ausência de microrganismos no seu interior, formou-se a cor azul arroxeadada à sua volta (resultado negativo).

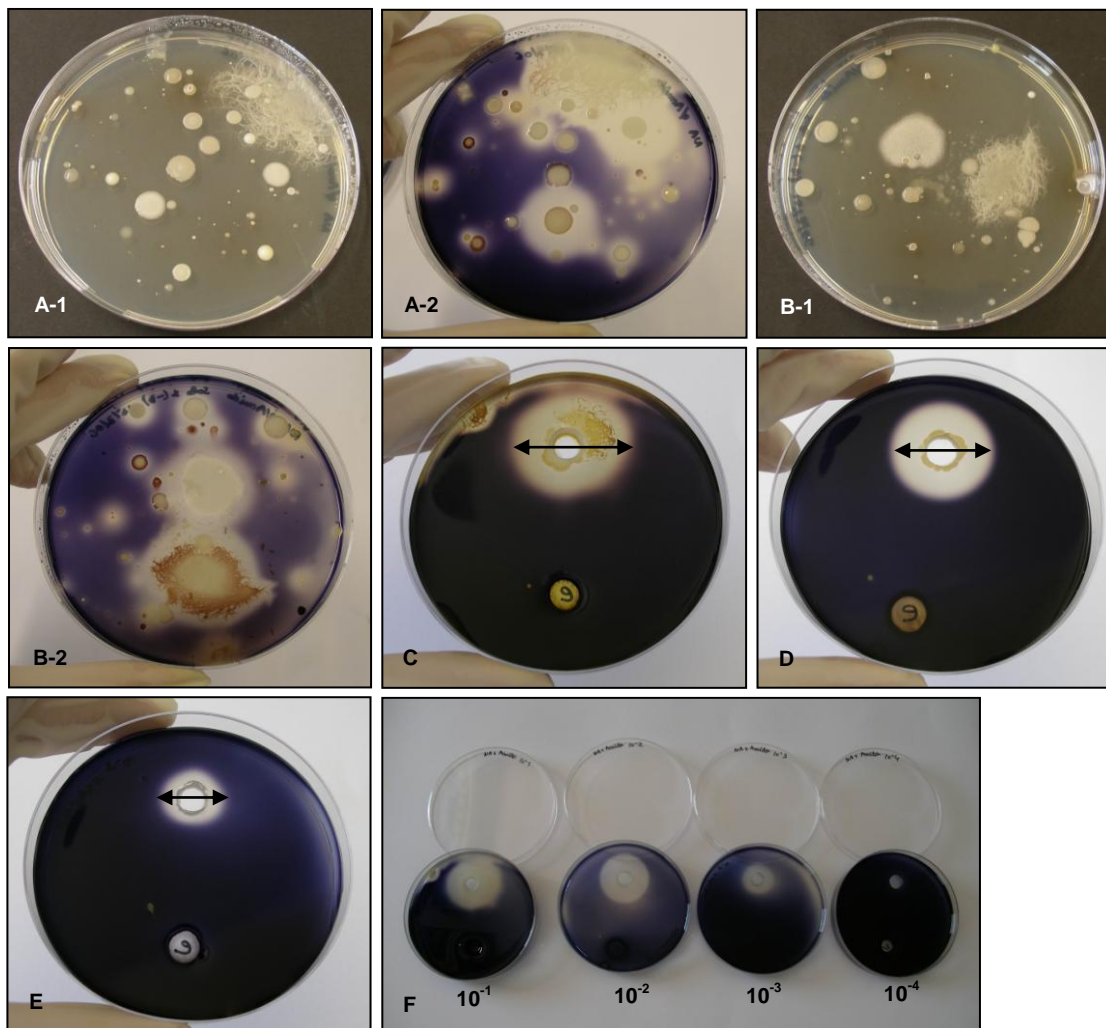


Figura 4.18 – Detecção de bactérias do solo produtoras de amilases. (A-1 e B-1) microrganismos provenientes da diluição 10^{-3} após o espalhamento do inóculo; (A-2 e B-2) as mesmas placas de Petri após a adição do soluto de Lugol, com a formação de zonas de hidrólise do amido à volta das bactérias produtoras de amilases (resultado positivo); (C, D e E) zonas de hidrólise do amido em volta dos poços com inóculo (50 μ L) provenientes, respectivamente, das diluições 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} (resultado positivo); (F) tamanho decrescente das zonas de hidrólise do amido pelo aumento da diluição da amostra de solo. As setas indicam o diâmetro das zonas de hidrólise: 3,3 cm (C), 3 cm (D) e 1,6 cm (E).

4.2.3.2. ENZIMAS MICROBIANAS NA INDÚSTRIA ALIMENTAR

A) *PEELING* ENZIMÁTICO DE CITRINOS

Os resultados do *peeling* enzimático de citrinos estão representados na Figura 4.19, na qual se verifica que a casca da laranja, da qual fazem parte o epicarpo e o mesocarpo, foi totalmente degradada pela acção da pectinase, ficando exposta a parte comestível, o endocarpo.

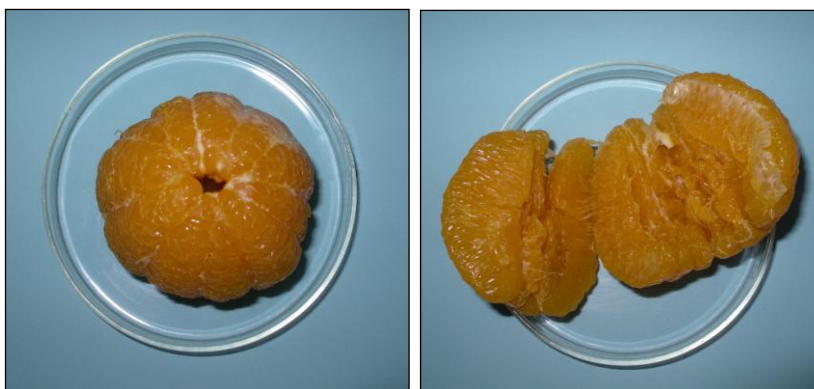


Figura 4.19 – Aspecto exterior e interior da laranja após a acção da pectinase.

B) ACÇÃO ENZIMÁTICA NA PRODUÇÃO DE SUMO DE MAÇÃ

No que diz respeito à acção enzimática na produção de sumo de maçã, os resultados estão registados na Figura 4.20. Verifica-se que o maior volume de sumo produzido ocorreu pela acção conjunta das enzimas pectinase e celulase, seguindo-se a pectinase, a celulase e finalmente a água (utilizada como controlo).

O sumo de maçã apresentava-se límpido e com cor clara sempre que se utilizou a pectinase, pelo que esta enzima além de contribuir para a produção de sumo, também teve efeito na sua clarificação. Os resultados observados estão de acordo com a literatura, em relação ao papel das pectinases na produção de sumos de fruta (e.g. maçã) e do seu efeito clarificador (Macedo *et al.*, 2003; Madden, 2000; Waites *et al.*, 2001). A Figura 4.21 mostra os resultados relativos ao grau de limpidez e ao volume de sumo obtido pela acção da pectinase e da celulase.

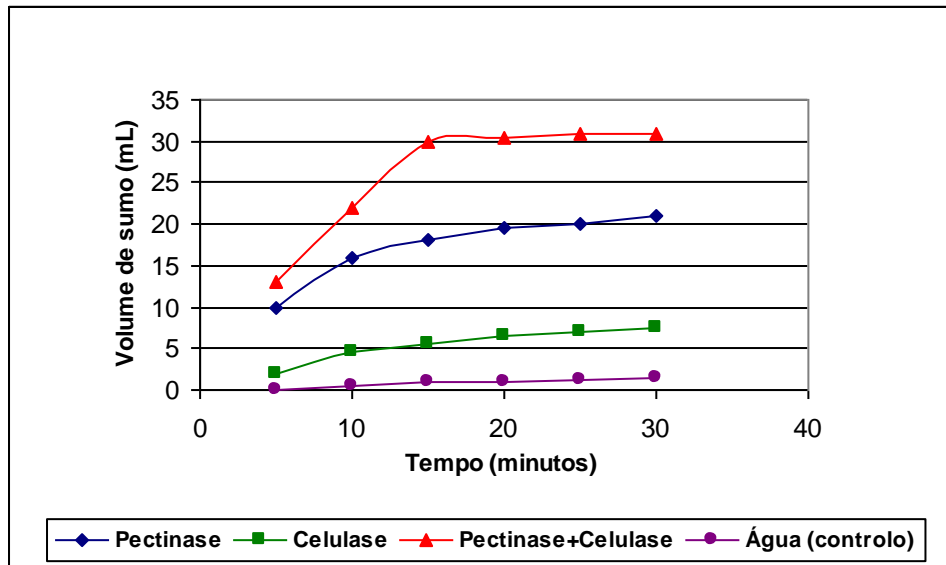
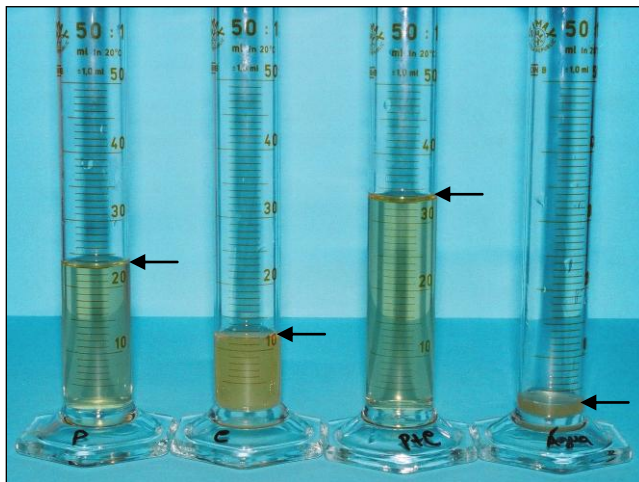


Figura 4.20 – Volume de sumo de maçã produzido em função do tempo.



Enzimas	Grau de limpidez	Cor
Pectinase	límpido	amarela
Celulase	turvo	laranja
Pectinase+Celulase	límpido	amarela
Água	turvo	laranja

Figura 4.21 – Grau de limpidez e volume de sumo de maçã obtido pela acção da pectinase e da celulase após 60 minutos de filtração. **P** – pectinase (23 mL), **C** – celulase (11 mL), **P+C** – pectinase+celulase (33 mL), **água** – controlo (2 mL). As setas indicam o volume de sumo produzido.

C) ACÇÃO DA LACTASE SOBRE O LEITE POR IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA

Nos resultados observados, o leite recolhido na proveta após atravessar as pérolas de alginato de cálcio, originou teste positivo em tiras de detecção de glicose, o que significa que tinha ocorrido a hidrólise da lactose. No teste do leite não submetido à lactase (controlo), o resultado com as tiras de detecção de glicose foi negativo, uma vez que o leite normal não apresenta este monossacarídeo. Este procedimento repetiu-se

duas vezes utilizando as mesmas pérolas sobre novas amostra de leite e o resultado foi igual, uma vez que a imobilização da enzima permitiu a sua reutilização (Pelczar *et al.*, 1996). A Figura 4.22 mostra os resultados observados no teste com as tiras de detecção de glicose efectuado no leite normal e no submetido à acção da enzima lactase imobilizada em pérolas de alginato de cálcio.

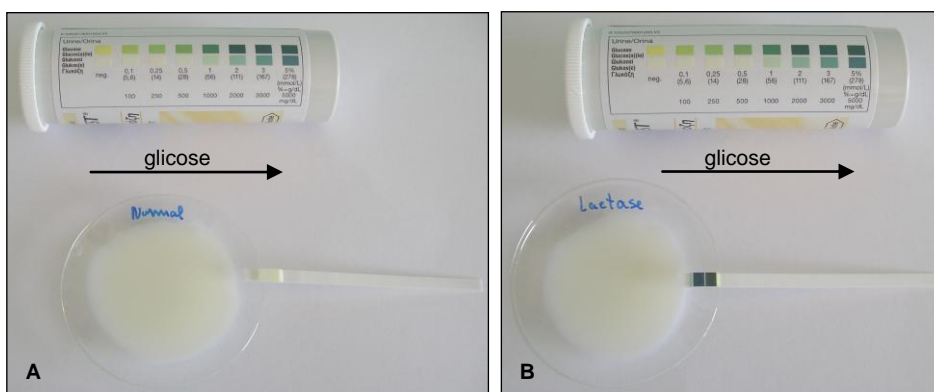


Figura 4.22 – Resultados do teste com tiras de detecção de glicose. **(A)** O leite normal originou o resultado negativo – a tira de teste permaneceu branca; **(B)** O leite submetido à lactase deu origem ao resultado positivo – formação da cor verde escuro na tira de teste, indicadora da presença de glicose proveniente da hidrólise da lactose.

4.2.3.3. ESTUDO QUANTITATIVO DA ACTIVIDADE ENZIMÁTICA DA CATALASE

Nesta actividade experimental isolou-se a catalase proveniente do tubérculo da batateira, sendo a velocidade da reacção quantificada através do estudo de diferentes factores: concentração de enzima, concentração de substrato, variação da temperatura e do pH.

Os resultados obtidos apresentam-se na Figura 4.23. Os gráficos mostram que: a velocidade da reacção é directamente proporcional à concentração de enzima (gráfico A); a velocidade da reacção é proporcional à concentração de substrato até se atingir um valor máximo, a partir do qual se mantém constante (gráfico B); a temperatura óptima para a actuação desta enzima corresponde, aproximadamente, a 21°C (gráfico C); o pH óptimo corresponde a sete (gráfico D).

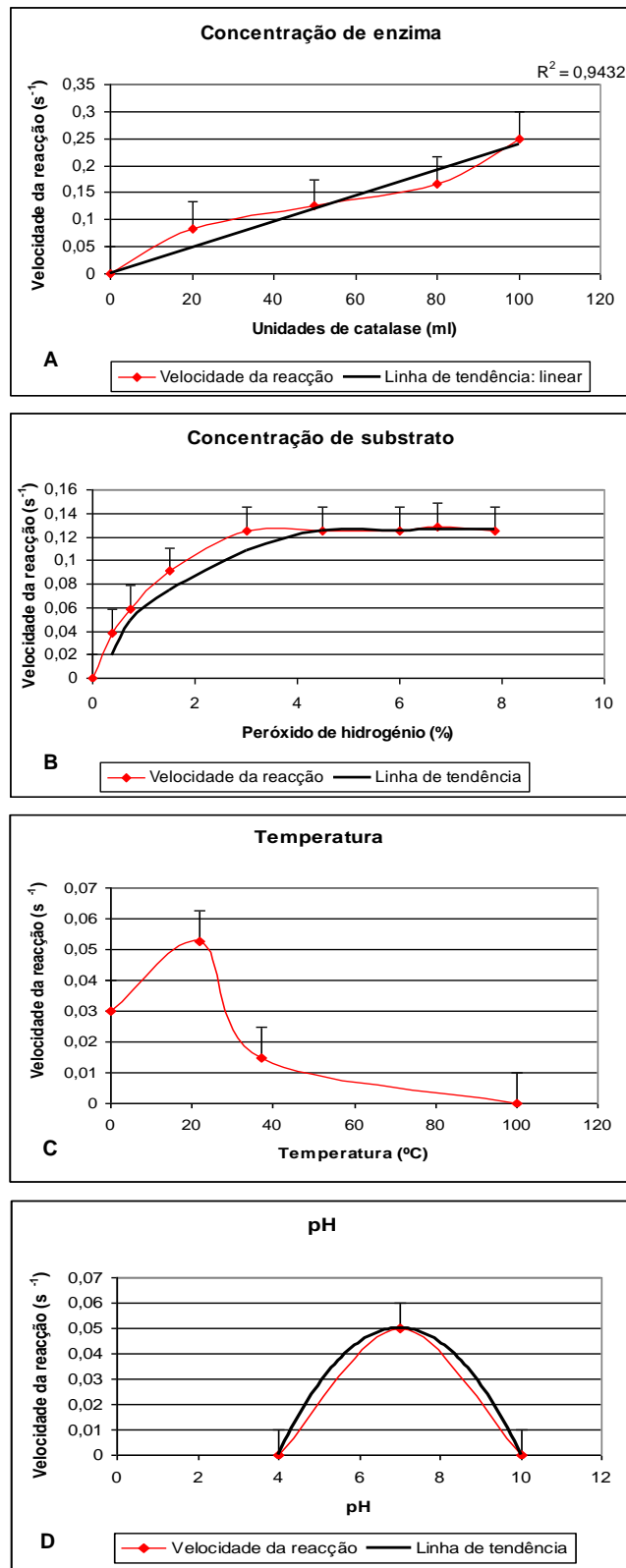


Figura 4.23 – Quantificação da actividade enzimática da catalase em função da concentração de enzima (A), concentração de substrato (B), variação da temperatura (C) e do pH (D). As barras verticais correspondem ao erro-padrão.

Relativamente ao gráfico A, havendo elevada disponibilidade de substrato, a velocidade da reacção é directamente proporcional à concentração de enzima. No gráfico B, a velocidade máxima atinge-se quando todas as enzimas estiverem envolvidas na catálise enzimática, ou seja, quando todos os centros activos das enzimas estiverem saturados por moléculas de substrato. No gráfico C, verifica-se que a velocidade da reacção aumenta com a temperatura, até um valor óptimo, cerca de 21°C para a calatase do tubérculo da batateira. A partir deste valor verifica-se a diminuição da velocidade da reacção, até se anular. O aumento de temperatura, para além do valor óptimo, afecta a estrutura da enzima (desnaturação) e, conseqüentemente, a estabilidade do complexo enzima-substrato. O pH (gráfico D) também influencia a actividade enzimática, uma vez que pode alterar a estrutura das enzimas, desnaturando-as. Há enzimas cuja actividade é óptima em meio ácido, outras em meio neutro, como é a catalase, e outras em meio básico.

Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura referida no Capítulo 2 (Faia & Castro, 1998; Macedo *et al.*, 2003; Marques, 2004) sobre os factores que afectam a actividade enzimática (ver secção 2.2.4.2. Produtos de microbiologia industrial, B) Enzimas microbianas e indústria alimentar, p.66).

4.2.3.4. LEVEDURAS EM PROCESSOS DE FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

Os procedimentos para o estudo do rendimento fermentativo de leveduras em processos de fermentação alcoólica realizaram-se em função de dois factores: tipo de substrato e variação da temperatura.

A Figura 4.24 representa o rendimento fermentativo obtido a partir de diferentes substratos (glicose, sacarose e amido), destacando-se maior rendimento quando se utilizou a sacarose. A utilização de sacarose como substrato para a fermentação alcoólica, requer a sua hidrólise por acção de enzimas produzidas pelas leveduras (*e.g.* invertase), resultando em açúcares directamente fermentáveis – glicose e frutose (SBRT, 2006). Como o processo de fermentação alcoólica se inicia pela glicólise, a frutose ao ser convertida em frutose-6-fosfato entra na via glicolítica (Marques, 2004) em etapas mais avançadas do processo fermentativo, comparativamente com o substrato inicial (glicose), explicando-se assim o maior volume de dióxido de carbono libertado em igual intervalo de tempo quando se utilizou a sacarose como substrato. Com o amido obtiveram-se resultados iguais ao controlo, o que se explica por as leveduras não terem enzimas

capazes de o hidrolisar em glicose, necessitando de um processo prévio de sacarificação para se converter em açúcares fermentáveis (Marques, 2004; SBRT, 2006).

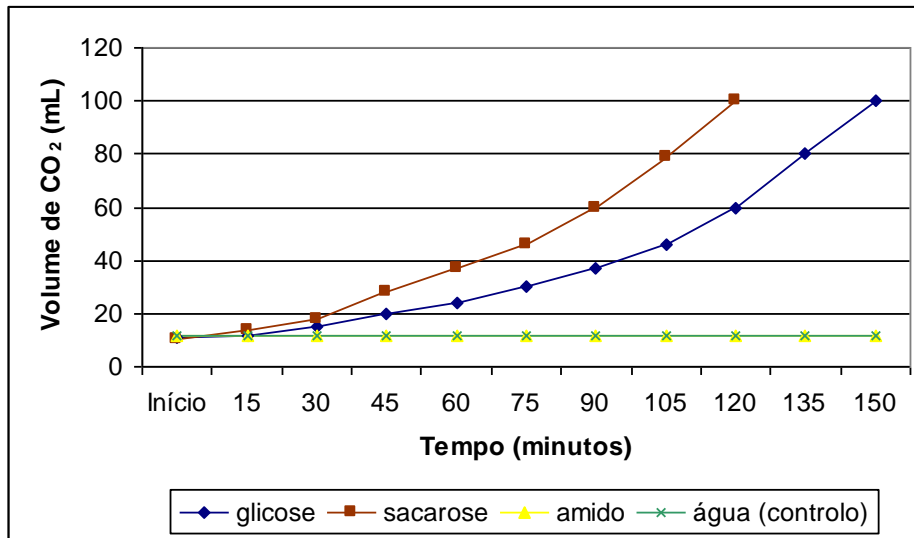


Figura 4.24 – Rendimento fermentativo de diferentes tipos de substrato à temperatura ambiente.

Na Figura 4.25 representa-se o rendimento fermentativo registado a diferentes temperaturas, utilizando a glicose como substrato. Verificam-se maiores rendimentos fermentativos a temperaturas mais elevadas, o que se comprova pelo aumento do volume de dióxido de carbono libertado em igual intervalo de tempo. Porém, para temperaturas iguais ou superiores a 40°C, o processo fermentativo, embora mais rápido, também cessa em menos tempo, o que pode ser explicado pela morte das leveduras.

A temperatura é um dos factores mais importantes para a sobrevivência e o crescimento dos microrganismos (Pampulha, 1998) e, em relação à levedura *Saccharomyces cerevisiae*, o intervalo de temperatura óptima de crescimento situa-se entre 30° a 36°C. Atendendo a que as enzimas, devido às elevadas temperaturas, sofrem desnaturação (Faia & Castro, 1998; Macedo *et al.*, 2003; Marques, 2004), seria de prever que, a partir do limite máximo de temperatura óptima, o rendimento fermentativo diminuísse devido à perda da actividade catalítica das leveduras e, conseqüentemente, à morte celular.

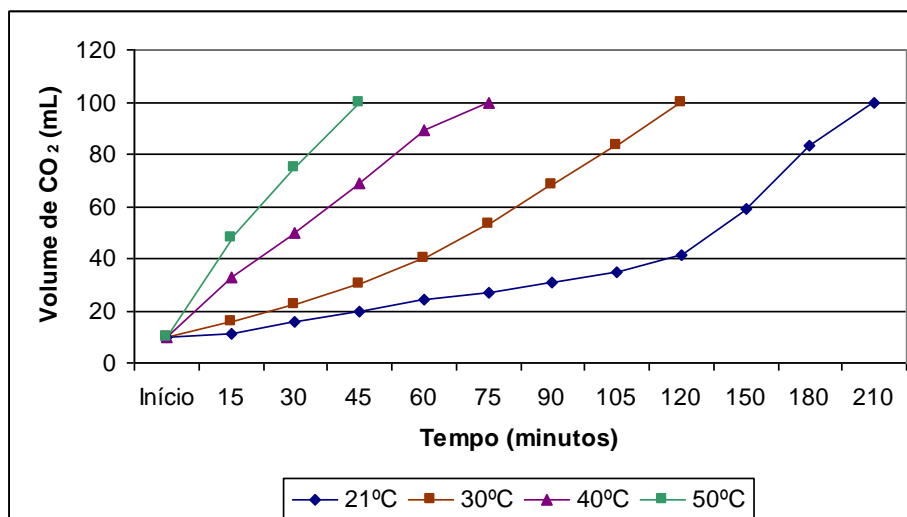


Figura 4.25 – Rendimento fermentativo a diferentes temperaturas utilizando a glicose como substrato.

4.3. APRESENTAÇÃO DE DADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS DA ACÇÃO DE FORMAÇÃO

4.3.1. PONTOS DE VISTA DOS PROFESSORES-FORMANDOS ANTES DA OFICINA DE FORMAÇÃO – RESPOSTAS AO QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO¹⁷

4.3.1.1. PARTE I DO QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO

Na Tabela 4.11 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 1** (motivações profissionais e/ou pessoais para a inscrição na OF).

Entre as motivações referidas pelos professores-formandos destaca-se, com seis respostas, a actualização e/ou aprofundamento de conhecimentos em biologia/biotecnologia. Refere-se, por exemplo, a resposta do PF1: “*todas as dúvidas pessoais (e colocadas pelos alunos diariamente) decorrentes, muitas vezes, do confronto com a realidade que nos rodeia faz com que procure uma constante actualização dos meus conhecimentos em diversas áreas e especialmente na minha área de formação inicial*”. A necessidade de formação em biotecnologia vem de encontro ao actual currículo de Biologia do 12º ano, que integra o estudo de aspectos biotecnológicos em todas as unidades programáticas (Mendes & Rebelo, 2004; Mendes *et al.*, 2004). Este aspecto

¹⁷ Responderam ao questionário de diagnóstico treze professores-formandos referenciados de PF1 a PF13.

constituiu a resposta de três professores-formandos, destacando-se a referida pelo PF13: “ao deparar-me com o novo programa de *Biologia – 12º Ano*, verifiquei que uma boa parte dos conteúdos dá uma grande relevância à *Biotecnologia e suas aplicações*”. O desenvolvimento de actividades práticas (laboratoriais e experimentais) em biotecnologia, aplicáveis em contextos escolares, foi igualmente referido por três professores-formandos, salientando-se a resposta do PF5: “(...) o facto de leccionar os novos programas do secundário, nomeadamente, o *12º Ano* e me deparar com muitas dificuldades em realizar com os alunos, actividades práticas em *Biotecnologia*”. Igualmente, três professores-formandos dizem desejar aprender técnicas laboratoriais em biotecnologia, como expressa o PF8: “(...) prende-se com o desejo de adquirir uma *bagagem adicional em termos de domínio de técnicas laboratoriais em biotecnologia*”.

Tabela 4.11 – Motivações profissionais e/ou pessoais para a inscrição na OF.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Actualizar e/ou aprofundar conhecimentos em biologia/biotecnologia	X	X	X	X						X			X
Motivar os alunos para as ciências experimentais		X											
Aperfeiçoar práticas pedagógicas no processo de ensino e aprendizagem						X						X	
Desenvolver actividades práticas (laboratoriais e experimentais) em biotecnologia aplicáveis em contextos escolares				X	X				X				
Desenvolver competências para realizar actividades laboratoriais e experimentais com alunos							X						
Aprender técnicas laboratoriais em biotecnologia								X		X		X	
Interesse pessoal pelo ensino experimental das ciências											X		
A integração da biotecnologia nos actuais currículos				X							X		X

Na Tabela 4.12 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 2** (expectativas relativamente à OF).

Os professores-formandos reforçaram a necessidade de actualização e/ou aprofundamento de conhecimentos em biotecnologia, no âmbito das motivações para se inscreverem nesta OF. Esta categoria reuniu consenso em seis respostas, refere-se, por exemplo, a do PF11: “(...) sendo a *Biotecnologia* uma área em que o conhecimento está em constante mudança, penso ser esta acção uma oportunidade de actualização”. O desenvolvimento de competências para a realização de actividades práticas (laboratoriais e experimentais) de natureza investigativa, foi referido por seis professores-formandos, o que poderá indicar o seu interesse para inovarem práticas pedagógicas que incluam

trabalho prático. Por exemplo, os professores PF2, PF3 e PF5 afirmaram, respectivamente: “(...) *investigar por tentativas e sem protocolo será o maior desafio*”; “*com esta oficina espero desenvolver, pela primeira vez, um trabalho de investigação, uma vez que, na faculdade, os trabalhos desenvolvidos, pouco carácter investigativo tinham*” e “*adquirir competências que me permitam realizar actividades investigativas e experimentais com os alunos*”.

Tabela 4.12 – Expectativas relativamente à OF.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Aprender técnicas laboratoriais	X	X		X				X					
Desenvolver competências para a realização de actividades práticas (laboratoriais e experimentais) de natureza investigativa		X	X		X	X					X	X	
Actualizar e/ou aprofundar conhecimentos em biotecnologia				X			X	X	X	X	X	X	
Desenvolver trabalho prático (laboratorial e experimental) em biotecnologia transponível para contextos escolares									X				X

A Figura 4.26 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 3** (grau de conhecimento dos professores-formandos sobre inter-relações CTS e perspectivas investigativas de trabalho prático).

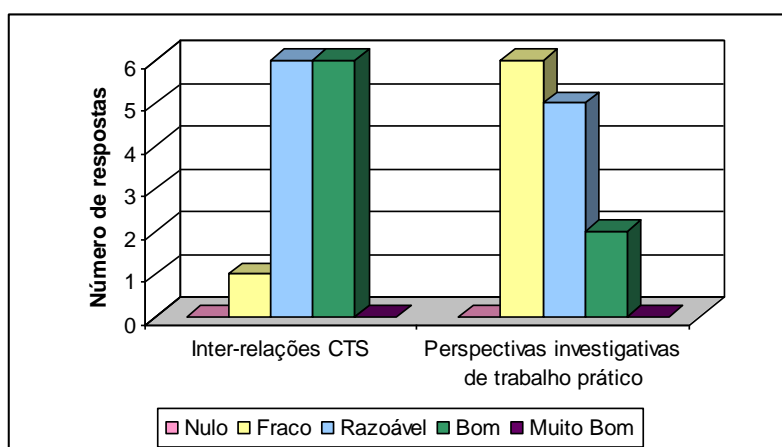


Figura 4.26 – Grau de conhecimento sobre inter-relações CTS e perspectivas investigativas de trabalho prático.

Os professores-formandos avaliaram ter mais conhecimentos sobre inter-relações CTS do que relativamente a perspectivas investigativas de trabalho prático. Seis professores-formandos avaliaram o seu grau de conhecimento sobre inter-relações CTS

como *razoável e bom*, enquanto sobre perspectivas investigativas de trabalho prático, as respostas situaram-se entre *fraco e razoável*, respectivamente, de acordo com a opinião de seis e cinco inquiridos.

A avaliação efectuada sobre perspectivas investigativas de trabalho prático, enquadra-se nas respostas referidas pelos professores-formandos sobre as suas expectativas relativamente à OF, pois considerando-se pouco conhecedores desta modalidade de trabalho prático, esperam desenvolver as competências necessárias para a sua realização.

4.3.1.2. PARTE II DO QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO

Na Tabela 4.13 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 1.1** (concepções de trabalho prático).

Tabela 4.13 – Concepções de trabalho prático.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Aplicação de conhecimento teórico	X	X	X	X				X	X	X	X		X
Actividade realizada por alunos		X				X	X		X				
Concretizado através de trabalho laboratorial, experimental e/ou de campo			X			X	X		X				
Pode ter carácter investigativo			X								X		
Pode envolver a resolução de problemas					X	X			X				
Pode ser um trabalho de papel e lápis ou que requeira a utilização do computador			X						X			X	X
Pode ser desenvolvido em sala de aula, em casa, no laboratório ou em saídas de campo		X					X	X					
Trabalho que exige envolvimento activo dos alunos					X							X	
Trabalho que envolve a manipulação de material de laboratório						X			X				

A análise das respostas permitiu verificar que nove professores-formandos (a maioria) consideraram trabalho prático como uma actividade de aplicação de conhecimentos teóricos. Referiram, por exemplo: “*trabalho que consiste na aplicação de conhecimentos teóricos adquiridos nas aulas*” (PF4); “*considero o trabalho prático todo aquele que envolve a aplicação dos conhecimentos teóricos em situações de desenvolvimento de competências*” (PF8) e “*trabalho prático pode ser apenas uma aplicação da teoria que se aprendeu*” (PF13).

Os professores-formandos não restringiram trabalho prático a trabalho laboratorial, experimental e/ou de campo (referido por quatro PF), incluindo nesta designação, actividades de papel e lápis ou que requeiram a utilização do computador (referido por quatro PF). A este respeito, os PF3 e PF9 referiram, respectivamente: *“pode ser um trabalho de lápis e papel, um trabalho laboratorial demonstrativo, um trabalho de campo, um trabalho em que se utilize o computador (...) ou até um trabalho laboratorial de carácter experimental”* e *“um trabalho prático poderá envolver papel e lápis ou material de laboratório, quando se recorre a uma actividade laboratorial/experimental”*. Estas ideias enquadram-se nas de Leite (2000; 2001) e Dourado (2001a; 2001b), referidas no Capítulo 2 (ver secção 2.3.1. Clarificação de termos relacionados com trabalho prático, p.73). O carácter abrangente de trabalho prático foi referido por três professores-formandos ao considerarem que pode ser realizado em sala de aula, em casa, no laboratório ou em saídas de campo: *“(...) este trabalho pode ser feito no contexto de sala de aula, em casa, no laboratório ou em saídas de campo, por exemplo”* (PF8).

Quatro professores-formandos consideraram que trabalho prático corresponde a actividades desenvolvidas por alunos, enquanto dois professores-formandos sugeriram o envolvimento activo dos alunos, aspecto muito importante referido por Hodson (1993; 1994) e Leite (2000; 2001). Afirmaram, por exemplo: *“trabalho que envolve uma postura mais activa do aluno na resolução de um problema”* (PF5) e *“actividade que pressupõe uma realização activa por parte dos alunos”* (PF12).

Na Tabela 4.14 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 1.2** (concepções de trabalho laboratorial).

A maioria dos professores-formandos caracterizou trabalho laboratorial relativamente a critérios mencionados no Capítulo 2 (Dourado, 2001a; 2001b; Leite, 2000; 2001), referentes ao local onde se desenvolve e à manipulação de instrumentos e materiais de laboratório. Relativamente ao local, referido por oito professores-formandos, salientam-se as respostas: *“considero trabalho laboratorial todo aquele que é feito dentro do laboratório”* (PF8) e *“componente do trabalho prático que se desenvolve em laboratório”* (PF11). Quanto à manipulação de instrumentos e materiais de laboratório, referidos em dez respostas, transcrevem-se, por exemplo: *“considero trabalho laboratorial como um conjunto de actividades que envolvem manipulação de instrumentos e materiais de laboratório”* (PF1) e *“o trabalho laboratorial envolve o manuseamento de material de laboratório”* (PF9).

Tabela 4.14 – Concepções de trabalho laboratorial.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Envolve a manipulação de instrumentos e materiais de laboratório	X	X		X	X		X	X	X		X	X	X
Realizado no laboratório		X	X		X		X	X		X	X	X	
Envolve o seguimento de protocolos			X						X			X	
Relaciona-se com pressupostos teóricos				X								X	
O mesmo que trabalho prático						X							
Conhecem-se previamente os resultados			X				X					X	
Requer a aplicação de técnicas específicas							X				X		
Não envolve variáveis									X				
Permite testar hipóteses										X			
Obedece ao cumprimento de regras para manipular instrumentos e relativas a questões de segurança		X									X		X
Serve de base ao trabalho experimental													X

Além destes aspectos, três professores-formandos consideraram que trabalho laboratorial envolve o seguimento de protocolos, como exemplificam as respostas: “o procedimento já está elaborado e basta seguir todos os passos, como se tratasse de uma receita de culinária” (PF3) e “(...) obedecendo a um protocolo predefinido, onde constam os procedimentos a adoptar, tendo como objectivos a obtenção de determinados resultados” (PF12). Esta última resposta salienta, ainda, um aspecto igualmente referido por três professores-formandos sobre o conhecimento prévio dos resultados das actividades laboratoriais, que se ilustra: “usa-se este tipo de trabalho quando se sabe os resultados que vamos obter” (PF7).

Um professor-formando considerou trabalho laboratorial como sinónimo de trabalho prático, enquanto apenas outro o relacionou com um dos aspectos que o diferencia de trabalho experimental, ao considerar a ausência de variáveis. A afirmação: “(...) por forma a que o aluno siga o procedimento sem que existam variáveis” (PF9), ilustra esta concepção de trabalho laboratorial.

Na Tabela 4.15 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 1.3** (concepções de trabalho experimental).

Tabela 4.15 – Concepções de trabalho experimental.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Realizado no laboratório ou campo	X				X			X					
Permite testar hipóteses	X									X	X	X	X
Envolve o seguimento de protocolos		X											
Tem carácter investigativo		X	X				X				X	X	
Envolve a resolução de problemas			X				X			X		X	X
Envolve variáveis em estudo			X					X	X				
Relacionado com a experimentação				X							X		X
O mesmo que trabalho laboratorial						X							
Concretizado através do trabalho laboratorial							X			X			
Concretizado através do trabalho de campo										X			
Não se conhecem os resultados ou as conclusões finais		X					X						
Requer aplicação de metodologias científicas								X					
Requer pesquisa bibliográfica										X			
Pode ser laboratorial ou não													X

Cinco professores-formandos relacionaram trabalho experimental com o desenvolvimento de investigações, e igual número de inquiridos referiu que permite testar hipóteses e que envolve a resolução de problemas. Referiram, por exemplo: “*um trabalho experimental é um trabalho de carácter investigativo. Como tal, perante uma questão problema, vamos desenvolver todo um procedimento em busca de resultados*” (PF3); “*trabalho em que é testada uma hipótese, para tentar resolver um problema*” (PF10); “*inicia-se com um problema para o qual se tenta encontra resposta/solução, começando por pesquisar sobre o tema de modo a decompor o problema em diferentes questões (hipóteses) que deverão ser testadas através da construção de procedimentos experimentais, que serão postos em prática. Após obtenção dos resultados e sua interpretação, chegaremos a 2 situações possíveis: encontramos a solução; surge um novo problema e há que reformular o procedimento*” (PF12). Esta última resposta destaca a construção de procedimentos no desenvolvimento de investigações e a eventual necessidade de se reformularem, caso não se encontre resposta para o problema – aspectos concordantes com a literatura sobre trabalho prático numa perspectiva investigativa apresentada no Capítulo 2 (ver secção 2.3.7.2. Investigações e trabalho prático orientado por problemas, p.106).

Além das características supracitadas, três professores-formandos mencionaram o controlo e manipulação de variáveis, um aspecto importante na caracterização de trabalho experimental (Leite, 2001), referido no Capítulo 2. Referiram, por exemplo: “*num trabalho experimental, por exemplo, algum parâmetro/factor ou variável, deve estar em estudo*” (PF3); “*trabalho experimental é todo o trabalho (...) em que se recorre a uma metodologia científica, na qual é efectuada a manipulação de variáveis*” (PF8) e “*trabalho experimental envolve variáveis em estudo*” (PF9).

Três professores-formandos assinalaram que trabalho experimental pode ser realizado no laboratório ou campo, como exemplificam as respostas: “*trabalho (...) que se pode realizar dentro ou fora do laboratório; o trabalho experimental pode ser realizado numa saída de campo, por exemplo*” (PF5) e “*trabalho experimental é todo o trabalho realizado dentro e fora do laboratório (por exemplo numa saída de campo)*” (PF8). Outros dois professores-formandos referiram que trabalho experimental pode ser concretizado através do trabalho laboratorial e um outro mencionou o trabalho de campo como forma de o implementar. Um professor-formando considerou trabalho experimental como sinónimo de trabalho laboratorial.

Na Tabela 4.16 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 1.4** (relações entre trabalho prático, trabalho laboratorial e trabalho experimental).

Tabela 4.16 – Relações entre trabalho prático, trabalho laboratorial e trabalho experimental.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Trabalho prático é o conceito mais geral		X	X	X				X	X				
Trabalho prático inclui trabalho laboratorial		X	X	X				X	X		X		
Trabalho prático inclui trabalho experimental		X	X	X				X	X				
Trabalho prático inclui trabalho de campo								X					
Trabalho prático pode corresponder a um trabalho de papel e lápis ou jogo didáctico			X										
Trabalho laboratorial pode ser ou não experimental								X	X				
Trabalho experimental é o conceito mais geral	X				X						X	X	X
Trabalho experimental inclui trabalho prático					X						X	X	X
Trabalho experimental inclui trabalho laboratorial	X				X				X			X	X
Trabalho experimental pode ser realizado fora do contexto laboratorial								X					
Envolvem conhecimentos teóricos	X			X			X						
Relação de complementaridade										X			
O que escrevem não responde à pergunta						X	X						

As concepções evidenciadas pelos professores-formandos nas suas respostas revelaram alguma confusão e apresentaram-se contraditórias entre si, pois as relações estabelecidas por uns contradizem as referidas por outros, como verificado por Pedrosa & Dourado (2000). Por exemplo, para cinco professores-formandos trabalho prático é o termo mais geral e abrangente, enquanto para outros cinco, tal se aplica a trabalho experimental. Assim, enquanto para uns professores-formandos trabalho prático inclui trabalho laboratorial (seis PF), experimental (cinco PF) e de campo (um PF), para outros, trabalho experimental inclui trabalho prático (quatro PF) e trabalho laboratorial (cinco PF). Dos cinco professores-formandos que consideraram que trabalho prático inclui trabalho laboratorial e experimental, três referiram: “*talvez o trabalho prático seja mais geral e se divida em trabalho laboratorial e trabalho experimental*” (PF2); “*trabalho prático engloba o trabalho laboratorial, experimental e de campo*” (PF8); “*trabalho prático poderá ser laboratorial e experimental*” (PF9). Dos três professores-formandos que consideraram que trabalho experimental inclui trabalho prático e trabalho laboratorial, dois referiram: “*o trabalho experimental é o mais abrangente/globalizante, ou seja, requer a maior parte das vezes trabalho laboratorial; o trabalho experimental implica sempre a realização de trabalho prático, uma vez que exige a intervenção activa do aluno*” (PF5); “*o trabalho prático e o trabalho laboratorial são duas componentes que integram o trabalho experimental*” (PF12). Os dois professores-formandos (PF8 e PF9) que referiram na resposta à questão anterior, o envolvimento de variáveis em estudo em trabalho experimental, afirmaram que o trabalho laboratorial pode ser ou não experimental. Mencionaram: “*o trabalho experimental é laboratorial, mas o trabalho laboratorial não é obrigatoriamente experimental*” (PF9); “*o trabalho laboratorial é sempre prático e pode ou não ser experimental. O trabalho experimental também é sempre prático (...) e pode ser realizado fora do contexto laboratorial*” (PF8). Esta última resposta destaca a possibilidade do trabalho experimental ser realizado numa saída de campo, aspecto referido por este professor-formando na resposta à questão anterior.

Além da aparente confusão nas relações estabelecidas entre trabalho prático, trabalho laboratorial e trabalho experimental, registaram-se também respostas incluídas na categoria “*o que escrevem não responde à pergunta*” ou respostas genéricas (e.g. “*relação de complementaridade*”), aspectos reveladores da necessidade de clarificação de significados atribuídos a estes termos.

A Figura 4.27 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 2** (importância da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino

básico e no ensino secundário). Os professores-formandos consideraram mais importante a realização de trabalho experimental e laboratorial no ensino secundário do que no 3º ciclo do ensino básico. Para o ensino secundário as respostas situaram-se em *média* e *muita* importância, segundo dois e onze (maioria) professores-formandos, respectivamente; enquanto para o 3º ciclo se situaram em *pouca*, *média* e *muita* importância, segundo três, quatro e seis inquiridos, respectivamente.

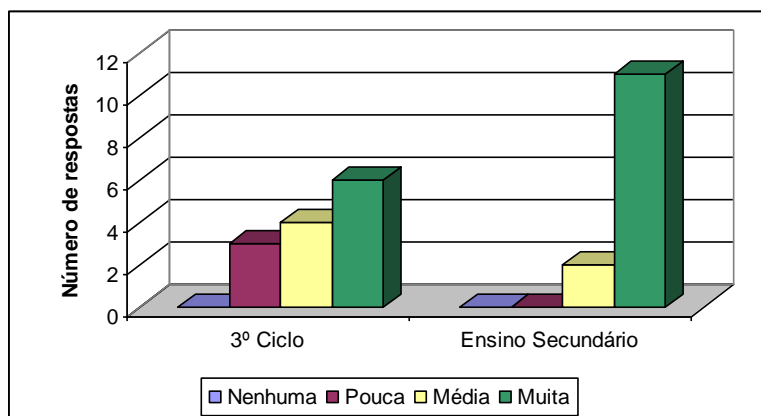


Figura 4.27 – Importância da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

Além de assinalarem a importância da realização de trabalho experimental e laboratorial, os professores-formandos justificaram as suas respostas (**questão 2.1 – Parte II**). A Tabela 4.17 mostra as categorias elaboradas de acordo com as justificações apresentadas nas respostas. As respostas dos professores-formandos dirigiram-se, sobretudo ao 3º ciclo do ensino básico, e foram menos favoráveis à realização de trabalho experimental e laboratorial neste ciclo de ensino, com mais aspectos negativos que positivos, comparativamente com o ensino secundário, para o qual apenas referiram aspectos positivos.

Para o 3º ciclo do ensino básico, segundo sete professores-formandos, a justificação dos aspectos positivos está relacionada com a motivação dos alunos para aprender ciências. Referiram, por exemplo: “*motivação para as aprendizagens*” (PF5); “[a actividade laboratorial] *deve ser feita para aguçar o gosto pelas ciências (...) os alunos deste ciclo são bastante receptivos às actividades laboratoriais*” (PF7) e “*o facto dos alunos tomarem contacto com materiais/técnicas/resultados, permite confrontá-los com determinadas situações o que promove o seu interesse pelos conteúdos programáticos e poderá ser facilitador do sucesso no ensino/aprendizagem*” (PF9). No que se refere aos aspectos negativos, seis professores-formandos salientaram a reduzida carga horária semanal e a falta de maturidade dos alunos para realizarem actividades experimentais e

laboratoriais. Afirmaram, por exemplo: “face à distribuição das horas da componente lectiva para o 3º ciclo: 45 minutos a turma toda junta (29 alunos) e 45 minutos em turnos (15 alunos/14 alunos), é-me impossível realizar uma aula prática, pois o tempo dispendido não é suficiente (...) resume-se muitas vezes a 30 minutos de aula” (PF2); “considero que no 3º ciclo é de difícil implementação já que as turmas são muito grandes, as aulas muito pequenas (45 minutos) e a maturidade dos alunos pode não ser suficiente para que estas actividades tenham grande relevância no desenvolvimento dos seus conhecimentos” (PF4); “a diferente importância que atribuí ao 3º ciclo deve-se a achar que os alunos não adquiriram, ainda, maturidade suficiente para beneficiar em pleno do trabalho prático” (PF8) e “no 3º ciclo, o trabalho prático é importante mas, por vezes, não se consegue rentabilizar essa actividade no sentido de melhorar a aprendizagem dos alunos, devido a factores como: imaturidade dos alunos, falta de tempo nas aulas, reduzida carga lectiva semanal” (PF12).

Tabela 4.17 – Justificações da importância de realizar trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

Categorias de respostas		Professores-formandos													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
3º Ciclo do ensino básico	+	Promove o desenvolvimento cognitivo dos alunos e a construção de conhecimentos					X	X					X		
		Motiva os alunos para aprender ciências	X				X	X	X		X	X	X		
	-	Reduzida capacidade de abstracção dos alunos nesta faixa etária	X										X		
		Reduzida carga horária semanal para a realização de trabalho experimental e laboratorial		X		X		X	X			X		X	
		Turmas demasiado grandes		X		X			X						
		Falta de maturidade dos alunos				X		X		X		X		X	X
Ensino secundário		Promove o desenvolvimento cognitivo dos alunos e a construção de conhecimentos	X				X					X		X	
		Promove o desenvolvimento do trabalho em grupo							X						
		Motiva os alunos para aprender ciências		X						X					
		Útil para a consolidação e/ou como reforço da aprendizagem de conhecimento conceptual		X	X	X				X				X	
	+	Promove o espírito crítico, a curiosidade científica e o espírito investigativo					X								
		Os alunos são mais responsáveis no desenvolvimento das actividades propostas										X			
		A carga horária semanal é adequada à realização de trabalho experimental e laboratorial										X		X	

(+) aspectos positivos; (-) aspectos negativos

No que se refere ao ensino secundário, as respostas incidiram fundamentalmente sobre algumas razões para a realização de trabalho experimental e laboratorial, designadamente o seu papel na promoção do desenvolvimento cognitivo dos alunos e na construção de conhecimentos (referido por quatro PF), além da sua utilidade na consolidação e/ou reforço da aprendizagem de conhecimento conceptual (referido por cinco PF). Referem-se as seguintes respostas para as justificações apresentadas: “no ensino secundário torna-se uma ferramenta mais apetecível (...) que deve ser encarada como mais uma estratégia para ensinar os alunos a pensar e a descodificar a realidade que os cerca e em que vivem” (PF1); “[permite o] desenvolvimento/aquisição de competências cognitivas” (PF5); “(...) através deste trabalho [experimental e laboratorial] os alunos conseguem assimilar melhor os conceitos teóricos leccionados nas aulas de índole expositiva” (PF8) e “o trabalho prático permite a contextualização e até mesmo a descoberta de novos conhecimentos, tornando mais fácil a sua compreensão e aplicação” (PF12).

A Figura 4.28 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 3** (frequência da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário¹⁸). Os professores-formandos afirmaram realizar com maior frequência trabalho experimental e laboratorial no ensino secundário, comparativamente com o 3º ciclo do ensino básico. Enquanto no ensino secundário, predominam *três aulas por período* (referidas por seis PF), no 3º ciclo predominam *duas aulas por período* (referidas por seis PF). A realização de *uma aula por período* foi referida por dois professores-formandos para o 3º ciclo, enquanto a frequência designada nesta questão por *outra*, apenas foi referida para o ensino secundário por dois professores-formandos, que mencionaram implementar mais de três aulas por período.

Este resultado está em consonância com o de Valente (1999), em que a maioria dos professores de ciências referiu realizar actividades prático-laboratoriais algumas vezes por ano, quer no 2º e 3º ciclo do ensino básico, quer no ensino secundário. Especificamente para o 3º ciclo do ensino básico, a maioria dos professores inquiridos por Dourado (2001b), diz implementar trabalho laboratorial entre uma aula e seis por ano.

¹⁸ Relativamente ao 3º ciclo do ensino básico, os resultados apresentados nesta questão referem-se à opinião de dez professores-formandos, uma vez que três deles não leccionaram nos últimos cinco anos este nível de ensino.

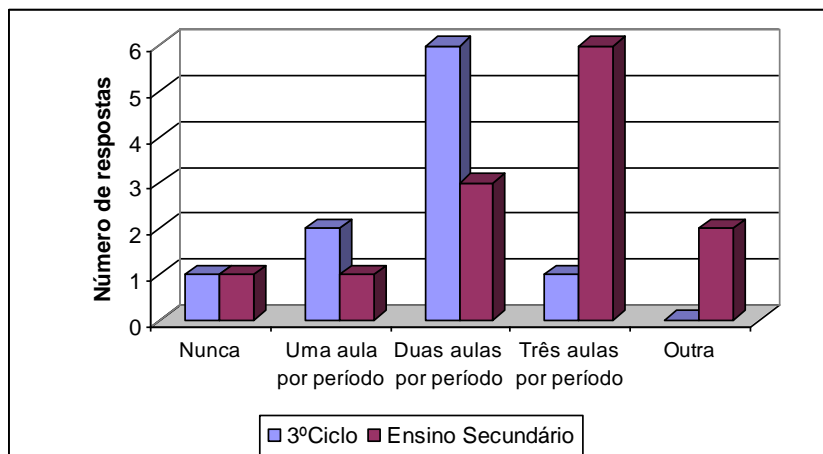


Figura 4.28 – Frequência da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

Além de assinalarem a frequência da realização de trabalho experimental e laboratorial, os professores-formandos justificaram as suas respostas (**questão 3.1 – Parte II**). A Tabela 4.18 mostra as categorias elaboradas de acordo com as justificações apresentadas nas respostas.

Entre as justificações dos professores-formandos destaca-se a relacionada com as características das turmas (designadamente número de alunos, existência de turnos, grau de interesse e comportamento), referida por nove professores-formandos, e a referente à extensão dos programas disciplinares, mencionada por seis professores-formandos. Apesar da realização pouco frequente de actividades prático-laboratoriais se justificar pela falta de salas e de equipamentos adequados (Valente, 1999), estes aspectos apenas foram referidos por três professores-formandos.

Quanto às características das turmas, as respostas dos professores-formandos incidiram sobretudo no 3º ciclo do ensino básico. Referiram, por exemplo: “no 3º ciclo a realização do trabalho de natureza experimental e laboratorial é por vezes condicionado pela postura/comportamento dos alunos” (PF5); “o número [de actividades experimentais e laboratoriais no 3º ciclo] depende da turma, do seu grau de interesse e das condições logísticas (se estamos ou não perto do laboratório)” (PF7); “os trabalhos práticos realizados variam em função do número de alunos por turma, bem como do facto de haver desdobramento nas turmas” (PF9) e “não recorro com mais frequência ao trabalho prático devido ao número de alunos por turma ser excessivo” (PF12).

Tabela 4.18 – Justificações da frequência de realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Carga horária atribuída às disciplinas de ciências do 3º ciclo do ensino básico e do ensino secundário	X	X											X
Disponibilidade dos laboratórios e de outros recursos existentes na escola	X	X					X						
Características das turmas: número de alunos, desdobramento em turnos, grau de interesse e comportamento	X	X	X		X		X		X	X		X	X
Depende do número de trabalhos experimentais e laboratoriais definidos pelo grupo disciplinar		X											
Programas disciplinares demasiado extensos			X	X	X			X				X	X
Quando os conteúdos programáticos justificam a realização de trabalho experimental e laboratorial						X			X		X		
Depende da receptividade dos alunos a aulas extra						X							

Relativamente à extensão dos programas disciplinares, salientam-se as seguintes respostas: “*na nova reforma, sem disciplinas técnicas, a componente prática tem de estar contida nas disciplinas teóricas (...) acho que os programas não estão adequados a essa realidade já que são demasiado extensos e os professores são demasiado pressionados para o seu cumprimento*” (PF4); “*apesar de achar que seria desejável uma maior frequência de trabalho prático laboratorial, a verdade é que por constrangimentos relacionados com o cumprimento dos conteúdos curriculares teóricos, este tipo de trabalho acaba por ser relegado para segundo plano*” (PF8) e “*em determinados anos lectivos verifica-se o problema da extensão dos programas curriculares*” (PF12).

A Figura 4.29 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 4** (grau de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial habitualmente realizado nas aulas). Verifica-se que igual percentagem de professores-formandos (46%) referiu estar *pouco satisfeito* e *satisfeito* com o trabalho realizado nas aulas, um (8%) mencionou estar *muito satisfeito* e nenhum se manifestou *insatisfeito*.

Tal como nas questões anteriores, os professores-formandos além de assinalarem o grau de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial que costumam realizar, justificaram as suas respostas (**questão 4.1 – Parte II**). A Tabela 4.19 mostra grande diversidade de categorias elaboradas de acordo com as justificações apresentadas nas respostas. Os professores-formandos, independentemente da opinião expressa na questão anterior, justificaram as suas respostas, centrando-se principalmente em factores

menos satisfatórios. Verificaram-se situações em que, apesar do professor-formando se manifestar *satisfeito* com o trabalho experimental e laboratorial que implementa, referiu aspectos negativos, como a falta de instalações e de equipamentos para a realização destas actividades. Também existiram situações opostas em que, o professor-formando afirmou-se *pouco satisfeito*, mas considerou que o desenvolvimento de trabalho prático é, em geral, do agrado dos alunos.

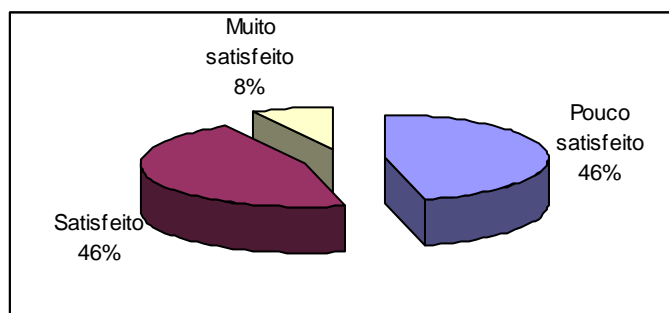


Figura 4.29 – Grau de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial habitualmente realizado nas aulas.

Três professores-formandos consideraram-se *pouco satisfeitos* ou apenas *satisfeitos* com o trabalho experimental e laboratorial, devido à reduzida frequência com que o realizam. Referiram, por exemplo: “*julgo que os alunos não chegam a adquirir as competências essenciais ao nível do trabalho experimental, em parte, devido ao facto de serem realizadas poucas actividades desta natureza*” (PF5); “*não posso estar satisfeito porque desejaria aplicar mais frequentemente o trabalho prático, sentindo, também que esse é o desejo da maior parte dos alunos*” (PF8) e “*a satisfação não é maior porque a componente prática é escassa e os alunos não adquirem técnicas de manuseamento*” (PF9). Salienta-se, que as respostas dos PF5 e PF9 também referem que os alunos não desenvolvem as competências que deveriam, devido ao reduzido número de aulas práticas realizadas. Dois professores-formandos justificaram o seu grau de satisfação com a falta de laboratórios/equipamentos/material laboratorial e tempo: “*só não estou muito satisfeito porque continuamos a sentir algumas dificuldades em termos de instalações e equipamentos para a realização de algumas actividades*” (PF11) e “*o trabalho laboratorial e experimental requer tempo e continuidade, o que se tornou mais difícil com a extinção das disciplinas técnicas, onde o trabalho desenvolvido era proveitoso*” (PF12).

Tabela 4.19 – Justificações do grau de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial habitualmente realizado nas aulas.

Categorias de respostas		Professores-formandos														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
Factores de menor satisfação	Dificuldades dos alunos na interpretação dos resultados e na elaboração de conclusões	X														
	Aulas que requerem experimentação prévia para conhecimento dos resultados		X													
	Falta de formação específica em biologia		X													
	Falta de tempo				X									X		
	Falta de laboratórios/equipamentos/material laboratorial				X								X			
	Reduzida frequência com que se recorre ao trabalho experimental e laboratorial					X			X	X						
	Os relatórios exigidos tornam o trabalho prático pouco motivador para os alunos						X									
	Falta de actividades de natureza investigativa												X			
Factores de maior satisfação	Aulas que motivam o professor			X												
	Aulas que estimulam e/ou motivam os alunos para aprender			X		X				X	X					
	A compreensão pelos alunos do trabalho prático realizado							X		X						
	As aprendizagens efectuadas não serem esquecidas											X				
	Os resultados observados estarem de acordo com o esperado															X

Quatro professores-formandos consideraram que o trabalho experimental e laboratorial motiva os alunos para aprender, o que os levou a avaliar com *satisfação/muita satisfação* o trabalho realizado. Referiram, por exemplo: “os trabalhos desenvolvidos indo ao encontro dos interesses dos alunos permitem motivá-los mais” (PF10) e “são momentos em que os alunos ficam mais cativados para o estudo da disciplina” (PF11). Estas justificações corroboram que a motivação/interesse/participação dos alunos constitui a principal razão para os professores se manifestarem *satisfeitos/muito satisfeitos* com o trabalho laboratorial que implementam (Dourado, 2001b). A motivação dos alunos corresponde a um dos objectivos de trabalho laboratorial (Dourado, 2006; Hodson, 1990; 1993; 1994; 2000; Leite, 2000; Wellington, 1998; 2000), referido no Capítulo 2 (ver secção 2.3.4. Objectivos de trabalho laboratorial, p.86).

Dois professores-formandos justificaram a *satisfação/muita satisfação* por os alunos serem capazes de compreender o trabalho prático realizado, por exemplo: “independentemente de serem obtidos resultados esperados ou diferentes dos esperados os alunos conseguem tirar conclusões do trabalho desenvolvido” (PF10). Um professor-

formando justificou o grau de satisfação por os resultados estarem de acordo com o esperado: “foram poucas as vezes em que desisti de realizar o trabalho por não resultar como era pretendido” (PF13). Esta resposta evidencia a preocupação com a resposta certa inerente a actividades fechadas e muito estruturadas.

A Figura 4.30 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 5** (grau de concordância/discordância com aspectos relacionados com trabalho experimental e laboratorial).

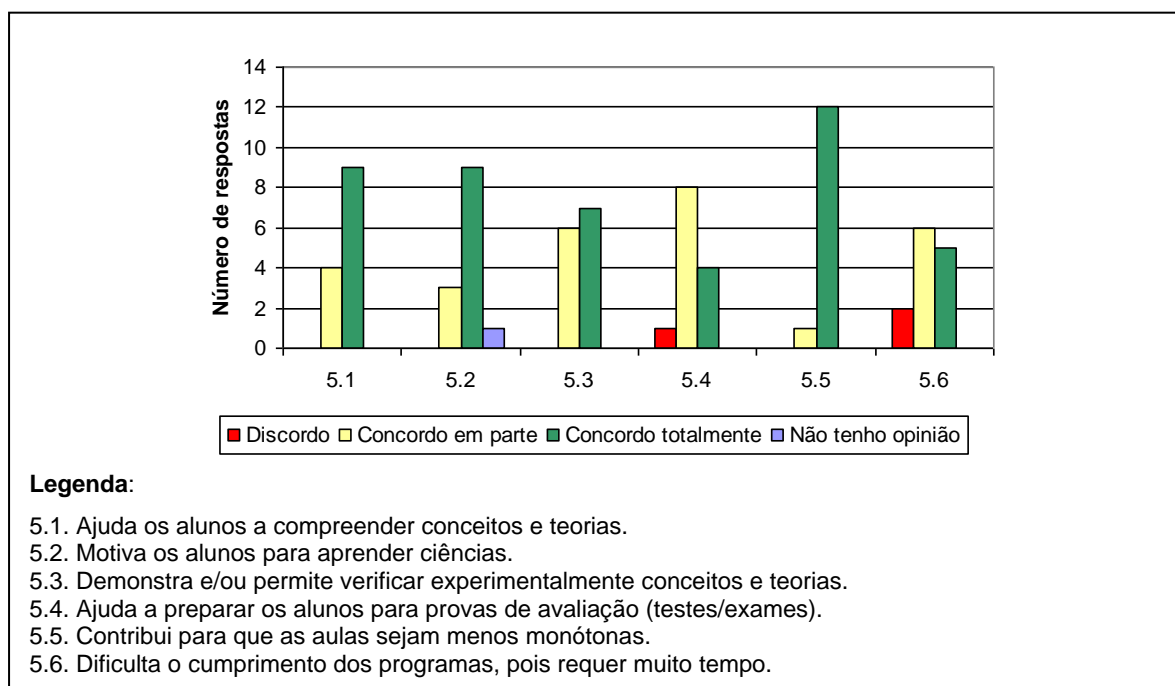


Figura 4.30 – Grau de concordância/discordância com aspectos relacionados com trabalho experimental e laboratorial.

A maioria dos professores-formandos (nove) *concordou totalmente* que o trabalho experimental e laboratorial “*ajuda os alunos a compreender conceitos e teorias*” e “*motiva os alunos para aprender ciências*” e, por outro lado, “*contribui para que as aulas sejam menos monótonas*”, sendo este último aspecto mencionado por quase todos os inquiridos (doze PF). Apesar da maioria dos professores-formandos *concordar totalmente* (sete) com o aspecto “*demonstra e/ou permite verificar experimentalmente conceitos e teorias*”, verificaram-se frequências mais próximas de opiniões diferentes, pois o parâmetro *concordo parcialmente* correspondeu à resposta de seis inquiridos. Esta divisão nas respostas dos professores-formandos poderá relacionar-se com conceitos e teorias que não podem demonstrar nos trabalhos práticos que realizam.

A maioria dos professores-formandos (oito) *concordou em parte* que o trabalho experimental e laboratorial “*ajuda a preparar os alunos para provas de avaliação (testes/exames)*”, por verificarem que nos exames as perguntas relacionadas com trabalho prático incidem fundamentalmente na interpretação e análise de resultados, e não com o desempenho baseado em destrezas manipulativas. O aspecto “*dificulta o cumprimento dos programas, pois requer muito tempo*” foi o que originou maior diversidade de respostas, pois apesar de seis professores-formandos *concordarem em parte*, cinco *concordaram totalmente* e dois *discordaram*. Este resultado está de acordo com as respostas relativas ao número de aulas de trabalho prático que realizam por período, considerando a extensão dos programas disciplinares como uma das principais razões referidas nas respostas à questão 3.1 – Parte II.

A Figura 4.31 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 6** (grau de grau de concordância/discordância relativamente a dificuldades sentidas aquando da implementação de trabalho experimental e laboratorial).

Em relação aos *aspectos materiais e humanos*, sete professores-formandos *concordaram totalmente* com a falta de “*equipamentos*” e de um “*técnico de apoio ao laboratório*”; sete *concordaram em parte*, com a falta de “*materiais consumíveis (reagentes e material de vidro)*” e oito com a falta de “*protocolos*”. A maioria dos professores-formandos *discordou* da falta de “*interesse dos alunos pela realização de trabalho prático*” (dez PF) e de “*motivação dos professores*” (oito PF). Recorde-se que as respostas de quatro professores-formandos à questão 4.1 – Parte II – motivos de satisfação com o trabalho experimental e laboratorial – referem que este tipo de aulas estimulam e/ou motivam os alunos para aprender.

No que diz respeito à *organização escolar e disciplinar*, a maioria dos professores-formandos *concordou totalmente* com o “*excessivo número de alunos por turno*” (sete PF), a “*existência de um único laboratório para vários docentes*” (oito PF) e de “*programas disciplinares demasiado extensos*” (nove PF). Mais uma vez estes resultados estão de acordo com as respostas dos professores-formandos para o número de aulas de trabalho prático que realizam por período, considerando como principais condicionantes as características das turmas e a extensão dos programas disciplinares (questão 3.1 – Parte II).

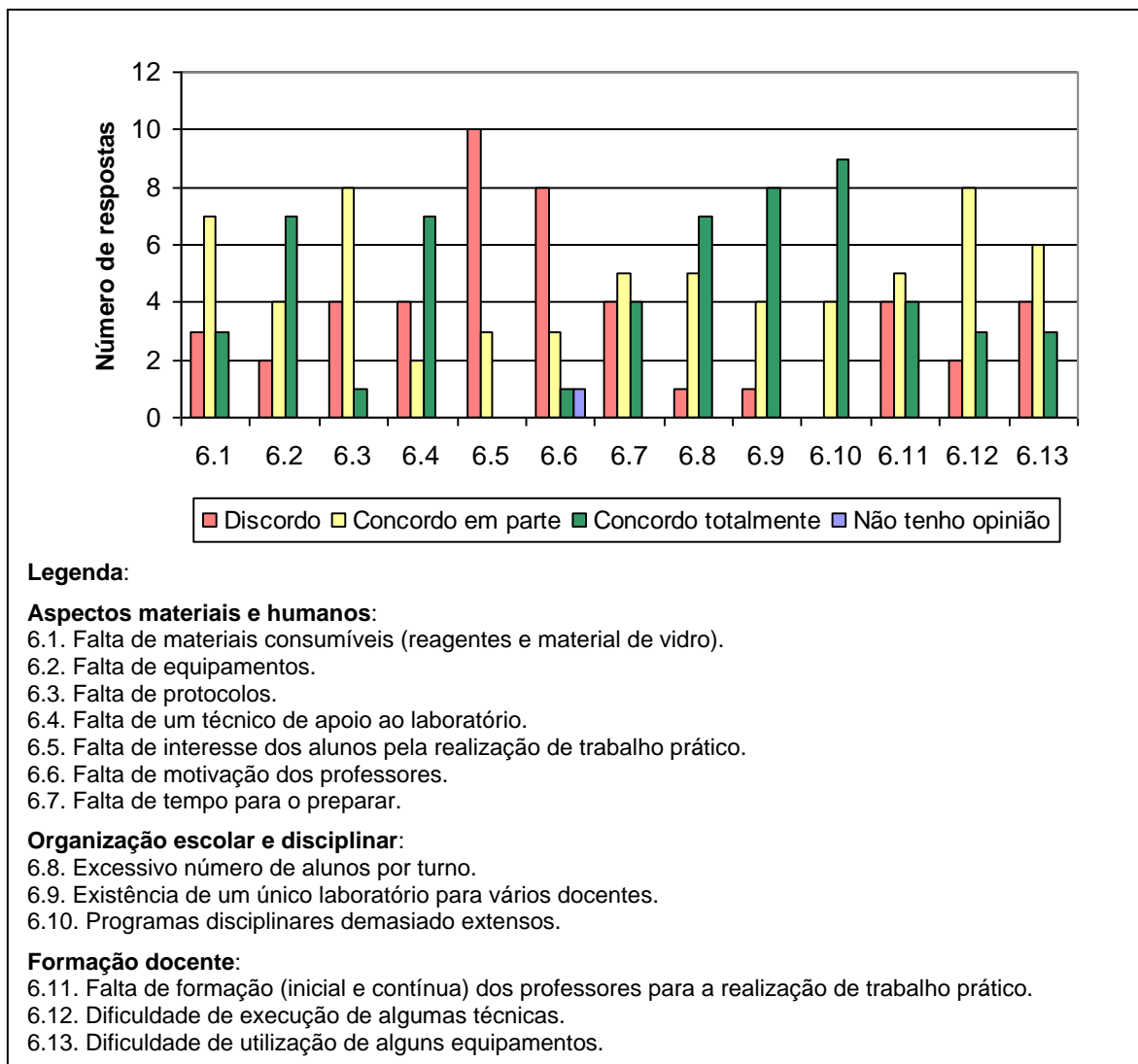


Figura 4.31 – Grau de concordância/discordância relativamente a dificuldades sentidas aquando da implementação de trabalho experimental e laboratorial.

Relativamente à *formação docente*, os professores-formandos *concordaram em parte* com as dificuldades de “*execução de algumas técnicas*” (oito PF) e de “*utilização de alguns equipamentos*” (seis PF). Em relação à “*falta de formação (inicial e contínua) dos professores para a realização de trabalho prático*”, verificaram-se frequências mais próximas de opiniões diferentes, pois enquanto quatro professores-formandos *discordaram* da falta de formação, cinco *concordaram parcialmente* e quatro *concordaram totalmente*. Salienta-se que, em relação à *formação docente*, este foi o aspecto que maior número de professores-formandos manifestou *concordar totalmente* (quatro PF).

As dificuldades referidas pelos professores-formandos que participaram neste trabalho constam de outros estudos. No estudo de García-Barros *et al.* (1995) foram

referidas como principais dificuldades para a realização de trabalho prático o excessivo número de alunos e a falta material. Os resultados obtidos por Valente (1999) igualmente assinalam a falta de instalações próprias e de equipamentos adequados, como factores condicionantes da realização deste tipo de actividades. No estudo realizado por Dourado (2001b) a dimensão elevada das turmas, a falta de material e equipamentos, a extensão dos programas disciplinares e as dificuldades relacionadas com os alunos (e.g. organização do trabalho, compreensão de conteúdos) correspondem às principais razões de insatisfação com o trabalho laboratorial realizado nas aulas. Os professores envolvidos nesse estudo consideraram os seguintes aspectos a melhorar para a implementação de trabalho laboratorial: a) redução do número de alunos por turma ou o seu desdobramento por turnos; b) diminuição dos programas disciplinares; c) melhoria das condições em termos de laboratórios e equipamentos; d) apostar na formação dos professores.

A Figura 4.32 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 7** (modalidades de trabalho experimental e laboratorial realizadas no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário). Verifica-se que, quer no 3º ciclo do ensino básico (quatro PF), quer no ensino secundário (nove PF), a modalidade de trabalho experimental e laboratorial realizada *mais frequentemente* centra-se nos alunos – trabalho de grupo “*com protocolo predefinido*”. No 3º ciclo esta modalidade de trabalho experimental e laboratorial corresponde igualmente à *frequência intermédia*, de acordo com a resposta de quatro professores-formandos. No ensino secundário a modalidade de *frequência intermédia*, referida por quatro professores-formandos, centra-se também nos alunos – trabalho de grupo, mas decorre “*seguindo instruções do professor*”. Estes resultados são concordantes com os de Dourado (2001b), em que a maioria dos professores refere que os procedimentos laboratoriais são efectuados pelos alunos em pequenos grupos, a partir de protocolos elaborados por professores ou retirados de manuais escolares. As modalidades *menos frequentemente* implementadas pelos professores-formandos, para ambos os níveis de ensino, são as centradas nos alunos – trabalho de grupo. Porém, enquanto no 3º ciclo, corresponde ao “*protocolo construído em conjunto por professor e alunos*” (três PF), no ensino secundário corresponde ao “*protocolo construído pelos alunos com ajuda do professor*” (seis PF). Em suma, o trabalho experimental e laboratorial menos frequente corresponde ao que requer maior nível de abertura e que exige dos alunos uma participação mais activa no desenho experimental.

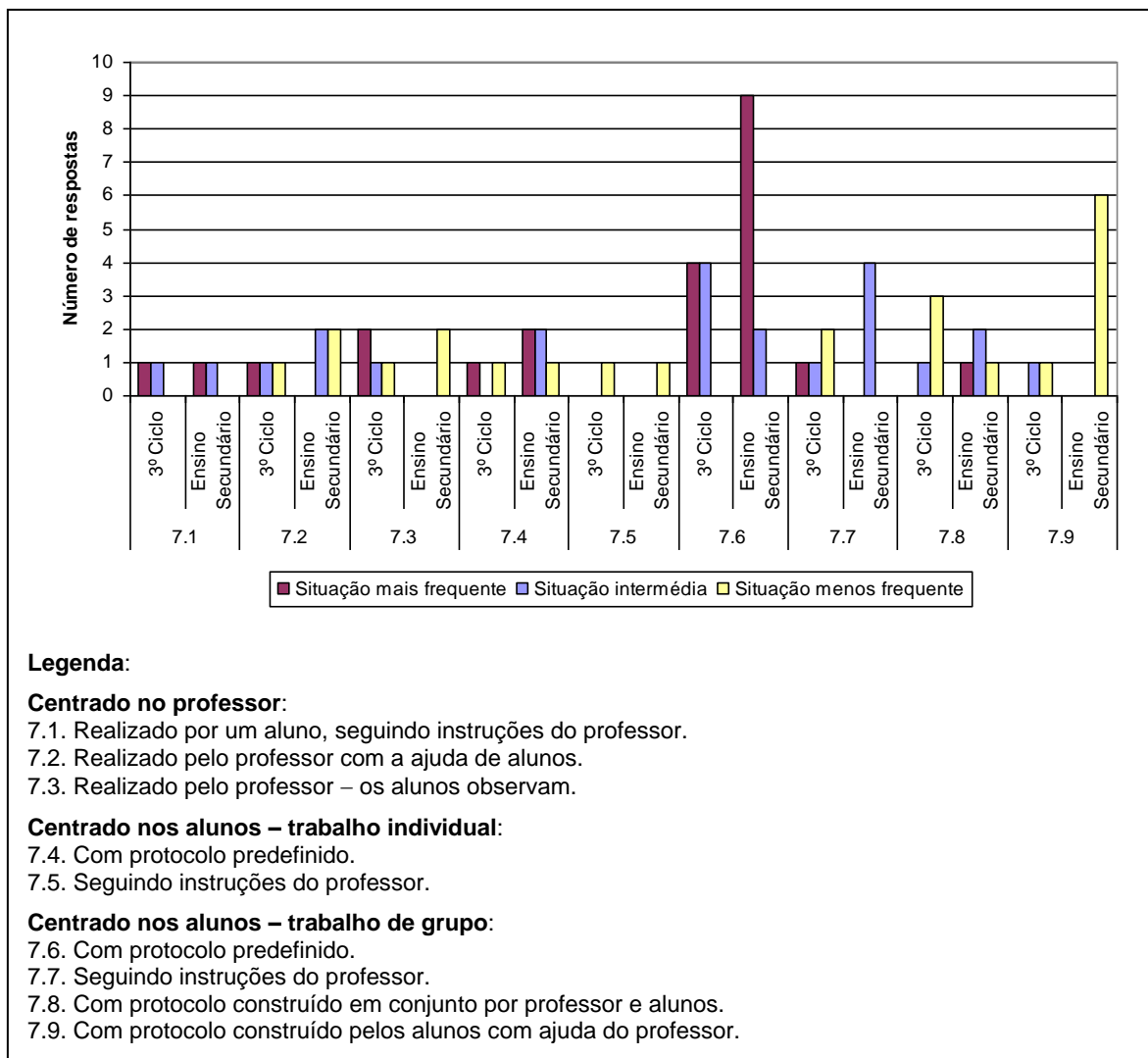


Figura 4.32 – Modalidades de trabalho experimental e laboratorial realizadas no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

A Figura 4.33 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 8** (avaliação do trabalho experimental e laboratorial relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, afectivos e de competências manipulativas).

Os resultados permitem verificar que, em geral, nos *argumentos predominantemente cognitivos*, os parâmetros *fraco* e *razoável* foram mais seleccionados do que nos restantes argumentos. Este resultado era espectável, uma vez que em trabalho prático tradicional é o professor que toma as decisões sobre o que fazer e como fazer, solicitando aos alunos a execução de procedimentos, pelo que estes não são envolvidos na planificação e desenho experimental, comprometendo o desenvolvimento do pensamento e da criatividade, aspectos do domínio cognitivo.

Nos *argumentos predominantemente afectivos* destacam-se os parâmetros *bom* e *muito bom* para a maioria dos objectivos analisados, não sendo nenhum avaliado com *fraco* e *nulo*. Nos *argumentos de competências manipulativas* registaram-se todos os parâmetros à excepção de *nulo*, embora os objectivos avaliados com *bom* e *muito bom* tenham sido mais seleccionados.

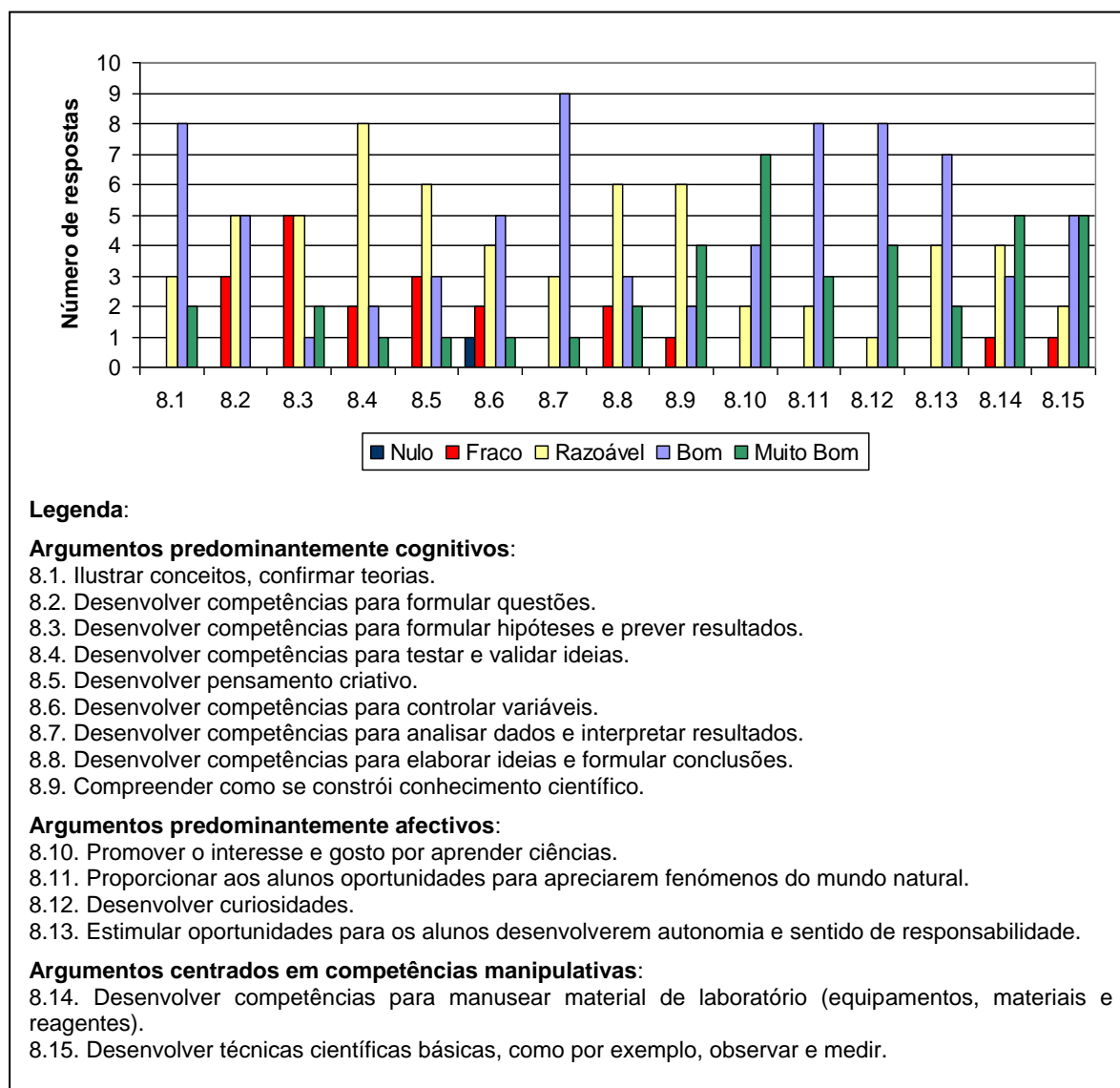


Figura 4.33 – Avaliação do trabalho experimental e laboratorial relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, afectivos e de competências manipulativas.

No que diz respeito aos *argumentos predominantemente cognitivos* (8.1 a 8.9), a maioria dos professores-formandos avaliou com *bom* a consecução dos seguintes objectivos: “*ilustrar conceitos, confirmar teorias*” (oito PF) e “*desenvolver competências*

para analisar dados e interpretar resultados” (nove PF). O objectivo menos conseguido com o trabalho prático que realizam nas aulas corresponde ao desenvolvimento de “*competências para formular hipóteses e prever resultados*”, avaliado com o parâmetro *fraco e razoável*, igualmente por cinco professores-formandos. O desenvolvimento do “*pensamento criativo*” é outro objectivo considerado com menor grau de consecução, uma vez que foi avaliado com *fraco e razoável*, respectivamente por três e seis professores-formandos. Ainda em relação aos argumentos cognitivos, os professores-formandos avaliaram *razoavelmente* o grau de consecução dos seguintes objectivos: “*desenvolver competências para testar e validar ideias*” (oito PF); “*desenvolver competências para elaborar ideias e formular conclusões*” (seis PF) e “*compreender como se constrói conhecimento científico*” (seis PF).

Relativamente aos *argumentos predominantemente afectivos* (8.10 a 8.13), o objectivo de “*promover o interesse e gosto por aprender ciências*” foi avaliado com um grau de consecução *muito bom*, pela maioria dos professores-formandos (sete), sendo dos objectivos apresentados, o mais conseguido através do trabalho prático por eles implementado nas aulas. O grau de consecução dos restantes objectivos desta categoria foi avaliado pela maioria dos professores-formandos com *bom*. No entanto, apesar da maioria dos inquiridos (sete) avaliar com *bom* o grau de consecução do objectivo “*estimular oportunidades para os alunos desenvolverem autonomia e sentido de responsabilidade*”, um número considerável (quatro PF) avaliou-o como *razoavelmente* conseguido.

Acerca dos *argumentos de competências manipulativas* (8.14 e 8.15), dos objectivos apresentados nesta categoria, o desenvolvimento de “*técnicas científicas básicas, como por exemplo, observar e medir*” correspondeu ao mais conseguido, avaliado com *bom e muito bom* igualmente por cinco professores-formandos.

A Figura 4.34 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 9** (os professores-formandos solicitam, ou não, a elaboração de relatório aquando da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário). Seis professores-formandos referiram não solicitar a elaboração de relatório de trabalhos experimentais e laboratoriais aos alunos do 3º ciclo do ensino básico, enquanto no ensino secundário a totalidade dos inquiridos afirmou solicitar relatório dessas actividades.

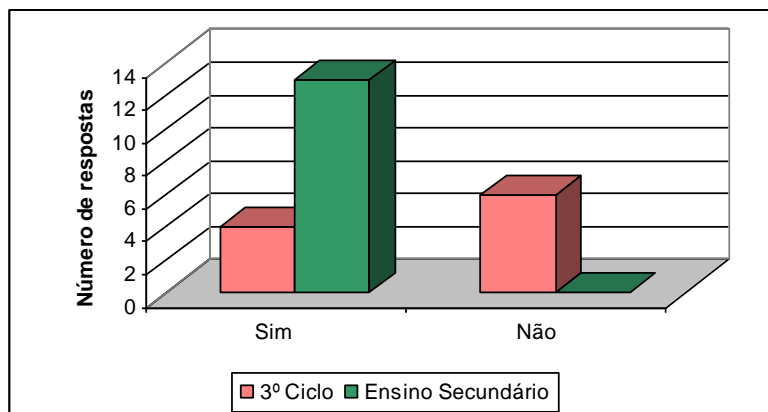


Figura 4.34 – Solicitação de relatório aquando da realização de trabalho experimental e laboratorial no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

Entre os professores-formandos que afirmaram solicitar a elaboração de relatório, a Tabela 4.20 apresenta o tipo de relatório mais frequentemente sugerido aos alunos (**questão 9.1 – Parte II**). Verifica-se que, para ambos os níveis de ensino, o tipo de relatório mais frequente corresponde ao “*relatório com estrutura predefinida e por grupo*”, referido por 50 e 38% dos professores-formandos, respectivamente, para o 3º ciclo do ensino básico e ensino secundário. Embora em ambos os níveis de ensino predomine o relatório com estrutura predefinida (3º ciclo – 75% e ensino secundário – 69%), no ensino secundário o recurso ao Vê de Gowin é ligeiramente superior (3º ciclo – 25% e ensino secundário – 31%).

Tabela 4.20 – Tipo de relatório sugerido aos alunos.

Tipo de relatório	3º Ciclo do ensino básico (N=4)		Ensino Secundário (N=13)	
	f	%	f	%
Relatório com estrutura predefinida e individual	1	25	4	31
Relatório com estrutura predefinida e por grupo	2	50	5	38
Vê de Gowin elaborado individualmente	1	25	3	23
Vê de Gowin elaborado em grupo	0	0	1	8

Os professores-formandos que afirmaram não solicitar a elaboração de relatório aos alunos justificaram a sua resposta (**questão 9.2 – Parte II**). Atendendo a que todos os professores-formandos referiram solicitar a elaboração de relatório no ensino secundário, as justificações apresentadas referem-se ao 3º ciclo do ensino básico, e correspondem às respostas de seis inquiridos. Com base nas justificações apresentadas nas respostas foram elaboradas as categorias apresentadas na Tabela 4.21.

Tabela 4.21 – Justificações para a não solicitação de relatório aos alunos do 3º ciclo do ensino básico.

Categorias de respostas	Professores-formandos					
	1	4	7	9	12	13
No final da actividade questionam-se os alunos oralmente ou por escrito para a interpretação de resultados	X		X			X
Falta de tempo		X			X	
Resposta incompreensível				X		

Três professores-formandos referiram outras formas de avaliação do trabalho experimental e laboratorial realizado pelos alunos, sobretudo através de questões sobre a actividade desenvolvida, designadamente para interpretar resultados e elaborarem conclusões. Referiram, por exemplo: *“a interpretação das observações e conclusões a retirar são feitas ou através de perguntas e respostas orais, ou através de pequenos questionários escritos”* (PF1) e *“deparo-me com dificuldades no 3º ciclo, uma vez que os alunos não entendem muito bem o que é pretendido. É-lhes difícil interpretar, formular, testar e concluir. Opto algumas vezes por elaborar questões de orientação/interpretação abrindo-lhes um pouco o caminho para chegarem às conclusões”* (PF13). Por outro lado, dois professores-formandos reforçaram a falta de tempo como razão para os alunos não realizarem relatório no final do trabalho experimental e laboratorial, como referido na seguinte afirmação: *“no 3º ciclo não há tempo para dar o programa, fazer aulas práticas e pedir relatórios (...) a não ser que sejam muito simples e que se possam fazer durante a execução da actividade prática”* (PF4).

4.3.2 ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS PELOS PROFESSORES-FORMANDOS NA OFICINA DE FORMAÇÃO

4.3.2.1. SIGNIFICADOS ATRIBUÍDOS A TRABALHO PRÁTICO, LABORATORIAL, EXPERIMENTAL E DE CAMPO E SUAS INTER-RELAÇÕES

A **Actividade 1A**, *“Separação de pigmentos fotossintéticos”* (Silva et al., 2003a) e a **Actividade 1B**, *“Qual a influência da temperatura na germinação das sementes?”* (Silva et al., 2003b) caracterizam-se na Tabela 4.22. Foram analisadas e discutidas pelos grupos de trabalho (G1, G2, G3 e G4), que responderam a questões que sobre elas se formularam (ver Anexo 34).

Tabela 4.22 – Caracterização das actividades práticas analisadas pelos grupos de trabalho.

Características das actividades	Actividade 1A	Actividade 1B
Os objectivos da actividade são explícitos	–	–
É sugerida a formulação de hipóteses e/ou previsão de resultados	–	–
O material a utilizar é referido	+	+
O procedimento é dado	+	+
As observações a realizar são referidas	+	+
Os registos a fazer são sugeridos aos alunos	+	+
Os resultados a obter são apresentados	+	–
A interpretação de resultados é sugerida aos alunos	+	+
Classificação das actividades		
Trabalho prático	+	+
Trabalho laboratorial	+	+
Trabalho experimental	–	+
Trabalho de campo	–	–
Tipo de actividades		
Demonstração e verificação experimental	+	+
Natureza investigativa	–	–

Nota: (+) característica presente na actividade; (–) característica ausente na actividade.

Os grupos de trabalho foram unânimes em avaliar as actividades propostas de “demonstração e de verificação experimental” (Almeida, 2001, p.68). Referiram que são os alunos a executar o procedimento, a recolher dados e interpretar resultados, além de corresponderem a actividades fechadas e centradas no professor. Afirmaram, por exemplo: “*actividade centrada no professor, em que a realização experimental e a recolha de dados é feita pelos alunos, (...) idealmente, serão os alunos a interpretar os resultados*” (G1); “*é uma actividade fechada, com o problema definido, em que o aluno só executa o procedimento e discute resultados*” (G3); “*os alunos limitam-se a executar um procedimento experimental fornecido pelo professor que visa verificar fenómenos já conhecidos*” (G4). A discussão desta questão teve particular importância na informação e formação dos professores-formandos relativamente à caracterização do grau de abertura de actividades laboratoriais descrito no Capítulo 2 (ver secção 2.3.3. Níveis de abertura de actividades laboratoriais, p.80).

No que diz respeito à contribuição das Actividades 1A e 1B para a consecução de objectivos a atingir com a implementação de trabalho prático (Figura 4.35), três grupos consideraram estas actividades *boas* para “*promover o interesse e a motivação*”, enquanto metade dos grupos avaliou-as *razoáveis* para “*promover a compreensão de conceitos e teorias*”. Em relação ao “*desenvolvimento de competências práticas de laboratório*”, verificou-se grande heterogeneidade nas respostas. No entanto, os grupos que as avaliaram positivamente (*razoável, boa e muito boa*) correspondem à maioria, o

que evidencia o papel que estas actividades desempenham no desenvolvimento de competências manipulativas em laboratório. Os objectivos “*desenvolver competências investigativas e de resolução de problemas*” e “*promover a compreensão de como se constrói conhecimento científico*” foram considerados *fracamente* atingidos com a realização destas actividades (opinião de três grupos em 1.8.4 e de dois grupos em 1.8.5), salientando-se a contribuição *nula* referida por um dos grupos relativamente a este último objectivo. Em suma, a análise das respostas dos grupos permite concluir que trabalho prático tradicional contribui principalmente para motivar os alunos para *aprender ciências* nas dimensões conceptuais (conceitos, teorias e princípios) e procedimentais (nomeadamente competências manipulativas em laboratório). Esta forma de trabalho prático não responde a duas grandes finalidades da educação em ciências referidas por Hodson (1992; 1993; 1994; 2000) – *aprender acerca das ciências* e *a fazer ciências* (ver Capítulo 2, secção 2.3.4. Objectivos de trabalho laboratorial, p.86).

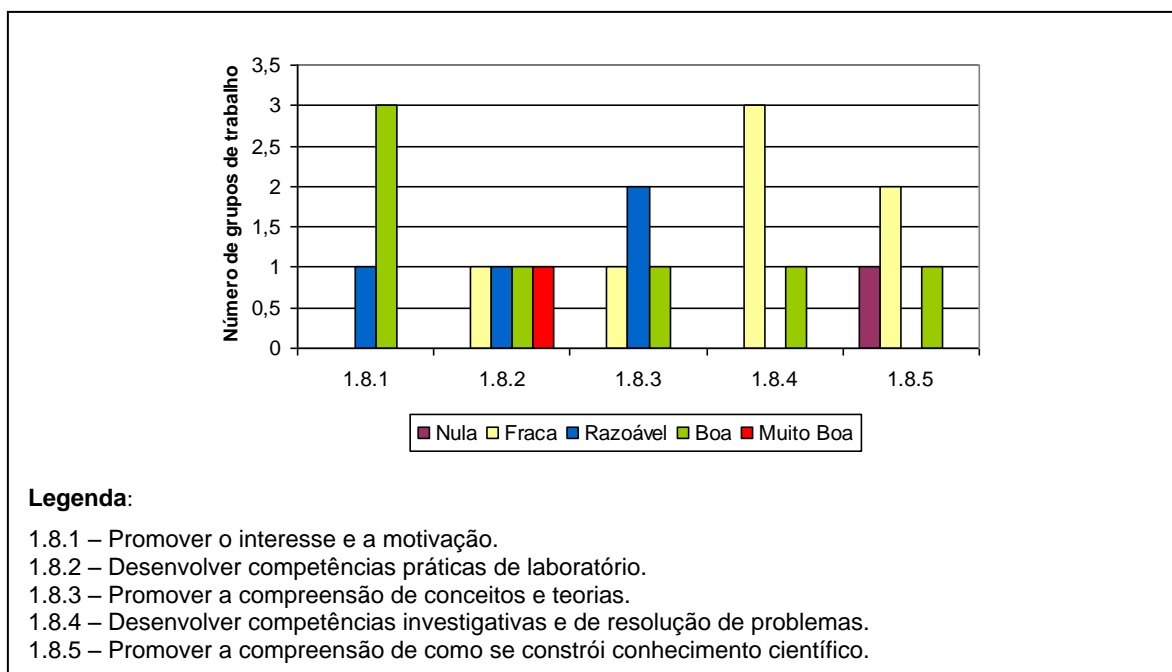


Figura 4.35 – Contribuição das actividades 1A e 1B para a consecução de objectivos a atingir com a implementação de trabalho prático.

Na Tabela 4.23, caracterizam-se as Actividades 1A e 1B, de acordo com as respostas dos grupos de trabalho. Os grupos identificaram correctamente a existência, ou não, de controlo e manipulação de variáveis e os que responderam afirmativamente (G1 e G4) justificaram a resposta com a identificação das variáveis temperatura e tipo de sementes. Relativamente aos grupos que responderam negativamente, um deles (G2)

justificou a resposta referindo não haver diferenças no material biológico e no solvente apresentados no protocolo, enquanto o outro (G3) referiu que não existem factores a variar, mas não os especificou, relacionando o protocolo previamente definido com a ausência de controlo e manipulação de variáveis.

Tabela 4.23 – Caracterização das Actividades 1A e 1B pelos grupos de trabalho.

Grupos-Actividades	G1 – 1B	G2 – 1A	G3 – 1A	G4 – 1B
Categorias de respostas				
Controlo e manipulação de variáveis (Q. 1.4):	Sim	Não	Não	Sim
Justificação da existência, ou não, de controlo e manipulação de variáveis (Q. 1.5): <ul style="list-style-type: none"> • identificação de variáveis: temperatura e tipo de semente • não há diferença no material biológico nem no solvente • protocolo previamente definido • não existem factores a variar 	X	X	X X	X
Designação da actividade (Q. 1.6): <ul style="list-style-type: none"> • trabalho prático • trabalho laboratorial • trabalho experimental • trabalho de campo 	X X	X X	X	X
Justificação para a designação da actividade (Q. 1.7): <p>Trabalho prático</p> <ul style="list-style-type: none"> • participação activa na realização de determinada tarefa <p>Trabalho laboratorial</p> <ul style="list-style-type: none"> • execução de um procedimento com recurso a materiais/equipamentos de laboratório de modo a permitir a recolha de dados e sua interpretação • não existem variáveis • protocolo definido <p>Outras respostas</p> <ul style="list-style-type: none"> • referem porque não escolheram a designação de trabalho experimental 	X X		X X X	X
		X		

Todos os grupos designaram as Actividades 1A e 1B como trabalho laboratorial e dois grupos (G1 e G2) também referiram tratar-se de trabalho prático. Nenhum grupo mencionou a designação de trabalho experimental e trabalho de campo. Dos dois grupos que referiram a designação de trabalho prático apenas um grupo (G1), justificou esta escolha, referindo que “*envolve a participação activa na realização de determinada tarefa*”. O grupo G2 não justificou as opções escolhidas, mas salientou a razão pela qual não seleccionou a designação de trabalho experimental, referindo que a actividade apresentada corresponde a “*(...) um trabalho proposto onde os alunos não fazem investigação*”. Em relação à designação de trabalho laboratorial, um grupo referiu que “*não existem variáveis*” (G3) e dois grupos referiram-se ao manuseamento de material

laboratorial, por exemplo: “*envolve a execução de um procedimento com recurso a materiais/equipamentos de laboratório de modo a permitir a recolha de dados e sua interpretação*” (G1).

Em síntese, verifica-se que um grupo estabeleceu relação entre trabalho laboratorial e a ausência de variáveis (G3), e outro, associou trabalho experimental a investigações (G2). Por outro lado, os grupos de trabalho que analisaram a Actividade 1B (G1 e G4), apesar de referirem a existência de controlo e manipulação de variáveis, não a relacionaram com a designação de trabalho experimental. A opção de trabalho prático apenas foi justificada por um grupo de trabalho (G1), o que poderá evidenciar incertezas quanto ao seu significado, optando os grupos por não escolherem esta designação. Relativamente à designação de trabalho de campo, a exclusão desta opção justifica-se por ambas as actividades implicarem o manuseamento de materiais e equipamentos num laboratório e/ou sala de aula devidamente equipada, sem alusão ao espaço exterior.

Em suma, os professores-formandos revelaram notória maior facilidade em caracterizar trabalho laboratorial e dificuldades em caracterizar trabalho prático e experimental, não estando muito claros dos seus significados. Por outro lado, não associaram a existência de controlo e manipulação de variáveis com a designação de trabalho experimental, apesar de o relacionarem com investigações.

Estas designações foram posteriormente alvo de reflexão pelos professores-formandos na realização da **Actividade 2**. Cada grupo de trabalho elaborou um mapa de conceitos partindo das palavras-chave trabalho prático, trabalho de campo, trabalho experimental e trabalho laboratorial, após análise e reflexão sobre bibliografia adequada (Dourado, 2001a; Leite, 2001). Como um mapa de conceitos é construído de acordo com a estrutura conceptual de quem o elabora, cada mapa reflecte a forma como os termos utilizados se organizam – os que se destacam como mais gerais, a forma como são interligados e as respectivas palavras de ligação entre eles (Valadares, 2001).

Apesar do número reduzido de termos, os mapas de conceitos elaborados pelos grupos de trabalho apresentaram estruturas diferentes (ver Anexo 50) e permitiram aferir os significados a eles atribuídos. A Tabela 4.24 sintetiza os aspectos referidos por cada grupo de trabalho, mostrando que todos os grupos consideraram que trabalho prático inclui trabalho laboratorial e trabalho de campo. Um grupo (G1) também mencionou outros tipos de trabalho prático, como a pesquisa na internet e a resolução de problemas. Todos os grupos referiram que trabalho de campo se realiza ao ar livre e que trabalho experimental inclui actividades que envolvem controlo e manipulação de variáveis – requisito necessário para que trabalho laboratorial e de campo incluam trabalho

experimental. Três grupos consideraram que trabalho prático inclui actividades em que o aluno está activamente envolvido, além de associarem a realização de trabalho laboratorial com o local onde a actividade decorre, laboratório ou sala de aula (G1, G2 e G4) e requerer a utilização de materiais de laboratório (G1 e G3). Analisando os mapas de conceitos verifica-se que os professores-formandos compreenderam os significados dos conceitos em estudo, embora tenha sido necessário na sessão plenária, clarificar a terminologia apropriada relativa à conjugação de trabalho laboratorial e/ou de campo com trabalho experimental, adoptando-se a designação de Leite (2001, p.80) “actividades laboratoriais de tipo experimental”.

Tabela 4.24 – Significados atribuídos pelos grupos a trabalho prático, de campo, experimental e laboratorial.

Grupos	G1	G2	G3	G4
Categorias de respostas				
Trabalho prático				
• actividades em que o aluno está activamente envolvido	X	X		X
Trabalho prático compreende:				
• trabalho laboratorial	X	X	X	X
• trabalho de campo	X	X	X	X
• outros tipos (e.g. pesquisa de informação na internet, resolução de problemas)	X			
Trabalho laboratorial				
• realiza-se no laboratório (ou sala de aula)	X	X		X
• requer a utilização de materiais de laboratório	X		X	
Trabalho de campo				
• realiza-se ao ar livre	X	X	X	X
Trabalho experimental				
• envolve controlo e manipulação de variáveis	X	X	X	X
• pode ser laboratorial e de campo	X	X	X	X

4.3.2.2. CONCEPÇÃO E PLANIFICAÇÃO DE PERCURSOS INVESTIGATIVOS

A) CONTEXTOS PROBLEMÁTICOS E PROBLEMATIZAÇÃO

Antes de iniciar a **Actividade 3** (Act. 3) – “*Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação*” (ver Anexos 36, 37, 38, 39 e 40) – reconheceu-se que a apresentação dos contextos problemáticos seria de especial importância, por abordarem temáticas desafiadoras e potencialmente propiciadoras de motivação, interesse e empenho para o posterior desenvolvimento de percursos investigativos. Os grupos de trabalho, de acordo com as suas preferências,

escolheram o contexto problemático em que gostariam de desenvolver um percurso investigativo, apesar das dificuldades de selecção, quer pelo interesse demonstrado em todos eles, quer acima de tudo, por desconhecerem o que poderiam e/ou iriam investigar. Como dois grupos de trabalho seleccionaram “*Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos*”, foi necessário chegarem a consenso, de modo que cada grupo trabalhasse numa temática diferente. Os professores-formandos optaram por temáticas novas, pelo que o tema “*Menos radicais livres, mais vida...o caso da catalase*”, não foi seleccionado por nenhum grupo de trabalho, talvez por a enzima catalase ser conhecida de trabalhos práticos propostos em manuais escolares, quer do antigo programa de Técnicas Laboratoriais de Biologia (Bloco I), quer do actual programa de Biologia do 12º ano (Matias & Martins, 2005, p.229-230; Ribeiro *et al.*, 2005, p.26-27). Os contextos problemáticos seleccionados pelos grupos de trabalho foram:

- Grupo 1 – “*Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos*”;
- Grupo 2 – “*Biocombustíveis: bioetanol – uma aplicação da fermentação alcoólica*”;
- Grupo 3 – “*Cultura de tecidos in vitro – uma estratégia para a multiplicação de plantas em larga escala*”;
- Grupo 4 – “*Consumo de alimentos geneticamente modificados e segurança alimentar*”.

A partir da leitura dos textos informativos relativos aos contextos problemáticos, cada grupo de trabalho começou pela sua caracterização (Act. 3 - questão 1.1), descrevendo sumariamente os assuntos abordados. Em seguida, referiram as inter-relações CTS (Act. 3 - questão 1.2) percebidas, que se representam na Figura 4.36.

Os grupos de trabalho consideraram as ciências responsáveis pelos avanços do conhecimento científico (e.g. teorias e conceitos), referindo-se concretamente a aspectos relacionados com cada uma das temáticas em biotecnologia apresentadas em cada contexto problemático. Salientaram, também, a estreita relação entre ciências e tecnologias, por considerarem o papel que estas desempenham na evolução tecnológica necessária, quer ao desenvolvimento de novas técnicas, quer na melhoria de outras já existentes, tornando possíveis os avanços das ciências. No que diz respeito à sociedade, os grupos de trabalho consideraram que as relações com as ciências e tecnologias decorrem, acima de tudo, do impacto em termos de benefícios e/ou riscos que os produtos desenvolvidos possam trazer para a saúde humana e para o ambiente. Por outro lado, também salientaram que a própria sociedade pode influenciar as investigações em ciências e tecnologias pelas exigências e/ou pressões, por exemplo: a)

no sentido da produção de novos medicamentos para o tratamento de doenças; b) maior quantidade, variedade e qualidade dos alimentos; c) recursos energéticos menos poluentes e alternativos aos combustíveis fósseis.

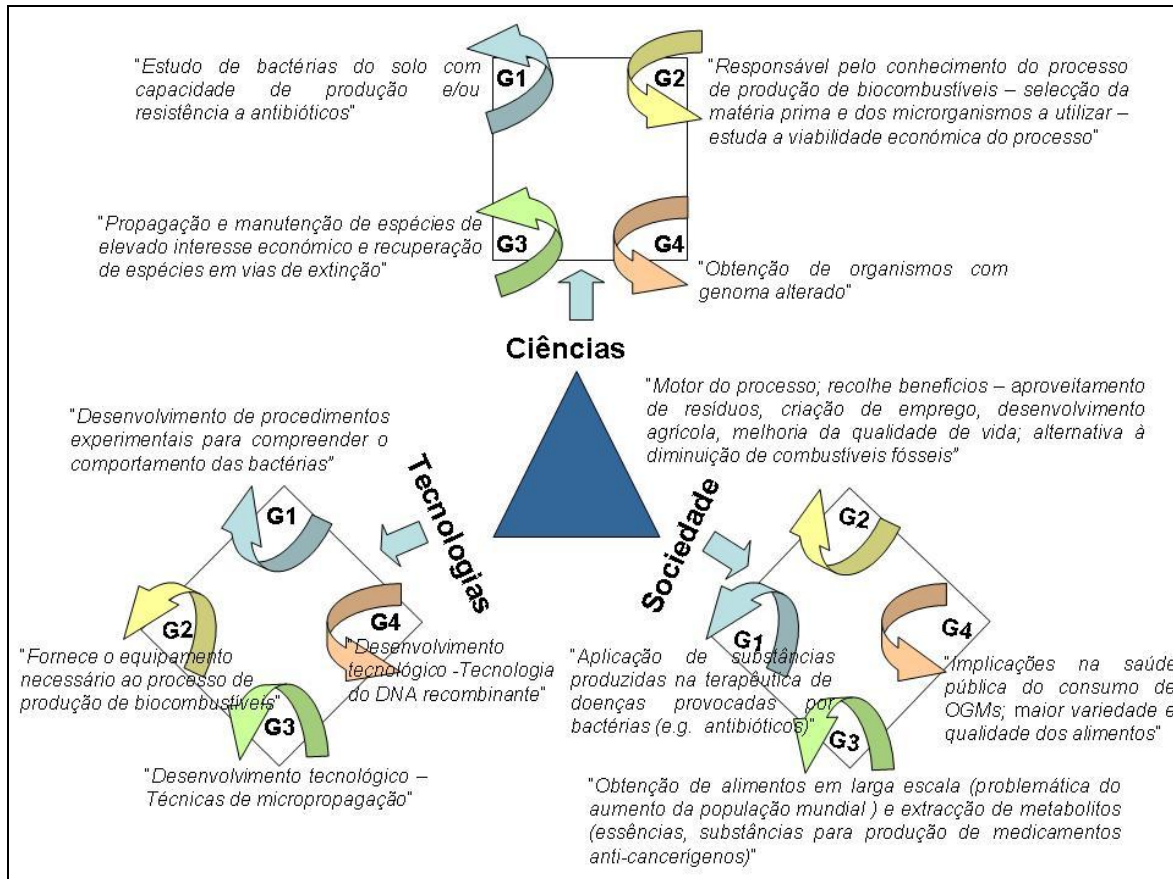


Figura 4.36 – Inter-relações CTS estabelecidas pelos grupos de trabalho a partir dos contextos problemáticos seleccionados. Azul claro corresponde às respostas do Grupo 1 (G1), amarelo do Grupo 2 (G2), verde do Grupo 3 (G3) e laranja do Grupo 4 (G4).

Considerando como ponto de partida, que o desenvolvimento de percursos investigativos requer a formulação/selecção de uma questão de investigação, que orienta e está subjacente às fases de concepção e planeamento de actividades experimentais e laboratoriais, os grupos de trabalho formularam diversas questões, a partir da reflexão e discussão intragrupo que os diferentes contextos problemáticos suscitaram (Act. 3 - questão 1.3). Na Tabela 4.25 apresentam-se as questões de investigação formuladas e a que foi seleccionada por cada grupo (escrita a negrito) para desenvolver o seu percurso investigativo (Act. 3 - questão 1.4).

Tabela 4.25 – Questões de investigação formuladas pelos grupos de trabalho para desenvolvimento de percursos investigativos. Apresentam-se a negrito as questões de investigação seleccionadas.

GRUPOS DE TRABALHO	QUESTÕES FORMULADAS
Grupo 1	<p>“Como identificar as estirpes produtoras de antibióticos?”</p> <p>“Como identificar as estirpes resistentes a antibióticos?”</p> <p>“Será que o desenvolvimento e acção das bactérias produtoras/resistentes a antibióticos são influenciados por alterações de temperatura e pH?”</p> <p>“Será que diferentes tipos de solo contêm estirpes produtoras de antibióticos e em iguais quantidades?”</p>
Grupo 2	<p>“Terão todos os cereais a mesma rentabilidade fermentativa?”</p> <p>“Será o tempo necessário à fermentação igual para os diferentes cereais?”</p> <p>“Qual a matéria-prima que assegura maior rentabilidade?”</p> <p>“Qual a levedura mais eficiente no processo fermentativo?”</p> <p>“Qual o valor de temperatura mais propício ao processo?”</p> <p>“Qual o valor de pH mais propício ao processo?”</p> <p>“Qual a influência da concentração de leveduras no processo?”</p>
Grupo 3	<p>“Que zona meristemática utilizar para propagar a couve-flor?”</p> <p>“Como fazer a desinfecção do material biológico a propagar?”</p> <p>“Qual o melhor meio de cultura que permite a propagação mais rápida da couve-flor (citocininas e/ou auxinas)? Em que concentrações?”</p> <p>“Terá a temperatura alguma influência para o sucesso da micropropagação?”</p>
Grupo 4	<p>“Será que o DNA transgénico pode ser incorporado nas células humanas?”</p> <p>“Que alterações se verificam no DNA transgénico durante o processo digestivo?”</p> <p>“O DNA transgénico poderá ser transferido para a microflora intestinal?”</p> <p>“Existirão outras substâncias químicas associadas aos OGMs que possam revelar-se nocivas para a saúde humana, a curto, médio ou longo prazo?”</p>

Apesar de cada grupo ter formulado diversas questões de investigação, verificaram-se algumas tendências na tipologia das questões. Apresentam-se algumas tendências gerais:

1. Os grupos de trabalho conheciam à partida as respostas às questões de investigação formuladas, como por exemplo:
 - “Será que o desenvolvimento e acção das bactérias produtoras/resistentes a antibióticos são influenciados por alterações de temperatura e pH?” (G1);
 - “Terão todos os cereais a mesma rentabilidade fermentativa?” (G2);
 - “Terá a temperatura alguma influência para o sucesso da micropropagação?” (G3);
 - “Existirão outras substâncias químicas associadas aos OGMs que possam revelar-se nocivas para a saúde humana, a curto, médio ou longo prazo?” (G4).

2. As questões centraram-se em procedimentos, como por exemplo:
 - “Como identificar as estirpes produtoras de antibióticos?” (G1);

- “*Como identificar as estirpes resistentes a antibióticos?*” (G1);
- “*Como fazer a desinfecção do material biológico a propagar?*” (G3).

A formulação de questões de investigação para desenvolver percursos investigativos revelou-se um processo difícil. Os grupos de trabalho, numa fase inicial, formularam questões para as quais sabiam antecipadamente as respostas ou cujas respostas se limitavam a procedimentos laboratoriais. Assim, a ideia das *respostas certas* na concepção dos professores-formandos sobre trabalho prático, sobretudo nas actividades de tipo demonstrativo e de verificação experimental, o mais frequentemente realizado nas aulas, reflectiu-se nas questões formuladas. Por outro lado, como trabalho prático tradicional se centra no seguimento das etapas dos protocolos, algumas questões formuladas centraram-se nos procedimentos a realizar. A tipologia de questões formuladas era esperada, atendendo a que tradicionalmente o trabalho prático (laboratorial e experimental) desenvolvido nas aulas se centra na aplicação de procedimentos do manual escolar ou prescritos pelo professor, além de se inserirem na cultura dominante das *respostas certas* e na ausência de questionamento. Parece lícito afirmar que a formulação de uma boa questão de investigação não é uma tarefa fácil e imediata, pelo contrário, é processo complexo e não linear (Almeida, 2000), que requer amadurecimento de ideias, e sobretudo reflexão.

Ao finalizar esta actividade (Act. 3 - questões 1.5.1 e 1.5.2), os grupos de trabalho centraram-se nas questões de investigação seleccionadas e todos as consideraram com enquadramento curricular, sobretudo na disciplina de Biologia do 12º ano. No entanto, alguns grupos também referiram a possibilidade destas questões poderem integrar-se em Área de Projecto. A Tabela 4.26 apresenta para as questões de investigação seleccionadas pelos grupos de trabalho, propostas de enquadramento curricular e previsões quanto ao interesse que despertariam nos alunos.

Em relação ao interesse que a questão de investigação poderá despertar nos alunos, identificaram-se duas categorias nas respostas elaboradas pelos grupos de trabalho:

1. Destaca o interesse das questões de investigação pela actualidade das temáticas em si e por serem veiculadas nos meios de comunicação social. Salaria também as implicações que as temáticas podem ter na saúde pública, na preservação do ambiente e na adopção de atitudes que visem o desenvolvimento sustentável (G2 e G4);

2. Relaciona as questões de investigação com metodologias científicas requeridas pelo trabalho prático de natureza investigativa, em que se salienta a possibilidade dos alunos elaborarem e testarem hipóteses, seleccionarem variáveis, desenvolverem o espírito investigativo, e não a simples execução de protocolos de actividades laboratoriais e experimentais (G1 e G3).

Tabela 4.26 – Questões de investigação seleccionadas pelos grupos de trabalho, propostas de enquadramento curricular e previsões quanto ao interesse que despertariam nos alunos.

GRUPOS	QUESTÕES DE INVESTIGAÇÃO SELECIONADAS – ENQUADRAMENTO CURRICULAR E INTERESSE QUE DESPERTARIAM NOS ALUNOS
GRUPO 1	<p>“Como identificar as estirpes produtoras de antibióticos?”</p> <p>“Programa de Biologia do 12º Ano – Biotecnologia na produção de substâncias terapêuticas: produção de antibióticos por bioconversão”.</p> <p>“Os alunos poderão elaborar um percurso investigativo e elaborar hipóteses; permite o desenvolvimento de trabalho de campo e laboratorial numa vertente experimental, com vista à integração dos conteúdos programáticos abordados nas aulas”.</p>
GRUPO 2	<p>“Qual a matéria-prima que assegura maior rentabilidade?”</p> <p>“Currículo do 10º Ano de Biologia e Geologia (processos de obtenção de energia) e programa do 12º Ano de Biologia (exploração das potencialidades da biosfera; poluição e degradação dos recursos; crescimento da população humana e sustentabilidade)”.</p> <p>“Trata-se de uma temática actual que, geralmente, preocupa os jovens. Os alunos estão muito sensibilizados para questões relacionadas com a preservação do meio ambiente e a adopção de atitudes que visem o desenvolvimento sustentável”.</p>
GRUPO 3	<p>“Qual o melhor meio de cultura que permite a propagação mais rápida da couve-flor (citolininas e/ou auxinas)? Em que concentrações?”</p> <p>“Currículo de Biologia do 12º Ano e Área de Projecto”.</p> <p>“Uma vez que poderão ser os próprios alunos a elaborar e testar hipóteses, seleccionar variáveis; permite desenvolver o espírito investigativo e não a simples execução do protocolo experimental”.</p>
GRUPO 4	<p>“Que alterações se verificam no DNA transgénico durante o processo digestivo?”</p> <p>“Programa de Biologia do 12º Ano e Área de Projecto”.</p> <p>“Esta questão deverá suscitar o interesse dos alunos por ser um tema actual e bastante veiculado pelos media, levantando simultaneamente questões associadas à saúde pública e ao ambiente”.</p>

B) PLANOS DE INVESTIGAÇÃO E DESENHOS EXPERIMENTAIS

A planificação de trabalho prático (laboratorial e experimental) para construir percursos investigativos não se reduziu à simples selecção e utilização de protocolos, uma vez que exigiu aos grupos de trabalho a compreensão aprofundada dos objectivos da investigação, aspecto indispensável para delinear um desenho experimental que permitisse testar as hipóteses formuladas, com vista à elaboração de respostas para as questões de investigação seleccionadas. Este processo exigiu ainda “a mobilização de competências técnicas e laboratoriais básicas para a concepção e compreensão dos procedimentos experimentais, a construir e/ou seleccionar, conducentes à pesquisa de soluções para os problemas em questão” (Almeida, 2000, p.51).

O desenho experimental foi efectuado partindo da realização da **Actividade 4** – “*Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada*” (ver Anexos 41, 42, 43, 44 e 45). As questões formuladas foram concebidas, sobretudo para percursos investigativos a desenvolver por alunos, correspondendo, desta forma, a questões muito simples para os professores-formandos. No entanto, constituíram uma forma de os auxiliar, partindo de cada contexto problemático, a planificar os percursos investigativos a realizar. Para os grupos de trabalho, estas questões centraram-se nas técnicas e procedimentos a utilizar quando se realizam trabalhos práticos (laboratoriais e experimentais): a) com bactérias do solo (G1); b) para conhecer melhor o processo de fermentação alcoólica, sobretudo os factores que afectam a rapidez da reacção de fermentação (G2); c) para conhecer a técnica da cultura de tecidos *in vitro*, sobretudo no que diz respeito ao papel dos reguladores de crescimento – auxinas e citocininas (G3); d) para conhecer processos e/ou reagentes necessários à extracção de DNA (G4). Apresenta-se no Anexo 51 a descrição das respostas às questões da actividade 4 correspondentes a cada grupo de trabalho.

Salienta-se a importância desta actividade para os professores-formandos compreenderem os *porquês* de determinados(as): técnicas e processos; montagens experimentais; cuidados a ter e reagentes a utilizar. Esta actividade introdutória à planificação do percurso investigativo, designadamente em relação ao desenho experimental, revelou-se muito frutífera para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar. Este tipo de reflexão está ausente de trabalho prático tradicional, onde procedimentos e montagens apresentados nos manuais escolares são considerados dados adquiridos, não havendo reflexão e questionamento, por professores e alunos, por

exemplo, sobre as razões das etapas neles descritas e o papel desempenhado pelos reagentes.

Esta actividade permitiu aos professores-formandos do grupo 1 conhecerem a forma de identificar bactérias do solo produtoras de antibióticos e aperceberem-se que a questão de investigação formulada/seleccionada “*Como identificar as estirpes produtoras de antibióticos?*”, precisava de reformulação. Após reformulação, a questão “*Será que as bactérias do solo são produtoras de antibióticos?*” enquadrou-se nas que se conhece à partida a resposta, pelo que, mais tarde voltou a ser modificada.

Na **Actividade 5** – “*Planificação de actividades práticas pelos professores-formandos, tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada*” – os grupos de trabalho conceberam e planearam o desenho experimental, após o qual procederam à execução prática dos planos de investigação, realizando as actividades laboratoriais e experimentais previstas, específicas para cada percurso investigativo, seguida do registo, tratamento e análise de resultados.

Importa salientar que a concepção de procedimentos, tal como a formulação de questões, não é um processo linear, uma vez que “há avanços e recuos, há refinamentos sucessivos, muitas vezes, no decurso da sua própria execução” (Almeida, 2000, p.43). Assim, nas sessões em que se realizaram actividades laboratoriais e experimentais, os grupos de trabalho, sempre que necessário, reformularam a planificação “atendendo à interpretação dos resultados que ia sendo feita e pelo confronto entre os resultados obtidos e os esperados” (Almeida, 2000, p.45), com a finalidade de melhor clarificarem as etapas necessárias para a sua concretização.

Após realizadas as actividades laboratoriais e experimentais correspondentes a cada um dos percursos investigativos planeados, procedeu-se à análise e interpretação dos resultados, nomeadamente confrontando as hipóteses formuladas e previsões apresentadas com as respostas alcançadas, com vista à “avaliação das discrepâncias/concordâncias obtidas e tomadas de decisão sobre os caminhos a seguir, como seja a reformulação e/ou mudança dos procedimentos experimentais usados ou até do desenho investigativo delineado” (Almeida, 2000, p.45). De facto, avanços e retrocessos estão presentes quando se faz investigação e, sobretudo, quando há a preocupação de avaliar processos. A avaliação da pertinência e adequação dos resultados obtidos são decisivos, uma vez que várias situações poderão ocorrer, desde a conclusão da investigação, por se ter chegado a uma resposta/solução adequada à questão de investigação de partida, a mudanças no desenho da investigação (e.g. questão, hipóteses, previsões, desenho experimental) ou, apenas, à reformulação de

procedimentos (*Ibid.*). Por outro lado, em função dos resultados obtidos, importa avaliar os procedimentos seguidos e as metodologias adoptadas em cada percurso investigativo, no sentido de promover uma reflexão crítica do trabalho desenvolvido, além de se perspectivar a formulação de novas questões de investigação resultantes dos trabalhos realizados, que conduzirão ao desenvolvimento de novas investigações. Apresentam-se, a seguir, os resultados dos percursos investigativos planeados, implementados e avaliados pelos grupos de trabalho.

4.3.2.3. PERCURSOS INVESTIGATIVOS IMPLEMENTADOS

O **grupo de trabalho 1** isolou bactérias do solo a partir de duas amostras recolhidas junto à escola (amostra 1 – solo argiloso e amostra 2 – solo rico em matéria orgânica). Procederam à cultura das bactérias, diluindo sucessivamente as amostras de solo (10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}), seguida do espalhamento em meio de cultura TSA. Após o isolamento de colónias, procederam à verificação da sua capacidade de produção de antibióticos utilizando uma estirpe indicadora (*Micrococcus luteus*) e recorrendo às técnicas de sobrecamada directa, sobrecamada em colónias isoladas e riscado. Identificaram as estirpes produtoras de antibióticos pela presença de um halo de inibição do crescimento da estirpe indicadora à volta e/ou na extremidade das colónias produtoras.

A questão de investigação, que após a primeira alteração se designou “*Será que as bactérias do solo são produtoras de antibióticos?*”, foi de novo reformulada, durante a elaboração do Vê de Gowin, sobretudo após a previsão de dados e/ou resultados, passando a: “*Existirão bactérias produtoras de antibióticos nas amostras de solo recolhidas na escola?*”. As sucessivas reformulações da questão de investigação no decorrer dos trabalhos, revelam amadurecimento de ideias e, sobretudo, melhor compreensão do principal objectivo do percurso investigativo desenvolvido.

Na construção do Vê de Gowin revelaram maiores dificuldades na formulação de hipóteses e na previsão de dados e/ou resultados sobretudo, segundo os próprios, pela “*imprevisibilidade da amostra*” de solos estudada. Salienta-se que obtiveram excelentes resultados, nomeadamente por conseguirem trabalhar de forma exemplar nas técnicas utilizadas, destacando-se em particular o trabalho em assepsia, que resultou na ausência de contaminações por fungos. Em relação aos resultados conseguiram provar a hipótese e/ou previsões apresentadas, identificando bactérias produtoras de antibióticos nas duas

amostras de solo estudadas. Conseguiram, com relativa facilidade, formular outras questões de investigação muito pertinentes e adequadas ao desenvolvimento de outros trabalhos investigativos posteriores (e.g. “as bactérias produtoras serão resistentes ou sensíveis aos antibióticos utilizados no tratamento de infecções em humanos?”).

O preenchimento das zonas de registo do Vê de Gowin, apresentado na Figura 4.37, realizou-se com transcrições retiradas da Actividade 5 e do trabalho apresentado na comunicação efectuada no final da OF, relativamente ao percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 1 (ver Apêndice 4). A descrição deste percurso investigativo e o mapa de conceitos referido no Vê de Gowin encontram-se no Anexo 52.

O **grupo de trabalho 2** utilizou diferentes matérias-primas para verificar a que assegurava maior rendimento fermentativo. Montaram dispositivos para a realização da fermentação alcoólica, aos quais adicionaram suspensões de leveduras, obtidas a partir de *Saccharomyces cerevisiae* (fermento comercial de padeiro), e diferentes matérias-primas (maçã, cana-de-açúcar e sêmola de milho). Efectuaram o controlo através da adição de água destilada à suspensão de leveduras num dos dispositivos montados. Avaliaram o rendimento fermentativo a partir da quantificação do volume de dióxido de carbono produzido em cada um dos dispositivos, medindo em intervalos de tempo regulares.

Efectuaram um pequeno reajuste à questão de investigação inicial (“Qual a matéria-prima que assegura maior rentabilidade?”), no sentido de esclarecer a que rendimento se refere o projecto em estudo, passando a: “Qual a matéria-prima que assegura maior rendimento fermentativo?”. Este grupo, atendendo à rapidez do processo fermentativo, reformulou o procedimento inicialmente proposto no que diz respeito ao intervalo de tempo das leituras efectuadas e acrescentou um novo dispositivo onde foi testado o rendimento fermentativo de uma solução de amido (solúvel).

Os resultados observados contrariaram as previsões de dados e/ou resultados, o que causou inquietação e alguma surpresa, sobretudo pela baixa taxa fermentativa a partir do amido da sêmola de milho. Assim, além da questão de investigação, formularam uma sub-questão: “Será a *Saccharomyces cerevisiae* capaz de fermentar o amido?”. Salienta-se, que “a clarificação de um problema originalmente identificado conduz frequentemente, à sua redefinição, emergindo assim novos problemas (sub-problemas do original). Consequentemente, a sua resolução requererá não um mas vários percursos – tantos quantos os problemas identificados e seleccionados” (Pedrosa, 2000, p.21).

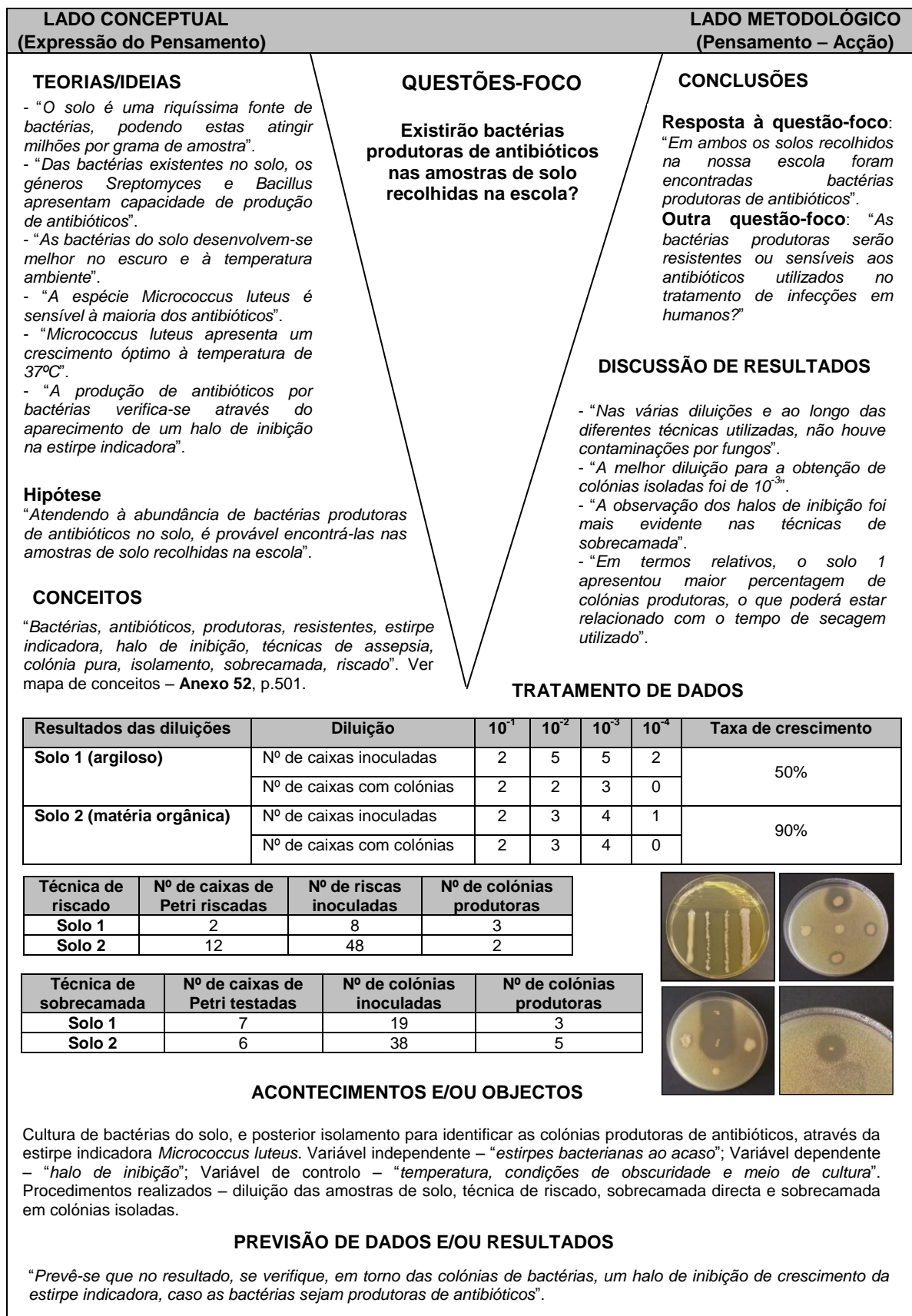


Figura 4.37 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 1. Percurso investigativo relativo à questão “Existirão bactérias produtoras de antibióticos nas amostras de solo recolhidas na escola?”.

Quando efectuaram a montagem experimental, com a adição da solução de amido à suspensão de leveduras, verificaram que o volume de dióxido de carbono produzido não diferia expressivamente da montagem controlo, o que evidencia a baixíssima taxa fermentativa obtida com o amido como matéria-prima. Este facto levantou algumas dúvidas na utilização desta levedura no fabrico do pão, atendendo ao levedar da massa de farinha de trigo (constituída por amido), devido à ocorrência de fermentação alcoólica. Estas dúvidas foram esclarecidas recorrendo a bibliografia adequada, que destaca o papel das amilases (α -amilase e β -amilase) nos processos de panificação envolvidos na formação de açúcares fermentáveis utilizados pelas leveduras (Pavanelli, 2000). O teor de α -amilase em farinha de trigo de boa qualidade é bastante baixo, sendo adicionada como suplemento para que ocorra a formação de açúcares fermentáveis. No que se refere à β -amilase, não é necessário adicionar suplemento, uma vez que a farinha de trigo normalmente tem quantidade suficiente para que ocorra a reacção de hidrólise, com a formação de maltose (fermentável) (*Ibid.*).

A levedura *Saccharomyces cerevisiae*, principal responsável pela fermentação alcoólica, é incapaz de utilizar directamente o amido, pelo que a utilização de matérias-primas amiláceas para a produção de etanol requer uma etapa prévia de sacarificação do amido, a fim de o converter em açúcares fermentáveis (Abud *et al.*, 1996), considerações referidas pelo grupo de trabalho na discussão de resultados. Estes aspectos forneceram novas pistas para outras investigações, referindo o grupo que “*seria interessante a utilização de enzimas capazes de hidrolisar o amido de modo a permitir a comparação da rentabilidade deste polissacarídeo com mono e dissacarídeos utilizados*”. Por outro lado, salientaram que pela “*abundância de materiais ricos em celulose, seria interessante a planificação de uma actividade investigativa no sentido de utilizar este polissacarídeo para a produção de bioetanol, utilizando uma enzima específica para a degradação da celulose conjuntamente com a suspensão de leveduras*”. Assim, formularam a questão: “*Qual a possibilidade da produção de bioetanol a partir de resíduos ricos em celulose?*”.

No que diz respeito à construção do Vê de Gowin, as maiores dificuldades foram a formulação de hipóteses e a previsão de dados e/ou resultados (tal como sucedeu com o grupo 1), sobretudo por desconhecerem o padrão de resultados que obteriam. O preenchimento das zonas de registo do Vê de Gowin, apresentado na Figura 4.38, realizou-se com transcrições retiradas da Actividade 5 e do trabalho apresentado na comunicação efectuada pelo grupo 2 no final da OF, relativamente ao percurso investigativo planeado e implementado (ver Apêndice 5). A descrição deste percurso investigativo e o mapa de conceitos referido no Vê de Gowin encontram-se no Anexo 53.

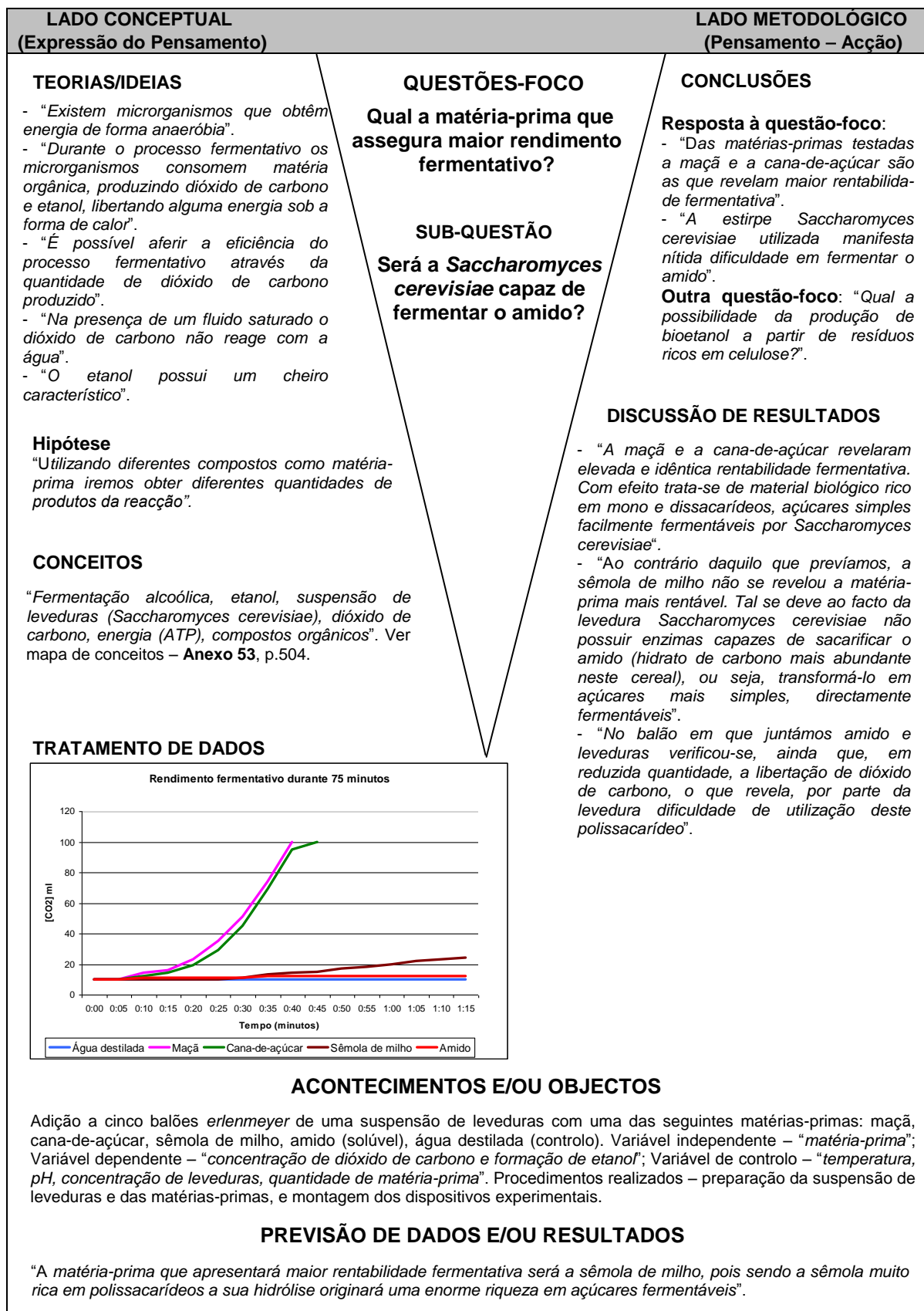


Figura 4.38 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 2. Percurso investigativo relativo à questão “Qual a matéria-prima que assegura maior rendimento fermentativo?”.

O **grupo de trabalho 3** realizou a micropropagação de couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), através da selecção de explantes provenientes da inflorescência, seguindo-se a desinfecção e posterior inoculação no meio MS. Utilizaram quatro meios MS aos quais adicionaram os seguintes reguladores de crescimento: 1 – citocininas (2,5 mg/mL de cinetina); 2 – auxinas (8 mg/mL de IAA); 3 – citocininas e auxinas (2,5 mg/mL de cinetina e 8 mg/mL de IAA) e 4 – sem reguladores de crescimento (controlo).

A questão de investigação foi reformulada durante a construção do Vê de Gowin, na previsão de dados e/ou resultados, quando referiram o efeito de diferentes reguladores de crescimento na formação de tecidos e órgãos a partir dos explantes de couve-flor. Assim, a questão inicial (“Qual o melhor meio de cultura que permite a propagação mais rápida da couve-flor (citocininas e/ou auxinas)? Em que concentrações?”) passou a: “Qual a influência da concentração dos factores de crescimento (auxinas e citocininas) na produção de tecidos/órgãos da couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)?”.

As previsões que fizeram basearam-se no efeito dos reguladores de crescimento apresentado no contexto problemático seleccionado, sentindo o grupo maiores dificuldades em prever os resultados a partir do meio de cultura sem reguladores de crescimento, por desconhecerem a possibilidade dos explantes poderem apresentar quantidades suficientes de hormonas endógenas capazes de promover respostas em cultura *in vitro*, sem recorrer ao fornecimento externo.

Relativamente ao procedimento realizado, este grupo efectuou a desinfecção do material biológico por duas vezes, na primeira inocularam 40 explantes de couve-flor (10 em cada meio de cultura) e na segunda inocularam 39 explantes (10 em cada meio de cultura com reguladores de crescimento e 9 no meio com a sua ausência). Possivelmente na segunda desinfecção não terão respeitado com o mesmo rigor, os tempos de espera nas soluções desinfectantes e/ou prepararam explantes demasiado pequenos, verificando-se uma taxa de mortalidade elevada, pelo que os resultados que obtiveram dizem respeito à primeira desinfecção. Nesta, apenas ocorreu a morte de um explante (2,5%) e, catorze infectaram (35%), registando-se uma taxa de resposta de 62,5%. Atendendo à inexperiência dos professores-formandos deste grupo na micropropagação de plantas, às rigorosíssimas condições de assepsia requeridas para a cultura de tecidos *in vitro* e à utilização de uma câmara de assepsia¹⁹, sem alguns requisitos existentes nas câmaras de fluxo laminar dos laboratórios de micropropagação (e.g. sistema de

¹⁹ A câmara de assepsia utilizada foi construída com material lavável, electricada com uma lâmpada fluorescente e com o lado aberto totalmente revestido de plástico preto. A esterilização realizou-se com uma lâmpada de radiação ultravioleta (removível) durante três horas antes de iniciar os trabalhos.

ventilação), consideram-se os resultados obtidos muito satisfatórios. Mostra-se, assim que, apesar das dificuldades referidas, foi possível realizar trabalho prático de natureza investigativa, no âmbito da cultura de tecidos *in vitro*.

Em relação aos resultados, confirmaram a função desempenhada pela cinetina na formação de rebentos e do IAA na formação de raízes, mas, contrariamente ao esperado, o meio de cultura sem reguladores de crescimento (controlo) foi o que permitiu obter raízes mais desenvolvidas. Os resultados observados no meio de cultura com dois reguladores de crescimento (cinetina e IAA) foram semelhantes aos dos explantes cujo meio apenas apresentava cinetina, embora a formação de rebentos e de raízes fosse ligeiramente menor. Nas conclusões, o grupo de trabalho sintetizou muito bem os resultados desta investigação, assinalando os meios de cultura que, segundo as observações efectuadas, permitiram obter as melhores respostas dos explantes e maiores vantagens em termos económicos para a micropropagação de couve-flor.

O preenchimento das zonas de registo do Vê de Gowin, apresentado na Figura 4.39, realizou-se com transcrições retiradas da Actividade 5 e do trabalho apresentado na comunicação efectuada no final da OF, relativamente ao percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 3 (ver Apêndice 6). A descrição deste percurso investigativo e o mapa de conceitos referido no Vê de Gowin encontram-se no Anexo 54.

O **grupo de trabalho 4** extraiu DNA de gérmen de trigo utilizando três soluções de extracção, para simular o processo digestivo no estômago e intestino, e relacionar a eventual degradação do DNA (transgénico ou não transgénico) com a digestão dos alimentos. Prepararam as seguintes soluções: solução 1 (controlo, sem digestão), solução 2 (com suco gástrico artificial) e solução 3 (com solução de pancreatina). Após a extracção do DNA realizaram a electroforese em gel de agarose de forma a verificar os resultados obtidos. Identificaram DNA intacto no gel de agarose pela presença de uma banda única, enquanto a sua ausência evidenciou a degradação do DNA.

A questão de investigação inicial (“*Que alterações se verificam no DNA transgénico durante o processo digestivo?*”) foi reformulada durante a elaboração do lado metodológico do Vê de Gowin, sobretudo quando discutiram resultados e formularam conclusões, passando a: “*Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal?*”. Esta reformulação deveu-se à melhor compreensão do trabalho realizado no decurso do percurso investigativo desenvolvido e das conclusões efectuadas.

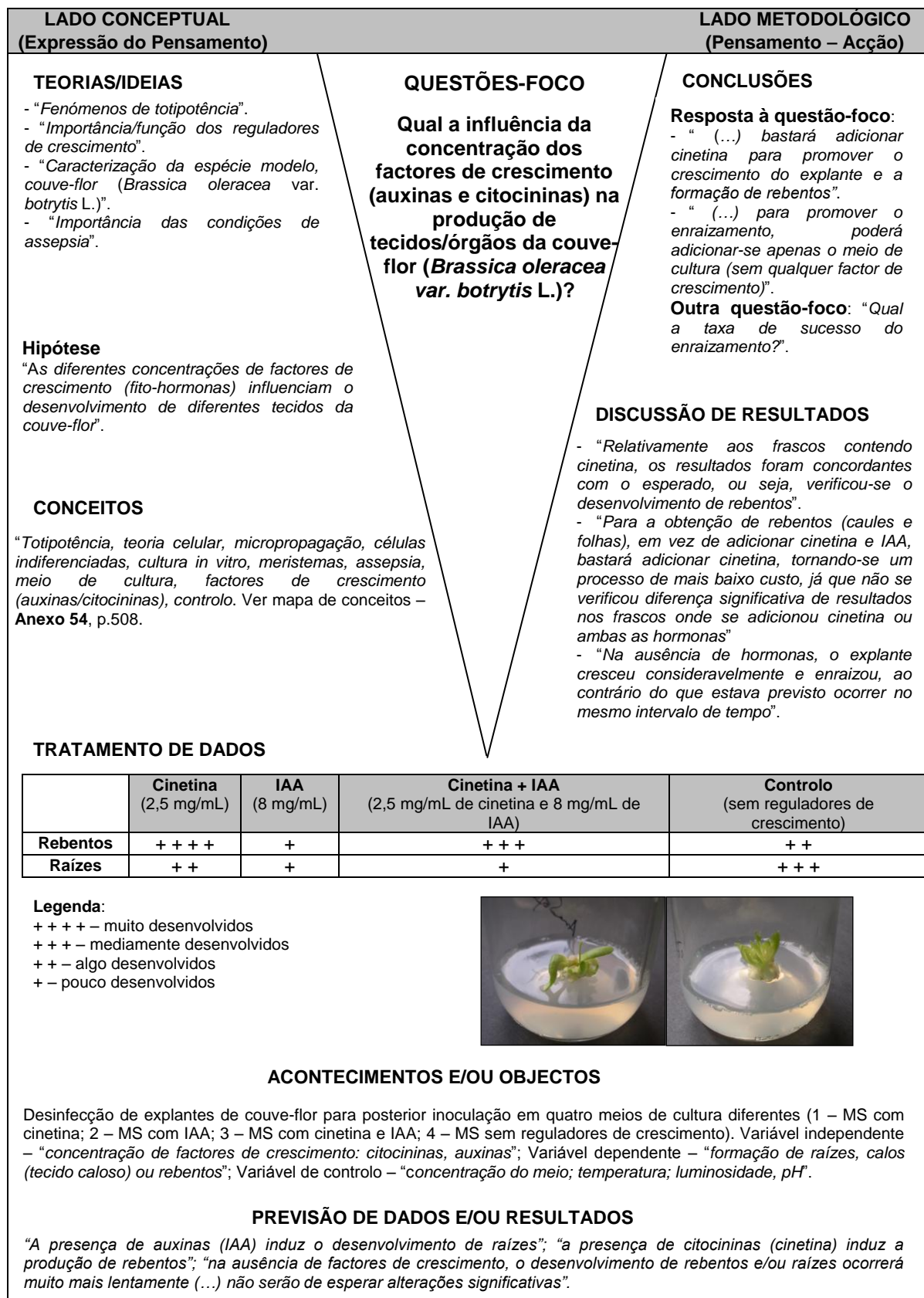


Figura 4.39 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 3. Percurso investigativo relativo à questão “Qual a influência da concentração dos factores de crescimento (auxinas e citocininas) na produção de tecidos/órgãos da couve-flor (*Brassica oleracea var. botrytis L.*)?”.

Os resultados das amostras dois e três contrariaram as previsões, o que causou alguma surpresa, originando reflexão e discussão intragrupo. Assim, previram que pela acção de nucleases, supostamente presentes na solução de pancreatina, ocorreria a degradação do DNA, não a relacionando com a acidez do sugo gástrico artificial.

Este grupo considerou que as condições experimentais simuladas, designadamente em relação aos valores de pH estomacal e intestinal testados, não corresponderam com exactidão às condições fisiológicas do aparelho digestivo humano, pelo que a hipótese inicialmente formulada (*“o DNA, transgénico ou não transgénico, é degradado durante o processo digestivo”*), de acordo com a opinião manifestada pelo grupo, *“continua por confirmar de uma forma credível e objectiva”*. Nas conclusões apresentadas consideraram os resultados observados *“pouco fiáveis tendo em conta a discrepância entre as condições experimentais simuladas e as condições fisiológicas do processo digestivo humano”*. Assim, o grupo apresentou várias sugestões para corrigir estas discrepâncias, nomeadamente nos valores de pH testados. Devido à impossibilidade, por questões de tempo, de reformularem e testarem os procedimentos em função das sugestões propostas, o grupo manifestou alguma insatisfação por não poder prosseguir os trabalhos. Salienta-se que executaram exemplarmente as técnicas utilizadas na extracção de DNA das amostras de germen de trigo e nos procedimentos relativos à electroforese em gel de agarose.

Este grupo facilmente formulou outras questões de investigação, algumas reflectiram as sugestões propostas (e.g. *“como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão intestinal com o pH fisiológico?”*) e outras parecem muito pertinentes e adequadas à realização novos percursos investigativos (e.g. *“como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal de um alimento cozido?”*).

O preenchimento das zonas de registo do Vê de Gowin, apresentado na Figura 4.40, realizou-se com transcrições retiradas da Actividade 5 e do trabalho apresentado na comunicação efectuada no final da OF, relativamente ao percurso investigativo planeado e implementado pelo grupo 4 (ver Apêndice 7). A descrição deste percurso investigativo e o mapa de conceitos referido no Vê de Gowin encontram-se no Anexo 55.

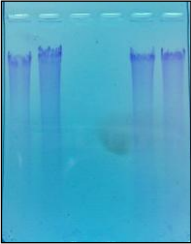
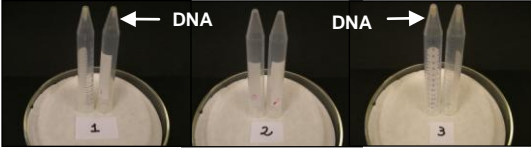
LADO CONCEPTUAL (Expressão do Pensamento)	LADO METODOLÓGICO (Pensamento – Acção)
<p>TEORIAS/IDEIAS</p> <ul style="list-style-type: none"> - “Nos eucariontes o DNA está associado a proteínas designadas histonas que neutralizam as cargas negativas dos grupos fosfato do DNA”. - “Nos eucariontes o DNA encontra-se envolvido pelo invólucro nuclear cuja constituição é maioritariamente fosfolipídica e proteica (à semelhança de todas as membranas da célula)”. - “O DNA é um componente natural dos alimentos”. - “O DNA pode ser degradado por processos físicos, químicos (pH, por exemplo) e enzimáticos”. - “As enzimas que degradam o DNA (nucleases) encontram-se no suco pancreático e intestinal que são lançados no intestino, local onde vão actuar”. <p>Hipótese “O DNA, transgénico ou não transgénico, é degradado durante o processo digestivo”.</p> <p>CONCEITOS “Eucariontes, organismos geneticamente modificados (OGMs), célula, núcleo, DNA, DNA transgénico, histonas, digestão enzimática, nuclease, suco digestivo, pH”. Ver mapa de conceitos – Anexo 55, p.512.</p> <p>TRATAMENTO DE DADOS</p>  <p>Resultados obtidos após a electroforese em gel de agarose: presença de DNA sob a forma de uma banda única nas amostras 1, 1' (controlo, sem digestão) e 3, 3' (simulação da digestão intestinal), e a sua ausência nas amostras 2 e 2' (simulação da digestão estomacal).</p> <p>ACONTECIMENTOS E/OU OBJECTOS</p> <p>Extracção de DNA de gérmen de trigo com três soluções de extracção diferentes, de forma a simular o processo digestivo no estômago e intestino: solução 1 (controlo), solução 2 (simulação da digestão estomacal com adição de suco gástrico artificial) e solução 3 (simulação da digestão intestinal com adição da solução de pancreatina). Electroforese em gel de agarose para análise de resultados. Variável independente – “presença ou ausência de enzima, pH”; Variável dependente – “existência de uma banda única ou nenhuma banda”; Variável de controlo – “tempo, temperatura, quantidade de reagentes”.</p> <p>PREVISÃO DE DADOS E/OU RESULTADOS</p> <p>“Banda única e definida, significa que a molécula de DNA não foi degradada (resultado esperado no controlo e na amostra 2, onde se pretende simular a digestão estomacal)”; “A ausência desta banda significa que ocorreu degradação do DNA, da qual resulta a sua fragmentação, este resultado deverá ser observado na amostra 3, onde se pretende simular a digestão intestinal”.</p>	<p>QUESTÕES-FOCO</p> <p>Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal?</p> <p>CONCLUSÕES</p> <p>Resposta à questão-foco: - “O DNA apresenta-se degradado após a simulação da digestão estomacal, não apresentando degradação quando sujeito à acção da pancreatina, incluída na digestão intestinal”.</p> <p>Outra questão-foco: “Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal de um alimento cozido?”</p> <p>DISCUSSÃO DE RESULTADOS</p> <ul style="list-style-type: none"> - “O resultado na amostra 1 coincide com a previsão inicial, uma vez que não foi sujeita a qualquer processo digestivo”. - “Na amostra 2 não se observou a existência de qualquer banda, (...) as condições simuladas para a digestão estomacal estiveram na origem da fragmentação do DNA. (...) o suco gástrico (...) apresenta um pH extremamente ácido que poderá ser a causa provável para esta fragmentação, a qual não tinha sido prevista inicialmente. - “(...) a amostra 3, contrariamente ao previsto, apresenta uma banda de DNA definida (...) não houve uma degradação eficiente do DNA. (...) esperava-se que as nucleases presentes no suco pancreático degradassem o DNA, o que justificaria a ausência de banda. (...) deduz-se que ou as condições não foram as ideais para a actuação enzimática, ou a pancreatina utilizada não possui nucleases”.  <p>Resultados da extracção de DNA de gérmen de trigo após a centrifugação: presença de sedimento com DNA nas amostras um e três e a sua ausência na amostra dois.</p>

Figura 4.40 – Vê de Gowin do grupo de trabalho 4. Percurso investigativo relativo à questão “Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal?”.

4.3.3. AVALIAÇÃO DA OFICINA DE FORMAÇÃO PELOS PROFESSORES-FORMANDOS

4.3.3.1. ANÁLISE DAS RESPOSTAS AO QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO²⁰

A Figura 4.41 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 1** (grau de concordância/discordância relativamente a aspectos referentes à OF).

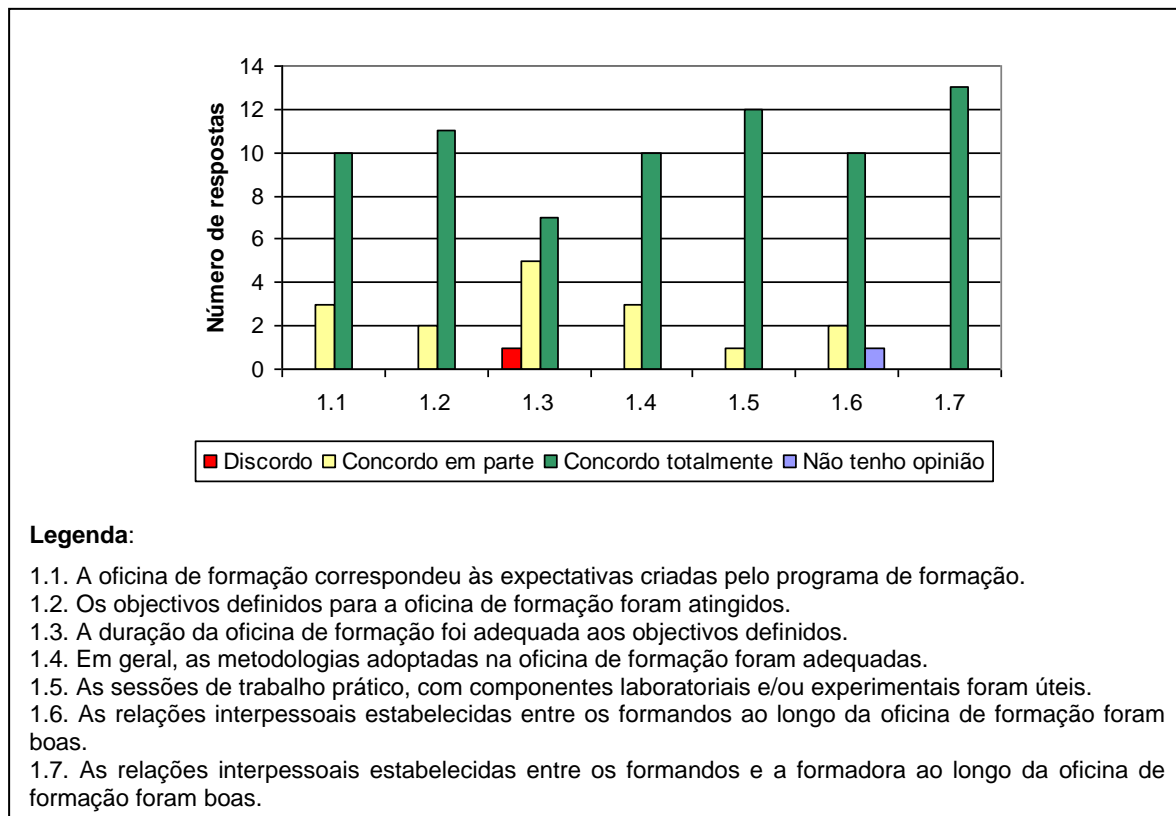


Figura 4.41 – Grau de concordância/discordância relativamente a aspectos referentes à OF.

Verifica-se que mais de metade dos professores-formandos *concordaram totalmente* com todos os aspectos da OF para os quais foram solicitados a apresentar os seus pontos de vista. Mais de dez professores-formandos *concordaram totalmente* que “os objectivos definidos para a Oficina de Formação foram atingidos” e com a utilidade das “sessões de trabalho prático, com componentes laboratoriais e/ou experimentais”. A totalidade dos professores-formandos considerou que as “relações interpessoais estabelecidas entre os formandos e a formadora ao longo da oficina de formação foram

²⁰ As referências dos professores-formandos no questionário de avaliação da OF, embora tenham igual designação (PF1 a PF13) relativamente ao questionário de diagnóstico, não correspondem à mesma pessoa – os questionários por serem anónimos foram designados de forma aleatória.

boas”. Para “a duração da oficina de formação foi adequada aos objectivos definidos” verificou-se maior diversidade de opiniões dos inquiridos, uma vez que um professor-formando *discordou*, cinco *concordaram parcialmente* e sete *concordaram totalmente*.

A Figura 4.42 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 2** (auto-avaliação em termos de competências desenvolvidas na OF).

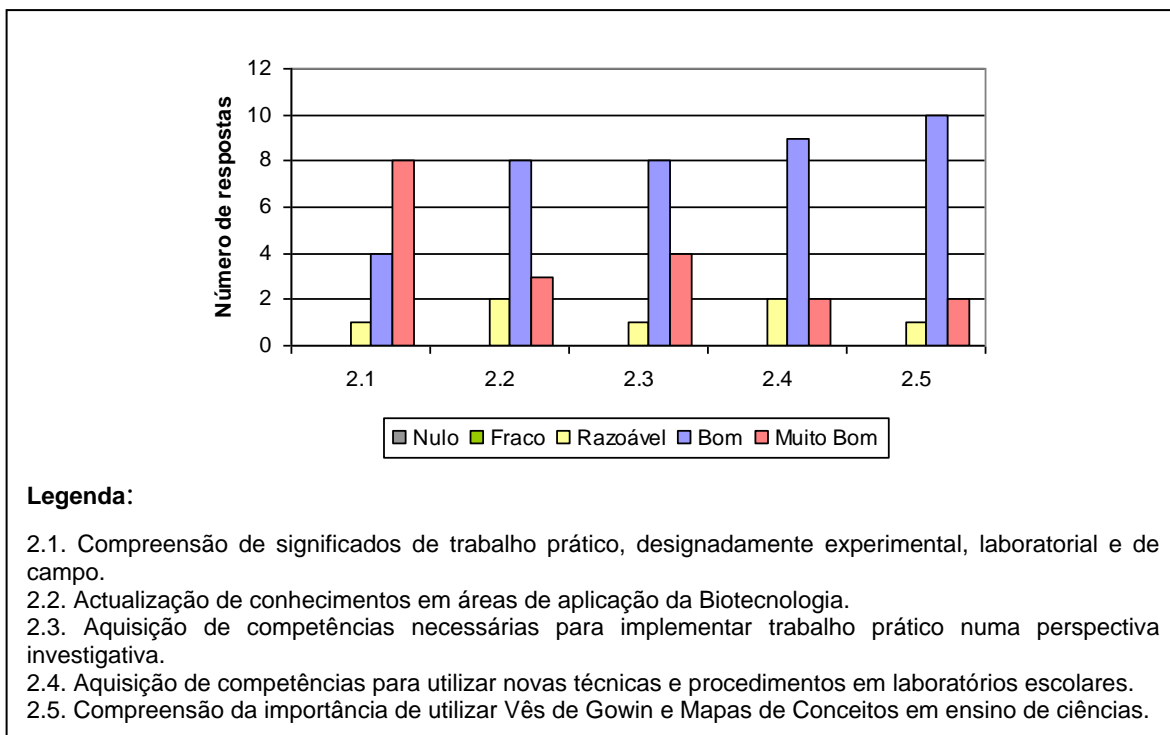


Figura 4.42 – Auto-avaliação de competências desenvolvidas na OF.

A “compreensão de significados de trabalho prático, designadamente experimental, laboratorial e de campo” foi o aspecto considerado melhor entendido por maior número de professores-formandos (oito), por eles avaliado com *muito bom*. Em relação à “aquisição de competências necessárias para implementar trabalho prático numa perspectiva investigativa”, embora a maioria dos professores-formandos (oito) avaliasse com *bom*, quatro classificaram com *muito bom* as competências adquiridas. Dez professores-formandos avaliaram a “compreensão da importância de utilizar Vês de Gowin e Mapas de Conceitos em ensino de ciências” com *bom*.

Estes resultados permitem avaliar como muito positivos os efeitos ao nível de competências desenvolvidas pelos professores-formandos com os trabalhos realizados, designadamente porque antes da OF o grau de conhecimento de perspectivas

investigativas de trabalho prático se situava entre *fraco* e *razoável* (ver respostas à questão 3 – Parte I, p.221). Também a avaliação da importância de utilizar Vês de Gowin se destaca, atendendo a que esta modalidade de relatório de trabalho laboratorial e experimental, de acordo com as respostas dos professores-formandos ao questionário de diagnóstico (ver respostas à questão 9.1 – Parte II, p.242) era menos utilizada, comparativamente com o relatório de estrutura predefinida.

A Figura 4.43 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 3** (grau de dificuldade/facilidade percebida na concretização de percursos investigativos).

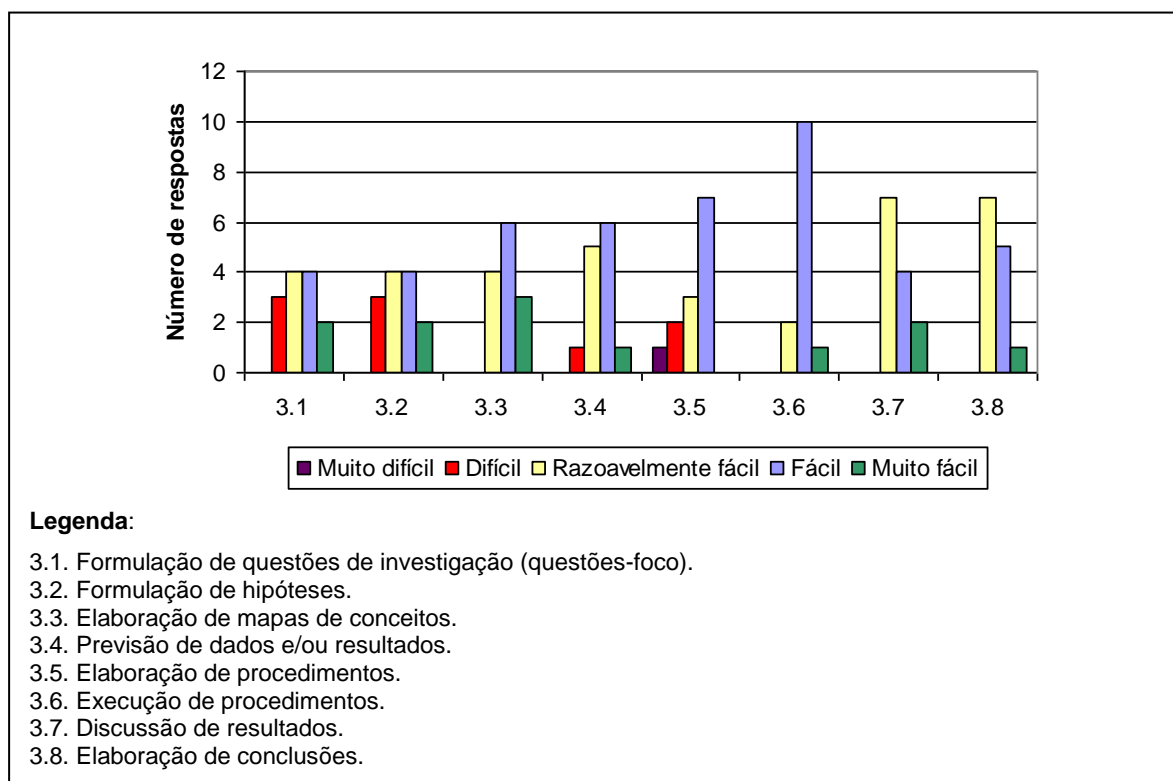


Figura 4.43 – Grau de dificuldade/facilidade percebida pelos professores-formandos na concretização de percursos investigativos.

Entre as etapas envolvidas no desenvolvimento de percursos investigativos, a “*formulação de questões de investigação (questões-foco)*” e a “*formulação de hipóteses*” foram consideradas as mais *difíceis* de concretizar, de acordo com a opinião de três professores-formandos. A descrição dos percursos investigativos apresentada anteriormente consubstancia esta dificuldade, uma vez que todos os grupos em algum momento do percurso investigativo reformularam a questão de investigação inicial. Relativamente a estas duas etapas, verificaram-se frequências próximas de opiniões

diferentes, além da diversidade de respostas, pois quatro professores-formandos avaliaram-as como *razoavelmente fáceis* e *fáceis* de concretizar, dois inquiridos como *muito fáceis* e três consideraram-as *difíceis* de realizar. A “*elaboração de procedimentos*” foi considerada *fácil* de concretizar pela maioria dos professores-formandos (sete), *difícil* apenas por dois inquiridos e *muito difícil* por um. A “*discussão de resultados*” e a “*elaboração de conclusões*” foram igualmente consideradas *razoavelmente fáceis* pela maioria dos professores-formandos (sete). A “*execução de procedimentos*” foi a etapa mais *fácil* de concretizar pela maioria dos professores-formandos (dez). A “*elaboração de mapas de conceitos*” foi avaliada como sendo *muito fácil* por três professores-formandos e de *fácil* execução por seis inquiridos.

Os professores-formandos após assinalarem o grau de dificuldade/facilidade percebida na concretização de percursos investigativos justificaram as suas respostas na **questão 4**. No tratamento das respostas, apenas se seleccionaram as justificações referidas para as etapas que os professores-formandos consideraram mais difíceis de realizar, por se considerar que representariam obstáculos à concretização de percursos investigativos que é necessário identificar.

Dos treze professores-formandos que participaram na OF, sete apresentaram justificações para as dificuldades sentidas em algumas das etapas do percurso investigativo realizado, tendo sido construídas categorias de respostas cujo resultado se apresenta na Tabela 4.27. As justificações referidas para as dificuldades na “*formulação de questões de investigação (questões-foco)*” estão relacionadas com aspectos de exequibilidade de investigações em contextos escolares (um PF) e com a necessidade de reformulações da questão-foco ao longo do percurso investigativo (dois PF). Referiram, por exemplo, sobre este último aspecto: “*difícil, pelo facto de se reformular algumas vezes até chegar a uma questão-foco que se pretende investigar*” (PF7) e “*a formulação de questões-foco não é um processo fácil uma vez que não sabendo o que podemos esperar podem surgir questões que não estarão de acordo com a investigação*” (PF10). Por outro lado, três professores-formandos apontaram dificuldades na escolha do tipo de trabalho a desenvolver, de acordo com o tempo e recursos disponíveis, tal como referido nas respostas: “*é difícil formular a questão de investigação correctamente enquanto não se conhece que tipo de trabalho (...) é possível desenvolver com aquilo que temos disponível e dentro do tempo que dispomos*” (PF9) e “*alguma dificuldade na selecção de uma única questão para percurso investigativo sendo necessário ter em atenção os*

materiais disponíveis e o tempo para concretização das actividades laboratoriais/experimentais a desenvolver” (PF13).

Tabela 4.27 – Justificações para as dificuldades de concretização de percursos investigativos.

Categorias de respostas		Professores-formandos						
		3	7	9	10	11	12	13
Formulação de questões de investigação (questões-foco)	Aspectos de exequibilidade na realização de investigações em contextos escolares	X						
	A necessidade de reformulações da questão inicial ao longo do trabalho		X		X			
	Dificuldade na escolha do tipo de trabalho a desenvolver de acordo com os recursos e o tempo disponível			X			X	X
Formulação de hipóteses	Exige o domínio de conhecimentos		X					
Elaboração de procedimentos	Procedimentos longos com etapas minuciosas e técnicas muito rigorosas			X	X	X	X	X
Execução de procedimentos	Rigor e cuidado no manuseamento de materiais (biológico e laboratorial)		X				X	

Em relação à “*formulação de hipóteses*”, apesar de apenas um professor-formando referir dificuldades, por exigir o domínio de conhecimentos, a seguinte resposta mostra que o desenvolvimento de percursos investigativos requer articulação de conhecimento teórico-conceptual e prático-processual: “*difícil, pelo facto de ter de dominar conhecimento científico específico para a formulação de hipóteses*” (PF7).

No que se refere à “*elaboração de procedimentos*”, face à diversidade de percursos investigativos realizados na OF, construíram-se procedimentos com diversos graus de dificuldade e exigência, quer em termos de técnicas, quer de manuseamento de materiais. Como era espectável, exprimiram maiores dificuldades os professores-formandos cujo percurso investigativo envolveu diversos procedimentos, alguns dos quais longos e com etapas minuciosas, assim como, os que requereram a execução de técnicas rigorosas (e.g. condições de assepsia), como o grupo que trabalhou com bactérias e o que realizou a cultura *in vitro* de couve-flor. Para esta categoria de resposta, destacam-se as afirmações: “*a elaboração do procedimento mostrou-se difícil, não pela complexidade das técnicas, mas sim pela longa sequência de etapas a realizar e pelo material a usar (tanto biológico como laboratorial)*” (PF10); “*(...) verificámos que a manipulação do material biológico e laboratorial era muito difícil e que, para além disso, as condições de assepsia eram difíceis de manter (...) criar um procedimento com tantos passos e tão minucioso foi difícil*” (PF11) e “*para uma correcta execução do procedimento*

foi necessário elaborar um protocolo com a descrição pormenorizada de todas as etapas, particularmente as referentes à desinfeção/esterilização do material (PF13).

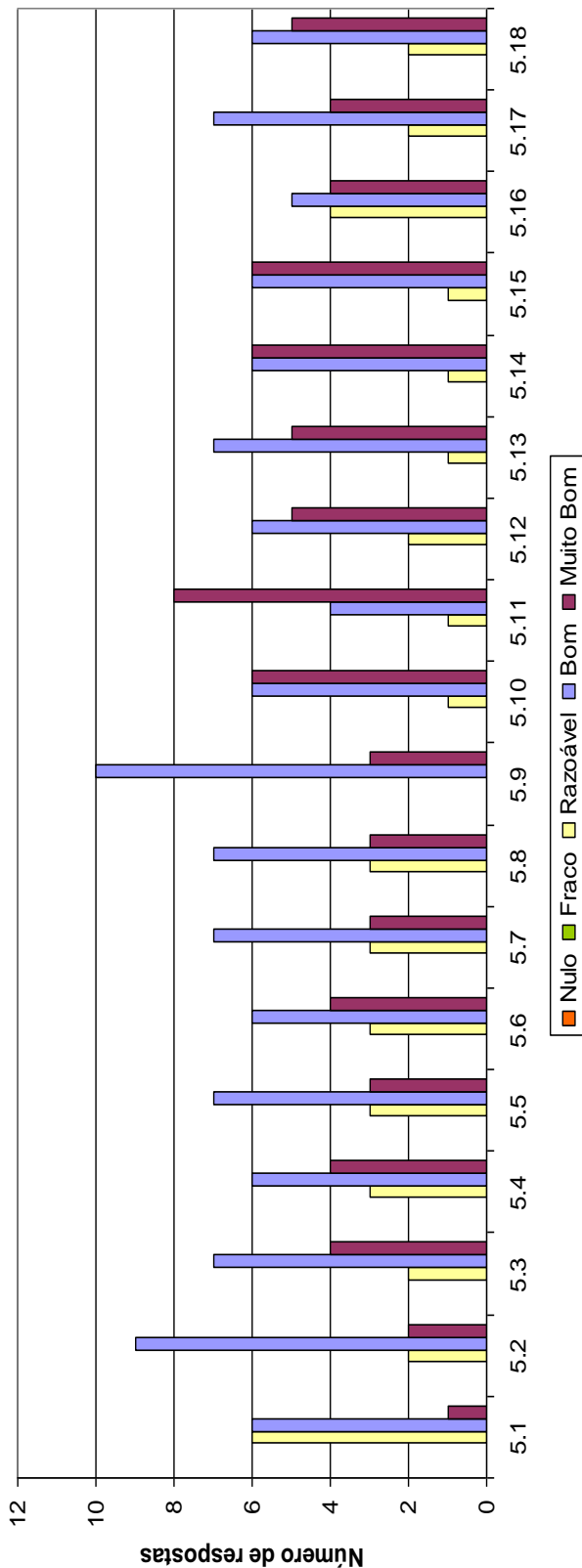
Para a “*execução de procedimentos*” as justificações apontadas pelos professores-formandos dizem respeito ao rigor e cuidados necessários no manuseamento de materiais, salientando-se a seguinte resposta: “*o procedimento apesar de simples exigiu destreza, concentração, rigor e controlo de intervalos de tempo, sem nunca descuidar as condições de assepsia*” (PF12).

Em suma, as maiores dificuldades surgiram na definição de questões de investigação, na formulação de hipóteses e no desenho experimental, como referiu o PF9: “*num trabalho investigativo de carácter aberto, como foi o caso, depois de definidos todos os aspectos que se pretendem estudar e os procedimentos a realizar, é fácil interpretar os resultados obtidos (...), as maiores dificuldades fazem-se sentir no percurso anterior à altura de efectuar discussões e conclusões*”.

A Figura 4.44 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 5** (avaliação do trabalho prático desenvolvido na OF relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, afectivos e de competências manipulativas).

Da análise dos diversos argumentos apresentados, verifica-se que nenhum dos objectivos foi avaliado pelos professores-formandos com *nulo* ou *fraco*, o que evidencia um elevado grau de consecução dos objectivos propostos e dos trabalhos desenvolvidos na OF. À excepção de “*ilustrar conceitos, confirmar teorias*”, predominam as classificações de *bom* e *muito bom*. Nos objectivos incluídos nos *argumentos predominantemente afectivos* e de *competências manipulativas*, a avaliação de *muito bom* foi mais frequente do que nos argumentos cognitivos.

Relativamente aos *argumentos predominantemente cognitivos* (5.1 a 5.10), os objectivos avaliados com *bom* que mais se destacaram, correspondem ao desenvolvimento de “*competências para formular questões*” (nove PF) e de “*competências para elaborar ideias e formular conclusões*” (dez PF). Os objectivos avaliados com *muito bom* por quatro professores-formandos correspondem aos seguintes: “*desenvolver competências para formular hipóteses e prever resultados*”, “*seleccionar e/ou elaborar novos procedimentos laboratoriais*” e “*desenvolver pensamento criativo*”. No entanto, “*compreender como se constrói conhecimento científico*” foi o mais conseguido dos objectivos incluídos nos argumentos cognitivos, avaliado com *muito bom* por maior número de professores-formandos (seis).



Legenda:

Argumentos predominantemente cognitivos:

- 5.1. Ilustrar conceitos, confirmar teorias.
- 5.2. Desenvolver competências para formular questões.
- 5.3. Desenvolver competências para formular hipóteses e prever resultados.
- 5.4. Seleccionar e/ou elaborar novos procedimentos laboratoriais.
- 5.5. Desenvolver competências para testar e validar ideias.
- 5.6. Desenvolver pensamento criativo.
- 5.7. Desenvolver competências para controlar variáveis.
- 5.8. Desenvolver competências para analisar dados e interpretar resultados.
- 5.9. Desenvolver competências para elaborar ideias e formular conclusões.
- 5.10. Compreender como se constrói conhecimento científico.

Argumentos predominantemente afectivos:

- 5.11. Promover interesse e gosto por aprender assuntos novos relevantes para ensinar ciências.
- 5.12. Apreciar oportunidades para reflectir sobre assuntos de ciências relevantes para as pessoas.
- 5.13. Desenvolver curiosidades sobre assuntos de ciências com implicações na vida das pessoas.
- 5.14. Apreciar a importância de desenvolver competências investigativas.
- 5.15. Apreciar a importância de proporcionar oportunidades para os alunos desenvolverem competências investigativas.

Argumentos centrados em competências manipulativas:

- 5.16. Desenvolver competências para manusear novos materiais de laboratório (equipamentos, biomateriais e reagentes).
- 5.17. Aplicar novas técnicas científicas.
- 5.18. Testar novos procedimentos laboratoriais.

Figura 4.44 – Avaliação do trabalho prático desenvolvido na OF relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, afectivos e de competências manipulativas.

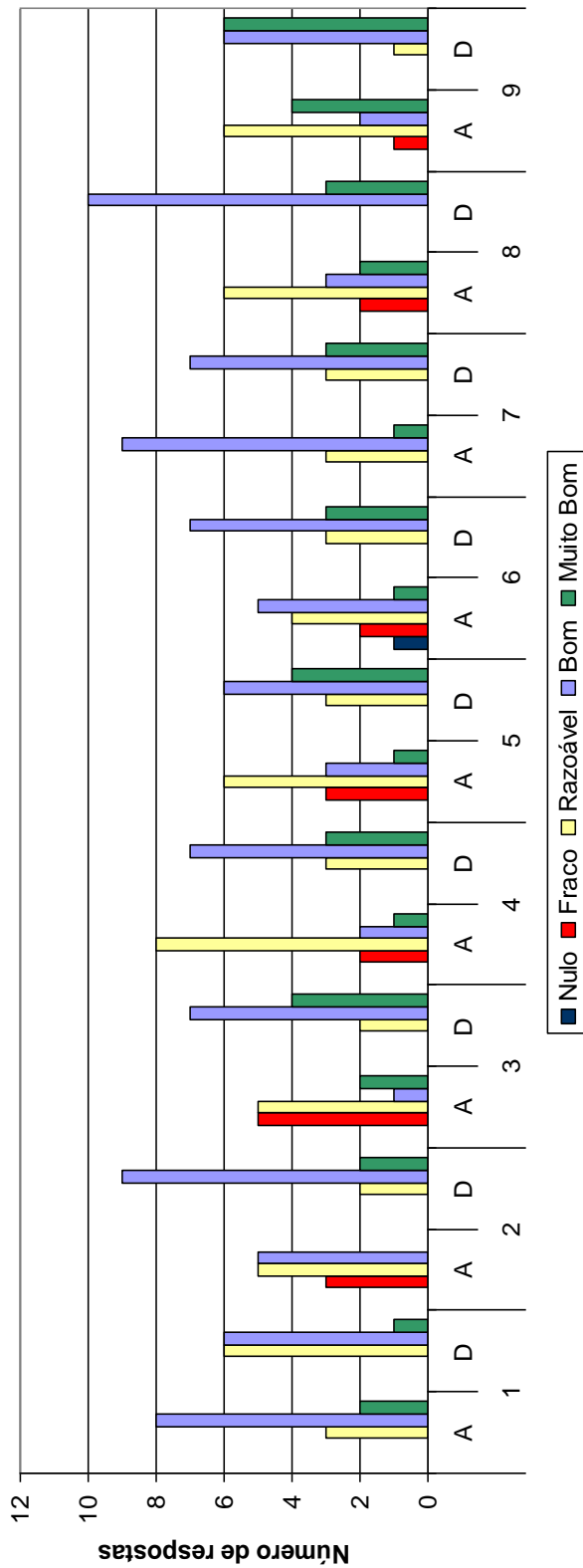
Nos *argumentos predominantemente afectivos* (5.11 a 5.15), em que o parâmetro *razoável* foi pouco escolhido, a maioria dos professores-formandos (oito) considerou que o trabalho prático promoveu “*interesse e gosto por aprender assuntos novos relevantes para ensinar ciências*”, não só pelo enquadramento dos contextos problemáticos em temáticas de biotecnologia socialmente relevantes, mas também pela própria inovação em trabalho prático. Os pontos de vista sobre a inovação de práticas estão implícitos nas respostas dos professores-formandos sobre a importância “*de desenvolver competências investigativas*” e “*de proporcionar oportunidades para os alunos desenvolverem competências investigativas*”, avaliados com *bom* e *muito bom* por seis professores-formandos.

Em relação aos *argumentos de competências manipulativas* (5.16 a 5.18), o objectivo mais conseguido foi “*testar novos procedimentos laboratoriais*”, avaliado com *bom* e *muito bom*, respectivamente por seis e cinco professores-formandos.

Considerando que nesta questão nove dos dez objectivos incluídos nos argumentos predominantemente cognitivos foram retirados do questionário de diagnóstico, procurou-se analisar os pontos de vista dos professores-formandos antes e após a OF, no sentido de verificar possíveis mudanças de opinião resultantes do trabalho prático desenvolvido. A Figura 4.45 mostra a avaliação do trabalho prático habitualmente desenvolvido nas aulas pelos professores-formandos, comparativamente com o realizado na OF, relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em *argumentos predominantemente cognitivos*. Da sua análise verifica-se que, em geral, houve uma melhoria no grau de consecução da quase totalidade dos objectivos apresentados. Assim, enquanto os parâmetros *nulo* e *fraco* não se verificaram após a OF e o parâmetro *razoável* diminuiu na maioria das respostas, aumentaram os objectivos avaliados com *bom* e *muito bom*.

Entre os objectivos que registaram melhorias consideráveis destacam-se:

- “*desenvolver competências para formular questões*”:
 - antes da OF: grau de consecução *fraco* (três PF), *razoável* e *bom* (cinco PF);
 - após a OF: predomínio do *bom* (nove PF) e dois professores-formandos avaliaram com *muito bom*;
- “*desenvolver competências para formular hipóteses e prever resultados*”:
 - antes da OF: predomínio dos parâmetros *fraco* e *razoável* (cinco PF);
 - após a OF: prevaleceu o *bom* (sete PF) e quatro professores-formandos consideraram *muito bom*;



A – Antes da Oficina de Formação; D – Depois da Oficina de Formação

Legenda:

Argumentos predominantemente cognitivos:

1. Ilustrar conceitos, confirmar teorias.
2. Desenvolver competências para formular questões.
3. Desenvolver competências para formular hipóteses e prever resultados.
4. Desenvolver competências para testar e validar ideias.
5. Desenvolver pensamento criativo.
6. Desenvolver competências para controlar variáveis.
7. Desenvolver competências para analisar dados e interpretar resultados.
8. Desenvolver competências para elaborar ideias e formular conclusões.
9. Compreender como se constrói conhecimento científico.

Figura 4.45 – Avaliação do trabalho prático relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, antes da OF (A) e depois da OF (D).

- “desenvolver competências para testar e validar ideias”, “desenvolver pensamento criativo” e “desenvolver competências para elaborar ideias e formular conclusões”:
 - antes da OF: predomínio do grau de consecução *razoável*;
 - após a OF: predomínio do *bom* e aumento de referências ao *muito bom* para estes objectivos;
- “desenvolver competências para controlar variáveis”:
 - antes da OF: este objectivo foi avaliado com menor grau de consecução – *nulo* (um PF), *fraco* (dois PF), *razoável* (quatro PF) e *bom* (cinco PF);
 - após a OF: predomínio do *bom* (sete PF) e três professores-formandos consideraram *muito bom*;
- “compreender como se constrói conhecimento científico”:
 - antes OF: predomínio do grau de consecução *razoável* (seis PF) e quatro professores-formandos avaliaram com *muito bom*;
 - após a OF: *bom* e *muito bom*, referidos por seis professores-formandos.

Conclui-se, pois, que a apropriação de metodologias científicas através do planeamento de percursos investigativos desenvolvidos a partir de problemas, que envolvem a formulação de hipóteses e previsões, o desenho de procedimentos e a sua implementação, e o confronto dos resultados com as previsões, constituem processos necessários à construção de conhecimento científico e que, de acordo com a avaliação dos professores-formandos, parece terem sido conseguidos.

Na Tabela 4.28 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 6** (vantagens e desvantagens da realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa).

Verifica-se que, em relação às vantagens, houve maior diversidade de respostas comparativamente com as desvantagens apontadas pelos professores-formandos. Entre as vantagens referidas destaca-se, com cinco respostas, o desenvolvimento da capacidade de formular e testar hipóteses, e validar ideias, como se exemplifica nas seguintes afirmações: “desenvolve a capacidade de formular hipóteses” (PF2) e “desenvolvimento de competências que permitam a formulação de hipóteses, testagem e validação de ideias” (PF5). Três professores-formandos mencionaram o desenvolvimento de competências para elaborar procedimentos e sua reformulação, como por exemplo: “desenvolver competências para elaborar novos procedimentos laboratoriais” (PF7) e “à medida que seguimos o nosso caminho investigativo e através de sucessos e erros

obtidos pode-se encontrar formas de melhorar o procedimento” (PF10). Outra vantagem, referida por três professores-formandos, relaciona-se com o facto desta modalidade de trabalho prático envolver maior participação dos alunos, transcrevendo-se, por exemplo, a seguinte resposta: “construção e aquisição do conhecimento de uma forma mais activa e participada (maior dinamismo)” (PF3). Foi também referido o desenvolvimento da capacidade crítica e de competências para resolver problemas, recolher informação e manusear material laboratorial. Verificou-se, ainda, que se considerou que esta abordagem de trabalho prático pode promover motivação e interesse, como expressaram os seguintes professores-formandos: “este tipo de trabalho é mais motivador e cativante para os alunos” (PF3) e “o facto de não se saber o resultado final, torna todo o processo mais motivante” (PF6).

Tabela 4.28 – Vantagens e desvantagens da realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa.

Categorias de respostas		Professores-formandos												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Vantagens	Desenvolve a capacidade de formular e testar hipóteses e validar ideias	X	X			X	X				X			
	Desenvolve a capacidade crítica		X											
	Desenvolve competências para resolver problemas			X	X									
	Desenvolve competências para recolher informação					X								
	Desenvolve competências para elaborar procedimentos e sua reformulação							X		X	X			
	Desenvolve competências para manusear material laboratorial												X	
	Centra-se nos alunos e permite construir conhecimento de forma activa e participada			X									X	X
	Permite aplicar conhecimentos teóricos	X										X		
	Permite compreender como se constrói conhecimento científico							X	X					
	Permite escolher a questão-foco que se pretende investigar									X				
	Envolve um percurso interessante e motivador			X			X							
Desvantagens	Requer muito tempo	X	X	X		X		X	X	X	X	X	X	X
	Requer materiais e equipamentos específicos para realizar procedimentos em biotecnologia		X	X		X	X	X		X	X		X	
	Requer conhecimentos de várias ciências				X									
	Requer autonomia para pesquisar							X						
	Acarreta preocupação quanto aos resultados				X					X		X		

No que diz respeito às desvantagens, onze professores-formandos referiram a necessidade de tempo para realizar este tipo de trabalho prático, transcrevendo-se, por

exemplo, as seguintes respostas: *“requer grande disponibilidade de tempo, o que pode ser limitante em contexto de sala de aula”* (PF2); *“normalmente este tipo de trabalho requer maior carga horária para a sua execução”* (PF5) e *“a morosidade dos percursos investigativos, não sendo possível, por vezes trabalhá-los durante o tempo estipulado, num contexto de sala de aula”* (PF7). A maioria dos professores-formandos (oito) referiu, ainda, como desvantagens aspectos específicos relacionados com os percursos investigativos realizados em temáticas de biotecnologia, relativamente à sua possível transposição para contextos escolares. Mencionaram as dificuldades em termos de materiais e equipamentos necessários ao desenvolvimento dos procedimentos elaborados e executados na OF, como se exemplifica nas seguintes respostas: *“alguns procedimentos podem implicar gastos difíceis de comportar por algumas escolas”* (PF2); *“certas técnicas exigem equipamentos e materiais nem sempre disponíveis nas escolas”* (PF3) e *“a utilização de material de laboratório é muito específica e a maioria das escolas não o possui”* (PF7). Três professores-formandos referiram como desvantagem a preocupação quanto aos resultados, o que, mais uma vez, reforça a necessidade que sentem de conhecer os resultados antecipadamente para que os alunos possam chegar à *resposta certa*. Mencionaram, por exemplo: *“obtenção de resultados controversos”* (PF4); *“incerteza quanto aos resultados”* (PF9) e *“muitas possibilidades de não resultar”* (PF11).

Na Tabela 4.29 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 7** (avaliação da OF: aspectos positivos e negativos).

Entre os aspectos positivos mencionados pelos professores-formandos destaca-se, com cinco respostas, o desenvolvimento de competências para realizar percursos investigativos, transcrevendo-se, por exemplo, as seguintes afirmações: *“o grande aspecto positivo foi o facto de permitir desenvolver competências relacionadas com a planificação e desenvolvimento de percursos investigativos para o ensino das ciências”* (PF5); *“tivemos oportunidade de experimentar um processo investigativo do início ao fim (...) a duração da acção permitiu a reformulação de aspectos menos positivos do trabalho”* (PF9) e *“tivemos oportunidade de elaborar por nós próprios o percurso investigativo”* (PF10). O desenvolvimento de competências na utilização de novos materiais e na aplicação de novas técnicas laboratoriais foi referido por quatro professores-formandos, como exemplificam as respostas: *“permitiu a aquisição de competências ao nível da manipulação de instrumentos laboratoriais usados em*

biotecnologia” (PF2); “*permitiu-nos trabalhar com técnicas pouco usuais em escolas*” (PF10) e “*foi positivo contactar com materiais nunca antes utilizados, assim como novas técnicas e novas maneiras de as apresentar aos alunos*” (PF11).

Tabela 4.29 – Avaliação da OF: aspectos positivos e negativos.

Categorias de respostas		Professores-formandos												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Aspectos positivos	Desenvolvimento de competências na utilização de novos materiais e na aplicação de novas técnicas laboratoriais		X						X		X	X		
	Aumento de conhecimentos em biotecnologia	X												
	A reflexão sobre a importância do trabalho prático em ensino de ciências			X										
	Desenvolvimento de competências para realizar percursos investigativos				X	X			X	X	X			
	Os objectivos propostos foram atingidos						X						X	X
	Desenvolvimento de diversos temas em biotecnologia							X						
Aspectos negativos	Multiplicidade de trabalhos a realizar nas sessões presenciais					X		X				X		
	Longa duração e/ou extensa carga horária semanal	X	X	X	X	X		X						
	Os tempos de execução de certos procedimentos não coincidirem com a calendarização das sessões									X				
	Calendarização da OF										X			
	Dificuldade em obter os resultados previstos em tempo real												X	X

Os aspectos negativos relacionam-se principalmente com a multiplicidade de trabalhos a realizar nas sessões presenciais (referido por três PF) e com a longa duração e/ou extensa carga horária semanal (referido por seis PF). No que diz respeito ao primeiro aspecto, um professor-formando referiu: “*as sessões foram muito intensivas e, ao final do dia, tornaram-se muito cansativas*” (PF11)“. Relativamente ao segundo aspecto, referiram o seguinte: “*carga horária semanal difícil de comportar por professores com horário completo*” (PF2); “*o elevado número de horas desta formação dificulta a conciliação com a carga horária da profissão docente (e com a vida familiar)*” (PF3); “*oficina de formação com muitas horas (contudo, e devido à natureza do trabalho a desenvolver (...)) o nº de horas justifica-se*” (PF4) e “*o facto do horário ser tão intensivo e a acção ter que decorrer a horas menos próprias para quem passou um dia inteiro a trabalhar na escola*” (PF5). Dois professores-formandos salientaram a dificuldade em obter os resultados previstos em tempo real, uma vez que o grupo que desenvolveu trabalhos em cultura *in vitro* (pela duração da OF e devido à resposta dos explantes de

couve-flor ao meio de cultura) não teve oportunidade de obter a totalidade dos dados esperados, pelo que discutiram os resultados a partir de dados disponibilizados pela investigadora-formadora. Finalmente, um professor-formando salientou a calendarização da OF ao referir: “*como aspecto negativo realço apenas a altura em que a acção decorreu (final do 2º período + 3º período) (...) sugestão: deverá iniciar-se uma acção semelhante logo no início do ano lectivo, uma vez que poderá proporcionar a aplicação da mesma, com os alunos, durante os 2º e 3º períodos*” (PF10). Esta resposta constitui uma evidência muito positiva relativamente ao interesse em desenvolver percursos investigativos com alunos, o que reforça o desejo de inovar práticas, e de as implementar em contextos escolares.

A Figura 4.46 mostra as respostas dos professores-formandos à **questão 8** (grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na OF). Verifica-se que a maioria dos professores-formandos (62%) referiu estar *satisfeito* com o percurso investigativo realizado, além de uma certa percentagem (38%) manifestar-se *muito satisfeita*. Nenhum professor-formando se manifestou *insatisfeito* ou *pouco satisfeito*, o que evidencia uma avaliação muito positiva dos trabalhos desenvolvidos na OF.

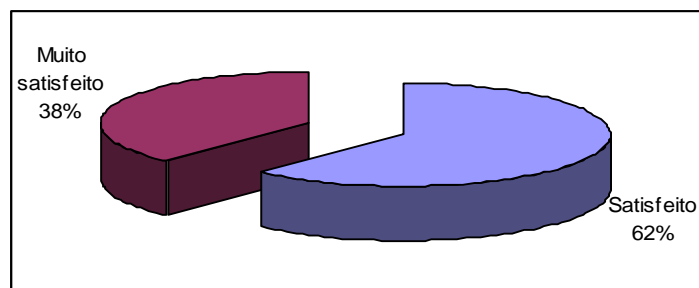


Figura 4.46 – Grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na OF.

Tal como em questões anteriores (e.g. questionário de diagnóstico), os professores-formandos, além de assinalarem o grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na OF, justificaram as suas respostas (**questão 8.1**). A Tabela 4.30 mostra as categorias elaboradas de acordo com as justificações apresentadas nas respostas.

Entre as justificações referidas pelos professores-formandos para a maior satisfação destaca-se, com três respostas, o desenvolvimento de percursos investigativos interessantes, como se exemplifica nas seguintes afirmações: “*a opção c [satisfeito] reflecte a satisfação pela realização de um percurso investigativo interessante*” (PF2) e “*tive a oportunidade de desenvolver um percurso investigativo numa área que me era bastante desconhecida e pela qual eu não tinha grande interesse, à partida. É um tipo de*

trabalho que nos envolve e que nos faz gostar cada vez mais daquilo que estamos a fazer” (PF9). Igualmente, três professores-formandos consideraram que o percurso investigativo realizado contribuiu para os sensibilizar para inovar práticas em sala de aula, como exemplificam as seguintes respostas: “este tipo de acções enriquecem-nos, na medida em que nos levam a tentar aplicar novas estratégias na actividade docente e até na nossa vivência quotidiana. Colocar novas questões sobre velhos e novos temas, reflectir sobre os problemas e tentar encontrar novas soluções é sempre um desafio motivante” (PF3) e “fiquei bastante sensibilizada para a aplicação do percurso investigativo com os alunos. Penso que esta Oficina de Formação serviu para “abrir” horizontes em relação ao percurso investigativo e sua importância para o desenvolvimento de competências nas áreas do saber fazer” (PF6). O mesmo número de professores-formandos referiu a pertinência dos trabalhos desenvolvidos e a sua aplicabilidade nas práticas lectivas dos currículos de Biologia/Geologia e de Biologia. Referiram, por exemplo: “a avaliação é bastante positiva uma vez que os trabalhos desenvolvidos pelos grupos revelaram-se bastante interessantes e pertinentes no âmbito da formação e com grande aplicabilidade nas práticas lectivas dos currículos de BG [Biologia e Geologia] e Biologia” (PF12) e “os trabalhos desenvolvidos revelam-se pertinentes no âmbito da formação e com grande aplicabilidade nas práticas lectivas de Biologia e Geologia (10º e 11º) e de Biologia (12º). Por outro lado, muitos dos trabalhos desenvolvidos podem integrar um projecto no âmbito da Área de Projecto” (PF13).

Tabela 4.30 – Justificações do grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na OF.

Categorias de respostas		Professores-formandos												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Maior satisfação	Os objectivos propostos foram atingidos	X											X	
	Desenvolveram-se percursos investigativos interessantes		X		X					X				
	Sensibilização para inovar práticas em sala de aula			X			X	X						
	A pertinência dos trabalhos desenvolvidos e a sua aplicabilidade nas práticas lectivas dos currículos de Biologia/Geologia e de Biologia										X		X	X
	O carácter prático da OF										X			
	Aprendizagem de novas técnicas laboratoriais											X		
	A partilha de experiências entre formandos												X	
Menor satisfação	Limitações de percursos investigativos possíveis face ao contexto problemático seleccionado		X											
	Tempo: dificuldade em conciliar interesses pessoais e profissionais			X										
	O conhecimento prévio do processo envolvido no trabalho laboratorial realizado					X			X					

Como justificações para a menor satisfação, dois professores-formandos referiram o conhecimento prévio do processo envolvido no trabalho laboratorial realizado (fermentação alcoólica). A seguinte afirmação ilustra este aspecto: *“não referi muito satisfeito pelo simples facto da actividade desenvolvida [produção de bioteno] pelo grupo a que pertencia já ser por mim conhecida. Este facto permitiu ter uma ideia prévia do decorrer do processo e dos resultados a obter”* (PF5).

Na Tabela 4.31 apresentam-se as categorias que se definiram para as respostas dos professores-formandos à **questão 9** (apreciação crítica do desempenho da formadora).

Tabela 4.31 – Avaliação crítica do desempenho da formadora.

Categorias de respostas	Professores-formandos												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Acompanhamento adequado durante o desenvolvimento dos percursos investigativos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
A organização das sessões de formação		X	X	X								X	X
Segurança manifestada pela formadora e o domínio de conhecimentos conceptuais e processuais					X			X	X	X	X		
Acessível e clara nas intervenções							X						
Apresentou uma postura simpática e promoveu o espírito de interajuda											X		

A totalidade dos professores-formandos considerou o desempenho da formadora adequado durante o desenvolvimento dos percursos investigativos. Referiram, por exemplo: *“a formadora revelou um desempenho muito positivo (...) nas relações estabelecidas com os formandos, tendo em vista o auxílio na construção do percurso investigativo destes”* (PF2); *“a formadora desdobrou-se no apoio aos diversos grupos. O facto de cada um estar, ao mesmo tempo, a desenvolver diferentes investigações dificultou-lhe a tarefa, contudo, e pela maturidade dos formandos, esse aspecto não foi condicionante para o bom decorrer da acção”* (PF5); *“a formadora conseguiu interagir com os formandos. Mesmo trabalhando com vários grupos conseguiu acompanhar os diferentes trabalhos, nas suas diversas etapas, esclarecendo sempre as dúvidas que foram surgindo”* (PF6); *“a formadora esteve sempre disponível, em qualquer horário, mesmo fora das sessões de trabalho, para nos auxiliar no nosso percurso investigativo”* (PF9) e *“(...) prestou um incondicional apoio no desenvolvimento de técnicas e procedimentos, para que os resultados fossem os melhores; auxiliou na elaboração do*

protocolo, na definição das diferentes etapas do trabalho, na selecção de materiais e reagentes adequados e na análise dos resultados” (PF13). Cinco professores-formandos referiram-se ao desempenho da formadora na organização das sessões de formação, como se exemplifica nas seguintes respostas: “necessitou ainda de grande capacidade de organização para poder acompanhar a diversidade de temas e técnicas abordadas nesta acção” (PF3) e “a formadora teve um cuidado extremo na preparação e organização de todo o material a distribuir aos formandos dos vários grupos de trabalho” (PF13). Igualmente, cinco professores-formandos assinalaram a segurança manifestada pela formadora durante a realização dos trabalhos e o domínio de conhecimentos conceptuais e processuais. Referiram, por exemplo: “pareceu-me bem informada em termos científicos e com competências ao nível do domínio das diferentes técnicas e procedimentos exigidos pelos diferentes trabalhos” (PF5) e “a formadora manteve-se sempre muito segura em termos pedagógicos/científicos” (PF8). Além do exposto, dois professores-formandos referiram: “muito acessível, pertinente e clara nas intervenções” (PF8) e “apresentou uma postura simpática, tendo promovido o espírito de interajuda” (PF11).

4.3.3.2. ANÁLISE DOS RELATÓRIOS CRÍTICOS

As respostas dos professores-formandos para, após a OF elaborarem um *Relatório Crítico*, apresentam-se no Apêndice 8. De acordo com as opiniões expressas, as potencialidades educativas e formativas que mais se destacaram correspondem à vivência dos percursos investigativos planeados e implementados na OF. Na sua apreciação destaca-se a ideia de que os trabalhos práticos (laboratoriais e experimentais) desenvolvidos foram de natureza diferente dos que habitualmente realizam nas aulas, por não se enquadrarem nas novas perspectivas de educação em ciências, que valorizam o trabalho prático como uma via investigativa e centrado nos alunos. Dois professores-formandos referiram:

- *“Na maioria das vezes, apenas desenvolvemos trabalho prático de carácter demonstrativo e muito pouco centrado nos alunos. Ora, temos a perfeita noção que o trabalho prático é um recurso didáctico de grande valor, desde que centrado no aluno, isto é, em que esteja activamente envolvido. Neste contexto (...) é muito importante e necessário a implementação de trabalho prático investigativo. Temos a perfeita noção que raramente se recorre a este”;*

- *“Actualmente, as actividades realizadas na sala de aula com os alunos são centradas no professor, que faz actividades de demonstração e verificação da parte experimental, para ajudar na aprendizagem de conceitos e termos, centrando-se no seguimento de etapas dos protocolos com vista a obter respostas certas. Assim, os alunos limitam-se à execução do protocolo experimental fornecido pelo professor”.*

Esta formação proporcionou, igualmente, oportunidades de reflexão sobre o trabalho laboratorial e experimental habitualmente realizado nas aulas e uma nova forma de olhar para o trabalho prático, conducente à necessidade de mudanças de práticas. Quatro professores-formandos referiram:

- *“Torna-se necessário que nós professores mudemos as nossas práticas pedagógicas e que finalmente proporcionemos aos nossos alunos vias que lhes permitam de futuro, a resolução de problemas e o desenvolvimento de espírito crítico. Ora, o trabalho desenvolvido nesta Oficina de Formação veio de encontro a essa necessidade de mudança e portanto foi de grande pertinência e, quanto a mim, muito interessante”;*
- *“[Esta OF] coloca-nos novamente na posição de discentes/aprendizes, fazendo-nos reflectir sobre as práticas docentes e sobre a relação professor/aluno”;*
- *“Esta formação veio permitir (...) uma nova perspectiva em termos de planificação de trabalho laboratorial/experimental em contexto de sala de aula”;*
- *“Esta Oficina de Formação foi de grande interesse já que deu a conhecer novas práticas laboratoriais, assim como novas abordagens pedagógicas para as mesmas”.*

As potencialidades de trabalho prático numa perspectiva investigativa, em termos de mobilização de competências de natureza conceptual e processual, de desenvolvimento cognitivo, designadamente em termos de raciocínio e de pensamento crítico e criativo, e de melhoria da compreensão da natureza das ciências e da actividade científica, foram aspectos que os professores-formandos, mais ou menos explicitamente, referiram nos relatórios, como se ilustra:

- *“[Trabalho prático investigativo] é um percurso pedagógico que proporciona aos alunos a compreensão de problemas e a definição e avaliação de estratégias. É uma via educativa que não descarta as concepções dos alunos e que lhes permite reconhecer e construir novas concepções. Julgo que, acima de tudo, um percurso investigativo é um trabalho que envolve variadíssimas competências, entre as quais, o raciocínio, a organização, a reflexão e o espírito crítico. O percurso investigativo que realizámos exercitou-nos nesse mesmo sentido, desenvolvemos o raciocínio, reflectimos, procedemos à análise dos pontos fortes e fracos do trabalho e acima de tudo,*

terminámos com a certeza de que muito mais poderia ser feito e que este, apenas abriu a porta para inúmeros caminhos”;

- *“O trabalho no âmbito da Biotecnologia desenvolvido com esta Oficina de Formação é muito interessante para alunos e professores dada a sua natureza investigativa que permite a construção de um conhecimento fundamentado pela experimentação. Todo o desenvolvimento do trabalho prático com este nível de abertura, em que se pede aos alunos a definição do problema a estudar, a elaboração da questão-foco e das hipóteses a testar, a construção de um procedimento experimental e sua eventual reformulação tendo por base os resultados obtidos, é de uma grande pertinência pois permite desenvolver a autonomia e o espírito crítico, bem como outras competências que se relacionam com [a] construção do Conhecimento Científico”;*
- *“Desenvolveram-se actividades práticas/trabalho laboratorial/percurso investigativo com um maior grau de abertura, de modo a promover as nossas aprendizagens, permitindo atingir os objectivos relacionados com a metodologia científica, bem como a promoção de capacidades de pensamento, nomeadamente o pensamento crítico e criativo”;*
- *“[O percurso investigativo referente à micropropagação de couve-flor contribuiu] para a promoção de competências e capacidades de manuseamento de material biológico, desenvolvimento de investigações através da elaboração e teste de hipóteses e desenvolvimento de um espírito investigativo e não a simples execução do protocolo experimental”.*

Relativamente a ganhos, a nível profissional e/ou pessoal, o enriquecimento em conhecimentos científico-tecnológicos em biotecnologia e o desenvolvimento de competências específicas (disciplinares, didácticas e técnicas) necessárias à implementação de actividades práticas (experimentais e laboratoriais) numa perspectiva investigativa, em contextos escolares, com recurso a procedimentos em biotecnologia, foram igualmente referidos por professores-formandos nos relatórios. Referiram, por exemplo:

- *“Esta Oficina de Formação constituiu uma mais valia a nível profissional, tanto na vertente científica como na pedagógica. Permitiu adquirir e ampliar conhecimentos no domínio da Biotecnologia, desenvolver competências práticas que serão a pedra basilar de futuros trabalhos de natureza investigativa a desenvolver com os alunos, (...) aperfeiçoar o processo de ensino-aprendizagem e a promover nos alunos a construção de aprendizagens significativas”;*
- *“Esta formação veio permitir desenvolver novas competências na manipulação de aparelhos utilizados em Biotecnologia”;*

- *“Em termos pessoais, esta acção permitiu uma actualização ao nível de uma área do saber em constante evolução [biotecnologia]. Em termos profissionais constituiu uma oportunidade para a aquisição de competências com aplicabilidade directa na prática lectiva”;*
- *“Durante esta actividade prática [detecção de bactérias do solo produtoras de antibióticos], e perante um problema, consegui aplicar alguns conhecimentos já adquiridos e receber outros, assim como novas experiências. Permitiu-me, igualmente, aprender a desenvolver (...) competências para enfrentar e resolver problemas”;*
- *“Associado a outros conhecimentos adquiridos no decorrer da acção de formação, considero que adquiri e reavivei competências que muito me enriqueceram quer do ponto de vista pessoal, quer profissional”;*
- *“O percurso investigativo foi difícil de definir mas considero-o bastante interessante, tanto na forma como decorreu a investigação assim como em relação à panóplia de técnicas de Microbiologia que pudemos utilizar”;*
- *“Considero que este modelo de formação foi extremamente bem desenvolvido (...) contribuindo para um acréscimo ao interesse que despertava por si só a temática a tratar [biotecnologia]. Pela possibilidade que deu aos formandos para o desenvolvimento de novas e/ou antigas capacidades investigativas”.*

O tempo e o envolvimento necessários na planificação e implementação de percursos investigativos constituem obstáculos à sua realização nas escolas. Como forma de superar as dificuldades em termos de tempo, face às exigências de cumprimento dos programas disciplinares, alguns professores-formandos sugeriram a aplicabilidade desta nova abordagem de trabalho prático na disciplina de Área de Projecto. Referiram, por exemplo:

- *“Na prática, face à carga lectiva semanal das disciplinas e à extensão dos programas curriculares a cumprir, nem sempre será exequível um trabalho desta natureza, devido ao tempo que requer e à disponibilidade e envolvimento que exige dos alunos. É contudo possível articular este trabalho com outras disciplinas além das Ciências Naturais ou Biologia, desenvolvendo-o em Área de Projecto ao longo do ano lectivo”;*
- *“Os trabalhos realizados durante a Oficina de Formação tiveram percursos investigativos muito morosos e com limite temporal, o que muitas vezes se torna inviável aplicar num contexto de sala aula, no tempo estipulado para a mesma”;*
- *“A área curricular não disciplinar “Área de Projecto” será o espaço, por excelência, de implementação do que foi aprendido durante as 50 horas de duração do curso, isto porque qualquer actividade investigativa de cariz experimental requer muitas horas de*

planificação e de reformulação do processo investigativo, o que será de mais difícil execução em disciplinas sujeitas a conteúdos curriculares mais ou menos rígidos, como é o caso da disciplina de Biologia do 12º ano”;

- *“Poderá ser desenvolvida no âmbito de um projecto de Área de Projecto ou ser enquadrada ao nível do currículo de Biologia do 12º ano”;*
- *“A nova disciplina de Área de Projecto poderá permitir a reunião de condições, nomeadamente temporais, favoráveis ao desenvolvimento das actividades exploradas durante a acção”.*

Os professores-formandos, dependendo do percurso investigativo desenvolvido, salientaram a aplicabilidade às práticas lectivas das actividades laboratoriais e experimentais realizadas. Referiram, por exemplo:

- *“Relativamente à actividade desenvolvida pelo meu grupo de trabalho – Produção de Bioetanol – ela não poderia ser mais pertinente nem de tão fácil aplicabilidade. Com efeito, o curto período de tempo necessário ao seu desenvolvimento e a simplicidade de materiais e técnicas utilizadas, constituem motivos suficientes para que se considere muito fácil a sua aplicação em contexto lectivo”;*
- *“O percurso investigativo com bactérias do solo revelou-se uma agradável surpresa uma vez que nos “inundou” com trabalho laboratorial tão importante para desenferujar a destreza manual e permitiu uma fácil observação de resultados e verificação da hipótese testada. É o tipo de trabalho que qualquer aluno poderá realizar. Não deixa de ser impressionante o grau de assepsia que se atingiu a trabalhar num ambiente não esterilizado, apenas numa bancada desinfectada e próximo da chama de uma lamparina. Este facto será o garante de que trabalhos desta natureza poderão ser desenvolvidos em sala de aula, almejando resultados bastante satisfatórios”;*
- *“A actividade [produção de bioetanol] que o grupo, ao qual pertencia desenvolveu, faz parte de uma unidade programática específica, o que ilustra perfeitamente a sua aplicabilidade nas actividades lectivas correntes. Considero muito interessante e inovador este percurso investigativo, que acredito ter aplicabilidade imediata nas actividades lectivas”;*
- *“Com as necessárias adaptações, muito do que foi feito durante a Oficina poderá ser implementado numa aula prática do ensino básico ou secundário, contribuindo na motivação para a aprendizagem das ciências, pelos alunos”.*

A importância da abordagem de situações-problema de relevância social, que integrem inter-relações CTS na formação científica dos cidadãos, para o exercício de

uma cidadania responsável e esclarecida, foram aspectos referidos por dois professores-formandos:

- *“Outro ganho a nível profissional foi o estímulo que esta oficina concedeu no ensino da Ciência numa perspectiva CTS (Ciência-Tecnologia-Sociedade), uma vez que todas as problemáticas abordadas se encaixam perfeitamente nesse contexto, o qual é essencial para a formação científica dos cidadãos”;*
- *“A abordagem de temas bastante actuais, e muitas vezes polémicos, fez com que esta Oficina de Formação mantivesse um elevado nível de interesse. No entanto, esta perspectiva também interessa ao cidadão comum para que possa exercer a sua cidadania de uma forma esclarecida e responsável, nomeadamente no que diz respeito à produção e utilização de combustíveis alternativos (bioetanol, por exemplo), aos riscos e/ou vantagens associados aos Organismos Geneticamente Modificados bem como às potencialidades de novas técnicas laboratoriais que possam, de algum modo, influenciar/melhorar a sua qualidade de vida”.*

Verificou-se, também, que quatro professores-formandos salientaram a importância e pertinência da construção de Vês de Gowin na realização de percursos investigativos:

- *“A elaboração do V de Gowin constitui uma metodologia muito importante no ensino das ciências, a qual pode e deve fazer parte de percursos investigativos”;*
- *“A utilização do V de Construção de Conhecimento na elaboração de relatórios durante o desenvolvimento de uma actividade prática foi outro conhecimento adquirido da maior importância para um desempenho melhorado na actividade de formador”;*
- *“Vê de Gowin (...) é um instrumento que se adapta fielmente às características inerentes às actividades experimentais. Os elementos que compõem o Vê interactivam de modo a estruturar todo o conhecimento e trabalho desenvolvido”;*
- *“O recurso a Vês de Gowin revelou-se bastante mais produtivo do que inicialmente supunha. Fiquei ainda com uma perspectiva mais abrangente sobre as possibilidades de utilização desta ferramenta em diferentes situações”.*

A predisposição para a implementação de trabalho prático numa perspectiva investigativa, designadamente em relação ao desenho experimental, foi um aspecto que, por iniciativa própria, um dos professores-formandos desenvolveu com os seus alunos no decorrer da OF e que, de algum modo, evidencia a vontade e intenção de mudança de práticas. A este propósito referiu:

- *“Os ganhos a nível profissional são o reflexo dos ganhos a nível pessoal. Maior abertura e à vontade para a implementação de trabalho prático experimental e até interesse e vontade de o colocar em prática nas aulas. Tendo em conta o trabalho que*

estávamos a realizar na Oficina de Formação, sugeri numa das aulas, que os meus alunos a propósito de uns resultados apresentados no manual adoptado sobre o movimento da água através da membrana celular em hemácias, construísem um procedimento laboratorial para a verificação desses mesmos resultados. Foi numa primeira fase, uma estratégia que lhes proporcionou uma reflexão sobre a maneira de alcançar tais resultados, e portanto, constituiu um passo importante para a delineação de possíveis procedimentos a ter em conta num trabalho investigativo que realizem de futuro”.

Os professores-formandos expressaram opiniões muito favoráveis em relação à forma como as actividades propostas foram estruturadas que, tendo correspondido a ferramentas orientadoras do trabalho a realizar, contribuíram decisivamente para que os objectivos definidos para a OF fossem atingidos. Referiram, por exemplo:

- *“No meu ponto de vista, estas actividades (actividades 3, 4 e 5 realizadas na OF) constituíram patamares no percurso investigativo. Fomos estruturando o nosso trabalho de forma objectiva e organizada, onde tudo estava delineado, as estratégias estavam definidas, e sabíamos perfeitamente bem onde queríamos chegar, mesmo sem termos noção de qual ou quais seriam as respostas para a questão problema”;*
- *“As actividades propostas foram sempre pertinentes e devidamente fundamentadas, com base no trabalho que cada grupo estava a desenvolver. Foram verdadeiras ferramentas orientadoras que contribuíram inequivocamente para a consecução dos objectivos [da OF]”;*
- *“No que respeita às actividades propostas ao longo da oficina de formação, elas foram muito úteis uma vez que foram um fio condutor de todo o trabalho desenvolvido, fazendo com que os formandos nunca se sentissem perdidos e fossem orientados na prossecução do seu trabalho”;*
- *“As várias actividades propostas seguiram uma sequência lógica e perfeitamente adequada às competências que se pretendiam desenvolver”;*
- *“O facto das actividades propostas ao longo da Oficina de formação serem diversificadas permitiram torná-la mais dinâmica. Esse aspecto potenciou o intercâmbio de conhecimentos e ideias entre os grupos, que abordaram temas diferentes e todos interessantes”.*

O reconhecimento de processos interactivos e dialécticos entre teoria e prática durante os percursos investigativos, designadamente em relação às reformulações consideradas necessárias ao seu prosseguimento, e a possibilidade de novas

investigações a partir de outras questões, foram aspectos que alguns professores-formandos mencionaram:

- *“Aplicando a metodologia do V de Gowin, o percurso de investigação foi tomando forma, com avanços e recuos durante o processo, até se conseguir a elaboração da metodologia mais adequada para responder à questão-foco”;*
- *“Com a orientação da formadora fomos avançando de um modo relativamente rápido para a obtenção de resultados, mas muitas questões ficaram ainda por responder. Estas questões poderiam vir a constituir novos percursos investigativos que viessem depois reforçar ou refutar as hipóteses e resultados associados a esta nossa pequena investigação”;*
- *“Realço o facto de que a questão inicialmente formulada, poderá não ser a questão para a qual iremos em busca de respostas, uma vez que um percurso investigativo é aberto e flexível. No decorrer do mesmo pode surgir a necessidade de reformular a questão problema, como foi o nosso caso, e até outras questões poderão ser formuladas, ficando estas associadas à questão inicial”;*
- *“O percurso que realizámos permitiu-nos o reconhecimento de que nem sempre todas as situações são previstas pelo que, por vezes, é necessário repetir procedimentos ou alterar determinados percursos seguidos. Foi exactamente isto que aconteceu com o nosso grupo, já que uma má escolha em termos do intervalo de tempo entre cada registo de dados obrigou à repetição da actividade”.*

No que diz respeito a sugestões de alteração, caso esta OF venha a realizar-se de novo, os professores-formandos foram unânimes em considerar que as sessões de formação deveriam ser mais espaçadas, além de que deveria iniciar-se no 1º período para que pudessem testar a sua aplicabilidade com alunos. Referiram, por exemplo:

- *“Será mais conveniente o espaçamento temporal da acção de modo a que a carga horária fique restringida a um bloco de 3 horas por semana. De resto, penso que a acção está muito bem estruturada e os futuros formandos só terão a ganhar em termos pessoais e profissionais com a sua frequência”;*
- *“Sugiro que o tempo de formação semanal seja reduzido, mesmo que isso pressuponha um período de formação mais alargado. Isto porque, é muito complicado gerir a vida profissional e pessoal com a formação, ainda para mais, tendo em conta o trabalho e nível de empenho a ter em conta na mesma”;*
- *“Esta Oficina poderia funcionar logo no início do ano lectivo (até final do 1º período), para se poder testar a sua aplicabilidade junto dos alunos nos períodos seguintes”.*

CAPÍTULO 5

CONCLUSÕES

5.1. INTRODUÇÃO

Neste capítulo apresentam-se as conclusões (5.2) resultantes da investigação descrita nesta dissertação, referentes aos trabalhos práticos em biotecnologia (5.2.1), designadamente em relação às actividades laboratoriais e experimentais realizadas (5.2.1.1) e à sua exequibilidade nas escolas portuguesas (5.2.1.2). Apresentam-se igualmente as conclusões da Oficina de Formação (5.2.2), relativamente ao impacto em concepções dos professores-formandos sobre trabalho prático (5.2.2.1) e à avaliação do trabalho realizado (5.2.2.2). Referem-se as limitações da investigação (5.3), as implicações educacionais (5.4) e apresentam-se propostas para futuras investigações (5.5).

5.2. CONCLUSÕES

5.2.1. CONCLUSÕES REFERENTES AOS TRABALHOS PRÁTICOS EM BIOTECNOLOGIA

5.2.1.1. ACTIVIDADES LABORATORIAIS E EXPERIMENTAIS EM BIOTECNOLOGIA

No que diz respeito às actividades de cultura *in vitro* de plantas, para ambas as espécies concluíram-se com sucesso todas as fases da micropropagação. Apesar da couve-flor e da violeta africana, quando estabelecidas *in vitro*, originarem muitos rebentos que facilmente enraizaram, originando plântulas com grande capacidade de sobrevivência durante a aclimatização, a couve-flor permitiu obter melhores resultados pelas seguintes razões: a) maior número de explantes sem infecções; b) melhor resposta dos explantes ao meio de indução; c) maior taxa de crescimento, verificando-se nos primeiros quinze dias, o aumento do tamanho dos explantes e o aparecimento de folhas; d) obtenção de plântulas para aclimatização em nove semanas; e) apenas requer a utilização de cinetina para a indução de rebentos, não sendo necessário qualquer regulador de crescimento para promover o seu enraizamento; f) as cinco fases de um ciclo completo de micropropagação ocorreram em menos tempo. Conclui-se, pois, que corresponde ao material biológico adequado, para em contextos escolares do ensino secundário, ajudar os alunos a compreender as fases envolvidas na micropropagação de

plantas, através de técnicas de cultura *in vitro*. Relativamente aos ensaios em que se substituiu o meio MS por *adubo líquido universal KB*[®], aos quais se adicionaram reguladores de crescimento (auxinas e/ou citocininas), os resultados não se revelaram adequados na micropropagação da couve-flor, mas permitiram a indução de rebentos de violeta africana (com BAP – 2 mg/L e IBA – 0,5 mg/L), embora com menor taxa de resposta. Por outro lado, este meio com adição de cinetina revelou-se muito eficaz na multiplicação de rebentos de violeta africana (estabelecidos *in vitro*), verificando-se também uma curva de crescimento com as fases lag e exponencial/linear, embora com crescimento menor comparativamente com o obtido no meio MS, com BAP (2 mg/L) e IBA (0,5 mg/L).

Quanto aos procedimentos realizados para extrair DNA de células vegetais, sobretudo para aqueles em que posteriormente as amostras foram submetidas a electroforese, os reagentes utilizados não foram os que normalmente fazem parte dos laboratórios de investigação (quando se pretende extrair DNA de forma pura), mas sim adequados em termos económicos e relativamente inócuos para serem manipulados por alunos nos laboratórios escolares. Por conseguinte, salientam-se os bons resultados obtidos em função dos reagentes utilizados, sobretudo para o gérmen de trigo, por ter sido o material vegetal no qual se observaram as bandas de DNA mais visíveis, nítidas e espessas, o que permitiu a sua escolha para desenvolvimento de um percurso investigativo por um dos grupos de trabalho na OF.

Na digestão de DNA por enzimas de restrição, as medições efectuadas com as bandas provenientes do marcador/padrão λ /HindIII, permitiram construir uma curva padrão com tendência linear, a partir da qual facilmente se calcularam os tamanhos aproximados de cada banda resultante da digestão do DNA lambda com EcoRI e PstI.

Na transformação genética mediada por *Rhizobium radiobacter*, utilizou-se um procedimento laboratorial muito simples de executar, para o tornar acessível às escolas, o que terá dificultado a obtenção de maior número de discos de raiz de cenoura com o desenvolvimento de tumores, eventualmente reduzindo a respectiva taxa. Além de se considerar útil remover a casca de cada disco de cenoura para eliminar o tecido que ficou em contacto com a solução desinfectante, caso seja possível, sugere-se que, após a desinfecção do material vegetal, o corte e a inoculação com a bactéria se efectuem em assepsia (e.g. câmara de fluxo laminar).

No trabalho prático de detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos, os procedimentos utilizados foram relativamente simples, visando implementá-los em contextos escolares do ensino secundário. Em relação aos meios de

cultura testados, apesar do meio selectivo garantir melhores resultados, pela diversidade de compostos que o constituem, é mais dispendioso. Com o meio complexo, apesar da menor abundância de bactérias produtoras de antibióticos, tem como vantagens permitir melhor crescimento da estirpe indicadora, ser menos oneroso e fácil de preparar. Deste modo, considera-se o meio complexo mais adequado para implementar estes trabalhos práticos nas escolas. A adição de cicloheximida aos meios de cultura revelou-se dispensável, pois, apesar de não ter sido utilizada na preparação do meio complexo, quando cumpridas as técnicas de assepsia, não se verifica qualquer contaminação por fungos.

Na avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfestantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos, obtiveram-se bons resultados com os procedimentos realizados, salientando-se a ausência de qualquer contaminação nas placas de Petri por microrganismos indesejáveis. A possibilidade de escolher diversos antibióticos comerciais e de antissépticos e desinfestantes de uso doméstico, torna esta actividade acessível às escolas, além da relativa simplicidade dos procedimentos para execução por alunos do ensino secundário.

No trabalho prático de detecção de enzimas hidrolíticas extracelulares – amilases – produzidas por bactérias do solo, obtiveram-se resultados positivos nos dois procedimentos efectuados. A escolha do procedimento deve adequar-se ao objectivo pretendido, pois caso se pretenda isolar microrganismos produtores de amilases para trabalhos posteriores, deve-se optar pela inoculação por espalhamento (após a diluição da amostra de solo), enquanto que, se a finalidade for apenas saber se uma amostra de solo apresenta, ou não, microrganismos produtores de amilases pode-se realizar o procedimento que envolve a inoculação da amostra diluída nos furos do meio de cultura. Em termos de aplicabilidade, enquanto o primeiro procedimento é de fácil execução, o segundo ao envolver a realização de furos no meio de cultura, apesar de ser ainda mais simples, requer mais cuidado no manuseamento de materiais (e.g. esterilização do furador de rolhas).

Os trabalhos práticos que envolveram a actividade de enzimas microbianas na indústria alimentar, nomeadamente o *peeling* enzimático de citrinos e a produção de sumo de maçã, realizaram-se com procedimentos muito simples e obtiveram-se facilmente resultados, tal como verificado na acção da lactase sobre o leite, apesar de esta envolver alguns cuidados, sobretudo durante a execução das pérolas de alginato de cálcio com a enzima imobilizada.

No estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase construíram-se gráficos ilustrativos da variação da velocidade da reacção em função da concentração de enzima, concentração de substrato, temperatura e pH, utilizando procedimentos fáceis e perfeitamente ajustados aos ensinamentos básico e secundário. Os resultados obtidos estão de acordo com os gráficos, normalmente apresentados nos manuais escolares, no que diz respeito aos factores que afectam a actividade das enzimas (e.g. Silva *et al.*, 2005).

Em relação aos trabalhos práticos que envolveram leveduras em processos de fermentação alcoólica, testaram-se diferentes substratos e várias temperaturas, recorrendo a procedimentos fáceis para implementar nas escolas, que permitiram construir gráficos para avaliar o rendimento fermentativo, através da quantificação do volume de dióxido de carbono produzido, por um processo muito simples, sem necessidade de recorrer a sensores.

Considerando que “as condições (os contextos) em que se faz ciência biológica nos nossos dias são cada vez mais difíceis de reproduzir fora dos laboratórios especializados” (G. Ferreira, 2001, p.13), integrar nas práticas lectivas actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia, não constituiu tarefa fácil, por um lado, devido aos materiais e equipamentos necessários, e por outro, pela complexidade de grande parte dos procedimentos referidos na literatura. Assim, este trabalho requereu um longo período de investigação no Laboratório de Biotecnologia e Citómica da Universidade de Aveiro, com orientação e apoio de diversos investigadores, para realizar actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia, transponíveis para contextos escolares dos ensinamentos básico e secundário.

Finalmente, importa salientar, que o desenvolvimento pela investigadora-formadora de competências científicas de âmbito teórico-conceitual e prático-processual para conceber, implementar e otimizar actividades laboratoriais e experimentais nas temáticas de biotecnologia objecto de estudo nesta dissertação, foram determinantes para ajudar os grupos de trabalho, quer na definição das etapas dos procedimentos a desenvolver e na descrição dos cuidados a ter, quer na sua realização, condição indispensável para a concretização dos percursos investigativos planeados pelos professores-formandos na OF.

5.2.1.2. EXEQUIBILIDADE DAS ACTIVIDADES LABORATORIAIS E EXPERIMENTAIS NAS ESCOLAS PORTUGUESAS

A cultura *in vitro* de plantas foi um dos trabalhos práticos mais exigentes em termos de materiais e equipamentos, nomeadamente pela necessidade de uma câmara de fluxo laminar para a manipulação do material vegetal em condições de assepsia. Considerando que este equipamento não existe nos laboratórios das escolas (poderá eventualmente existir em algumas), para viabilizar a implementação desta actividade é necessário construir uma câmara de assepsia electrificada com uma lâmpada fluorescente e dispor de uma lâmpada de radiação ultravioleta portátil para a esterilização do ar (para realizar este trabalho como na OF). Para esta actividade é também necessário um medidor de pH (existem aparelhos adequados, portáteis e a preços acessíveis) e um autoclave (que pode ser substituído por uma panela de pressão). No que diz respeito ao meio de cultura e aos reguladores de crescimento, embora os preços sejam um aspecto a considerar, são necessárias pequenas quantidades. Por outro lado, a cultura *in vitro* de couve-flor apenas requer a utilização de cinetina para a indução de rebentos e, para a violeta africana, pode substituir-se o meio de cultura por *adubo líquido universal KB[®]*, apesar de tornar a indução de rebentos mais demorada.

Os trabalhos práticos que envolveram a extracção de DNA (com procedimento adequado para obter DNA menos contaminado), a digestão do DNA lambda e a electroforese em gel de agarose também correspondem a actividades exigentes em termos de equipamentos e reagentes. No entanto, as escolas poderão facilmente adquirir os materiais necessários a preços acessíveis, através do *National Centre for Biotechnology Education* (University of Reading) do Reino Unido (<http://www.ncbe.reading.ac.uk/>), que comercializa tinas de electroforese (alimentadas através de transformadores de corrente eléctrica adaptados à voltagem de 36 volts ou que em alternativa poderão funcionar com pilhas de 9 volts). Comercializa, igualmente, os acessórios da tina, nomeadamente eléctrodos, fios com molas crocodilo, pentes, microseringas e pontas, bem como os reagentes necessários, como agarose, protease, corante Azure A (em alternativa ao brometo de etídio), tampão de carregamento e tampão TBE. Na preparação do gel para electroforese, faltando o microondas poderá dissolver-se a agarose recorrendo a uma placa de aquecimento (fervendo cuidadosamente a solução até ficar completamente transparente). Nos trabalhos de extracção de DNA que envolveram a recolha do sedimento com DNA para electroforese,

na ausência de centrífuga podem utilizar-se espetos de madeira, embora correndo o risco de perder amostras.

Acresce referir, que no âmbito da colaboração estabelecida entre a DGIDC e a Ordem dos Biólogos, se iniciou em 2009, a distribuição pelas escolas (onde se lecciona a disciplina de Biologia do 12^o ano do Curso Científico-Humanístico de Ciências e Tecnologias) de *Kits* de biologia molecular – *Kits Biogénius*. Estes *Kits* contêm materiais (e.g. tina de electroforese e acessórios) e reagentes necessários à realização de trabalhos práticos para extracção de DNA genómico e de determinação da paternidade (DNA *fingerprint*).

No que diz respeito à digestão do DNA lambda por enzimas de restrição, os reagentes necessários encontram-se disponíveis em *Kit* no NCBE, com a vantagem de serem estáveis à temperatura ambiente. Em relação à transformação genética mediada por *Rhizobium radiobacter*, atendendo à simplicidade do procedimento, utilizaram-se materiais de microbiologia, designadamente meio de cultura e placas de Petri para o crescimento desta estirpe bacteriana.

Para a detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos, apesar de se conseguirem melhores resultados com o meio selectivo, através de meios de cultura complexos, normalmente utilizados para o crescimento de bactérias em geral (e.g. meio NA ou TSA), foi possível obter colónias com estas características. Salienta-se que existem no mercado meios de cultura selectivos para o isolamento de bactérias *Actinomycetes* do género *Streptomyces* (e.g. meio Amido-Caseína ou agar de Mueller-Hinton) (Casal *et al.*, 2004a). Para esta actividade é também necessário dispor de uma cultura de *Micrococcus luteus* como estirpe indicadora, que poderá ser facilmente adquirida através do intercâmbio entre escolas e Universidades (e.g. Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro) ou Centros de Investigação (Brites, 2006). Do mesmo modo, pode adquirir-se uma cultura de *Rhizobium radiobacter* para realizar os trabalhos práticos de transformação genética. Entre os materiais necessários para realizar os trabalhos práticos em microbiologia, além dos meios de cultura, destacam-se: ansas de inoculação; placas de Petri estéreis; espalhadores de vidro e frascos de vidro, com tampa, para autoclave (e.g. *Schott*[®]). Além do autoclave, os equipamentos necessários, como balança, banho-maria e estufa fazem parte de qualquer laboratório escolar minimamente equipado.

O trabalho prático para a avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfetantes em bactérias do solo produtoras de antibióticos, relativamente à actividade anterior, apenas requer tubos de ensaio de tampa metálica para o crescimento de

estirpes teste e discos de papel de filtro brancos (e.g. *Whatman*[®]). Em alternativa aos discos com concentrações conhecidas de antibióticos, para tornar esta actividade mais acessível às escolas, poderão utilizar-se antibióticos comercializados em comprimidos ou cápsulas (para preparar soluções, como efectuado com os antibióticos *Clamoxyl*[®] e *Macropen*[®]). Por outro lado, a utilização de antissépticos e desinfectantes de uso doméstico praticamente não acarreta despesas. A detecção de enzimas hidrolíticas extracelulares – amilases – produzidas por bactérias do solo, requer a utilização de amido solúvel para adicionar ao meio de cultura e de soluto de Lugol para identificar as estirpes produtoras de amilases.

Relativamente aos trabalhos que envolveram a utilização de enzimas (pectinase, celulase e lactase), o NCBE comercializa-as a preços acessíveis. Em termos de execução, os trabalhos práticos realizados com enzimas foram os mais fáceis, por apenas requerem material de vidro, normalmente existente nos laboratórios escolares, tal como para o estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase e para os trabalhos práticos relativos ao rendimento fermentativo de leveduras em processos de fermentação alcoólica.

Acresce referir, que os trabalhos práticos que requereram a medição de pequenos volumes de soluções (da ordem de μL e alguns mL) podem realizar-se utilizando seringas (1, 2, 3, 5 mL) ou micropipetas de valor fixo, de várias medições, a preços mais acessíveis (e.g. NCBE), em substituição das micropipetas reguláveis. No que diz respeito ao material de vidro, os frascos para esterilizar os meios de cultura acarretam despesas, pelo que, a sua substituição por frascos de polpa de fruta com tampa metálica, por exemplo, é uma alternativa a considerar.

Em suma, exceptuando os trabalhos práticos em cultura *in vitro* de plantas, as actividades laboratoriais e experimentais realizadas e apresentadas nesta dissertação, permitem concluir que, para se realizar trabalho prático em biotecnologia e microbiologia, não é necessário material sofisticado – pode recorrer-se a equipamentos alternativos (e.g. tinas de electroforese a pilhas e painéis de pressão) e a técnicas simples (e.g. isolar colónias bacterianas com palitos estéreis). Por outro lado, realizaram-se trabalhos práticos que apenas requereram material básico de laboratório, como por exemplo, os materiais e equipamentos utilizados em processos de fermentação alcoólica, no estudo quantitativo da actividade enzimática da catalase e na extracção de DNA com recurso a procedimentos simples.

5.2.2. CONCLUSÕES REFERENTES À OFICINA DE FORMAÇÃO

5.2.2.1. IMPACTO DA FORMAÇÃO EM CONCEPÇÕES DOS PROFESSORES-FORMANDOS RELATIVAS A TRABALHO PRÁTICO

O impacto que a formação teve ao nível da reconstrução de concepções sobre trabalho prático, laboratorial, experimental e de campo, considerando a análise comparativa das concepções dos professores-formandos nas respostas ao *Questionário de Diagnóstico* e em resultado do desenvolvimento das *Actividades 1A e 1B*, permitiu verificar que antes da formação, para trabalho prático apareceram respostas genéricas, por exemplo, quando consideraram trabalho prático como actividade de aplicação de conhecimentos teóricos. No entanto, para concretizar trabalho prático referiram não só trabalho laboratorial, experimental ou de campo, mas também actividades de papel e lápis, assim como, as que requerem a utilização de computador. Salienta-se, também, que uma minoria de professores-formandos (dois) indicou no questionário de diagnóstico um aspecto importante desta designação, ao sugerirem o envolvimento activo dos alunos aquando da realização de trabalho prático.

Quanto ao significado de trabalho laboratorial, os professores-formandos associaram esta designação ao local onde este se realiza (laboratório), além de envolver a manipulação de instrumentos e materiais laboratoriais. Por outro lado, os professores-formandos, talvez pela influência do tipo de práticas realizadas quando implementam trabalho laboratorial nas aulas, relacionaram-no com o desenvolvimento de protocolos predefinidos. A ausência de variáveis foi um aspecto associado a este conceito, embora tenha sido referida apenas por um professor-formando no questionário de diagnóstico e, igualmente, por um grupo de trabalho durante a realização da *Actividade 1A*.

No que diz respeito ao significado de trabalho experimental, os professores-formandos relacionaram-no com aspectos concordantes com o desenvolvimento de trabalho prático numa perspectiva investigativa, como: experimentação, testagem de hipóteses, resolução de problemas e desenvolvimento de investigações. Por outro lado, referiram-se aos locais possíveis de realização, designadamente laboratório e/ou campo. Alguns professores-formandos (três) nas respostas ao questionário de diagnóstico relacionaram trabalho experimental com o controlo e manipulação de variáveis, embora na *Actividade 1B*, os grupos que identificaram as variáveis em estudo não as associaram a trabalho experimental.

Embora nas respostas dos professores-formandos se tenham identificado algumas ideias concordantes com os significados atribuídos a estes conceitos, as maiores discrepâncias verificaram-se ao nível das relações que entre eles estabeleceram. Verificou-se existir alguma confusão e aparente contradição entre as respostas apresentadas, nomeadamente porque para alguns professores-formandos o conceito mais geral e abrangente corresponde a trabalho prático, enquanto para outros corresponde a trabalho experimental. No entanto, uma minoria de professores-formandos (dois) considerou um aspecto relevante nas relações entre estes conceitos, afirmando que o trabalho laboratorial pode ser ou não experimental, com a possibilidade de trabalho experimental se realizar fora do laboratório, por exemplo, numa saída de campo.

Face às contradições verificadas nas relações que os professores-formandos estabeleceram entre estes conceitos, a realização da *Actividade 2* permitiu esclarecer o significado de cada um. Assim, os grupos de trabalho elaboraram mapas de conceitos indicativos do desenvolvimento de concepções adequadas. Parece lícito, portanto, afirmar-se que a realização desta actividade teve resultados muito positivos na promoção e clarificação dos significados e das relações estabelecidas entre trabalho prático, laboratorial, experimental e de campo. Aliás, a “*compreensão de significados de trabalho prático, designadamente experimental, laboratorial e de campo*” correspondeu a uma das competências melhor desenvolvidas pelos professores-formandos através da OF (ver respostas ao *Questionário de Avaliação da OF* – questão 2, p.267).

Os pontos de vista dos professores-formandos, antes e após a OF, para avaliar trabalho experimental e laboratorial, relativamente ao grau de consecução de objectivos centrados em argumentos predominantemente cognitivos, identificaram-se analisando comparativamente nove objectivos apresentados no *Questionário de Diagnóstico* (ver respostas à questão 8, p.239) e no *Questionário de Avaliação da OF* (ver respostas à questão 5, p.271). Antes da OF, os professores-formandos, centrando-se no trabalho prático habitualmente realizado nas aulas, consideraram que os objectivos melhor avaliados no domínio cognitivo dizem respeito, sobretudo à ilustração de conceitos, confirmação de teorias, análise de dados e interpretação de resultados. Após a OF, entre os objectivos que foram avaliados com melhorias significativas através do trabalho prático realizado nos percursos investigativos planeados e implementados, destaca-se o desenvolvimento do pensamento criativo e de competências para: a) formular questões, hipóteses e prever resultados; b) testar e validar ideias; c) controlar variáveis; d) elaborar ideias e formular conclusões; e) compreender como se constrói conhecimento científico. Estes resultados indicam uma evolução muito positiva no desenvolvimento de

concepções e atitudes adequadas relativamente ao papel e significados que o trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, pode e deve assumir nas práticas docentes e nas aprendizagens dos alunos. Deste modo, parece legítimo concluir-se que a realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa, como realizado na OF, promove o desenvolvimento de competências associadas ao envolvimento do *pensar*, aspecto pouco estimulado e/ou subestimado em trabalho prático tradicional.

5.2.2.2. AVALIAÇÃO DA OFICINA DE FORMAÇÃO

A OF constituiu uma oportunidade para os professores-formandos de Biologia e/ou Geologia participarem activamente num programa que lhes despertou interesse por abordagens inovadoras de trabalho prático e criou condições para, com orientação e apoio, desenvolverem percursos investigativos, aplicáveis em práticas lectivas, envolvendo-se neles, experimentando-os e avaliando-os. As actividades laboratoriais e experimentais centrando-se em aplicações de biotecnologia na produção de produtos e bens de consumo (e.g. alimentos, medicamentos e energia) aparentemente contribuíram para interligar escola e sociedade. Estas actividades, valorizando a identificação, formulação e resolução de problemas, com recurso a temáticas científicas de interesse social, utilizaram-se como contextos para estimular abordagens investigativas em que se exploraram inter-relações CTS.

Em geral, considera-se que os objectivos da OF foram atingidos, tendo os professores-formandos realizado as actividades propostas nas sessões presenciais de forma empenhada, interessada e muito participada, o que se reflectiu na qualidade dos materiais elaborados de valor heurístico próprio – Vês de Gowin e mapas de conceitos – referentes aos percursos investigativos desenvolvidos pelos grupos de trabalho. A vivência de percursos investigativos a partir de temáticas actuais de biotecnologia possibilitou perspectivar “de uma forma muito positiva o seu contributo e envolvimento na e para a mudança de perspectivas e de práticas na Educação em Ciências” (Almeida, 2000, p.61), considerando-se o balanço final desta OF muito positivo. Esta apreciação também se baseia no clima vivido ao longo das várias sessões de formação, na observação da dinâmica dos grupos de trabalho e no envolvimento de todos nas sessões plenárias, assim como, no carácter inovador desta formação, considerando que “a metodologia de trabalho implementada constituiu uma ruptura, em muitos casos, com as práticas habituais nas aulas de ciências” (Almeida, 2000, p.58). Como indicadores

referem-se a assiduidade (Anexo 56) e os progressos conseguidos relativamente à articulação de conhecimento teórico-conceptual e prático-processual, ou seja, conceitos e processos requeridos em abordagens investigativas de trabalho prático, que incluíram a formulação e selecção de questões de investigação, o planeamento e concretização de actividades laboratoriais e experimentais, e a comunicação dos resultados conseguidos.

Constatou-se que o tempo para reflexão e debate foi, em geral, escasso, sobretudo porque as actividades laboratoriais e experimentais realizadas pelos grupos de trabalho ocuparam mais tempo que o previsto. A escassez de tempo dificultou também a análise, reflexão e discussão, por parte da investigadora-formadora, dos trabalhos produzidos pelos grupos de trabalho, com vista a estimular o repensar de todo o processo e sua eventual reformulação. Assim, os Vês de Gowin e mapas de conceitos apresentados nesta dissertação encontram-se, tal como foram construídos pelos grupos de trabalho, “aproveitando a circunstância para destacar o carácter provisório destes recursos estratégicos e heurísticos (...) porque requerem reflexão e revisão” (Pedrosa, 2000, p.37). Eventuais incorrecções ou insuficiências poderão estar relacionadas com as fortes pressões decorrentes da falta de tempo, que atravessaram toda a OF. Por outro lado, os próprios procedimentos realizados pelos professores-formandos não são comuns em práticas laboratoriais escolares (e.g. electroforese em gel de agarose, trabalhos em assepsia), o que exigiu maior cuidado e atenção da investigadora-formadora durante a sua execução. Salienta-se, que a diversidade de procedimentos realizados durante a OF, traduziu-se num acréscimo de dificuldades da investigadora-formadora em acompanhar, como desejaria, o desenvolvimento das actividades dos grupos de trabalho. Considerando a dinâmica das sessões de formação e a diversidade de actividades que se foram articulando e estruturando, estas dificuldades foram particularmente sentidas nas sessões em que se percepcionou maior desfasamento nas actividades dos diversos grupos, por exemplo, quando uns grupos realizavam procedimentos, outros (re)construíam recursos heurísticos, e todos requeriam atenção e ajuda da investigadora-formadora.

Na generalidade, as reflexões sobre os percursos investigativos desenvolvidos e implementados e os ganhos, a nível profissional e/ou pessoal, referidos no *Questionário de Avaliação da OF* e/ou no *Relatório Crítico*, além de referências elogiosas à estrutura e sequência das actividades propostas na formação, realçam os seguintes aspectos positivos: o enriquecimento de conhecimentos científico-tecnológicos em biotecnologia; a oportunidade de reflexão sobre as suas práticas e a necessidade de uma nova forma de olhar para o trabalho laboratorial e experimental, e para o seu papel nas aulas de

ciências; as potencialidades de trabalho prático numa perspectiva investigativa em termos de mobilização de competências de natureza conceptual e processual e de desenvolvimento cognitivo, designadamente em termos de raciocínio e de pensamento crítico e criativo; o desenvolvimento de competências técnicas e processuais necessárias à implementação de percursos investigativos com recurso a procedimentos em biotecnologia; a compreensão da natureza das ciências e do trabalho científico.

Os professores-formandos manifestaram-se, em geral, sensibilizados e motivados para operarem mudanças nas práticas docentes. Consideraram, no entanto, que a extensão dos actuais programas das disciplinas de Biologia e Geologia do 10º e 11º anos, limita este tipo de actividades, considerando-as exequíveis e muito pertinentes na disciplina de Área de Projecto do 12º ano. O aspecto negativo mais salientado diz respeito à calendarização das sessões, pois consideraram difícil gerir a vida profissional e pessoal com duas sessões semanais de três horas. A sobrecarga de trabalho no final da OF coincidiu com o fim das actividades lectivas nas escolas, o que dificultou a conclusão dos trabalhos, sobretudo dos grupos com professores de diferentes estabelecimentos de ensino.

Em suma, a preparação e orientação das actividades conducentes à concepção, implementação e avaliação de percursos investigativos pelos professores-formandos, pautou-se por:

- Privilegiar temáticas de biotecnologia que abordassem conteúdos actuais e socialmente relevantes, nomeadamente em biotecnologia vegetal, engenharia genética e microbiologia, mobilizadoras de conhecimentos e conceitos que interessassem aos professores-formandos para o seu envolvimento nos percursos investigativos a realizar;
- Desenvolver com e pelos professores-formandos percursos investigativos que assumissem aspectos de uma actividade baseada na identificação, formulação e resolução de problemas, a partir de contextos problemáticos em temáticas actuais de biotecnologia sobre: a) micropropagação de plantas; b) manipulação de DNA; c) actividade de bactérias do solo; d) leveduras em processos de fermentação alcoólica; d) actividade enzimática da catalase;
- Consciencializar os professores-formandos da importância de aprofundar conhecimentos de biotecnologia, pela utilidade que poderão ter na formulação de juízos de valor relacionados com desenvolvimentos científico-tecnológicos que afectam as sociedades actuais (e.g. consumo de alimentos transgénicos, emissão de

gases com efeito de estufa), de modo a contribuir para melhores exercícios de cidadania;

- Proporcionar aos professores-formandos oportunidades para desenvolverem competências específicas (científicas, didácticas e técnicas) imprescindíveis para conceber, implementar e avaliar percursos investigativos, e adquirirem confiança para os desenvolverem em contextos escolares;
- Promover a aquisição de competências práticas necessárias à aplicação de técnicas laboratoriais em diversos procedimentos de biotecnologia pouco utilizados em contextos escolares;
- Demonstrar a viabilidade de desenvolver, em contextos escolares, actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia recorrendo a materiais, reagentes e equipamentos adaptados à realidade das escolas portuguesas;
- Potenciar a construção de recursos heurísticos – Vês de Gowin e mapas de conceitos – como peças centrais da apresentação dos percursos investigativos desenvolvidos. O preenchimento dos Vês de Gowin exigiu momentos de reflexão e discussão dos percursos investigativos desenvolvidos, que se reflectiram em reformulações das questões de investigação, formulação de sub-questões e reformulações dos próprios procedimentos previstos/realizados, além da formulação de outras questões para futuras investigações.

5.3. LIMITAÇÕES DA INVESTIGAÇÃO

Apesar dos bons resultados obtidos relativamente aos procedimentos testados, concebidos e optimizados em temáticas de biotecnologia e, do aparente sucesso da OF, importa reflectir sobre a experiência adquirida e reconhecer alguns constrangimentos e limitações, salientando-se:

- Experiência profissional da investigadora-formadora – até à realização deste estudo, a investigadora-formadora não teve qualquer experiência em formação de professores, nem em metodologias de trabalho prático numa perspectiva investigativa, o que se poderá ter reflectido nas actividades preparadas para a OF;
- Actividades laboratoriais e experimentais desenvolvidas em biotecnologia – na concepção e optimização das actividades laboratoriais e experimentais, salientam-se as limitações em termos de materiais, equipamentos e procedimentos aplicáveis em contextos escolares, considerando a viabilidade económica e a relativa inocuidade

dos reagentes para permitir a sua manipulação por alunos. Este aspecto condicionou alguns resultados, por exemplo, na optimização das fases da micropropagação de plantas e na obtenção de amostras de DNA para electroforese, o que implicou a pesquisa de soluções convenientes a realizar e de múltiplos ensaios que se traduziram na morosidade desta etapa do trabalho;

- Calendarização da OF – os atrasos do Ministério da Educação para autorizar a realização da OF, resultaram numa calendarização num curto intervalo de tempo (apenas três meses), maioritariamente com duas sessões semanais de três horas, que ao decorrerem sobretudo no terceiro período, constituíram uma sobrecarga para os professores-formandos, referida no *Questionário de Avaliação da OF* (ver respostas à questão 7, p.277);
- Duração – as pressões de tempo que atravessaram as sessões de formação constituíram: obstáculos às desejáveis e necessárias reflexões e revisões dos recursos heurísticos construídos no âmbito dos percursos investigativos realizados; factores inibidores da validação externa das actividades propostas para as sessões de formação e elaboração do *Questionário de Avaliação da OF*;
- Avaliação dos efeitos a médio e longo prazo desta OF – atendendo à variedade e quantidade de dados tratados neste trabalho (relativos às actividades desenvolvidas na OF e à optimização de actividades laboratoriais e experimentais em biotecnologia), não foi possível avaliar os efeitos a médio e longo prazo da frequência desta OF nas práticas lectivas dos professores-formandos.

5.4. IMPLICAÇÕES EDUCACIONAIS

A análise retrospectiva das actividades desenvolvidas nesta investigação sugere implicações para a formação de professores e elaboração de recursos didácticos, designadamente manuais escolares, assim como, para a gestão dos programas disciplinares.

Uma vez que “o *que* [se ensina] é matéria de decisão ao nível das políticas educativas, já o *como* ensinar é passível de ser determinado por opções pessoais, de acordo com a preparação e perspectivas de cada um” (Veiga, 2000, p.546), é importante discutir a formação de professores. Como os professores representam uma parte fundamental para o sucesso ou insucesso das mudanças que se pretendem implementar em educação em ciências (Miguéns & Serra, 2000), para tornar efectivas as inovações

curriculares propostas por decisores de políticas educativas, designadamente em relação ao trabalho prático numa perspectiva investigativa (Gabriel *et al.*, 2006), importa que se questione a sua formação inicial e contínua, “sob pena das suas potencialidades educativas [relativas a actividades de natureza investigativa] não virem a ser exploradas nos nossos alunos” (Matos & Morais, 2004, p.91). Esta modalidade de trabalho prático será implementada nas salas de aula se os professores compreenderem a filosofia que lhe está subjacente, reconhecerem-lhe interesse e valor, e forem capazes de o implementar com conforto e segurança (Mendes & Rebelo, 2004).

Para mudar, introduzindo “inovação naquilo que são práticas correntes nalguns casos de vários anos” (Martins, 2002, p.36) é necessária formação contínua, tornando-se fundamental mudar concepções e práticas dos professores, designadamente em relação ao trabalho prático. Miguéns & Serra (2000) sugerem que a formação inicial e contínua dos professores deve incluir “uma componente clara sobre trabalho prático, na qual sejam discutidos os caminhos da sua reorientação, as suas modalidades, objectivos, vantagens e limitações, incluindo as perspectivas de mudança das concepções dos alunos sobre o papel do professor no trabalho prático” (p.573). Importa, pois, proporcionar aos professores a frequência de acções de formação, com orientação e propósitos semelhantes aos preconizados para a OF, que sejam promotoras das desejáveis mudanças de práticas em trabalho prático, por proporcionarem o desenvolvimento de competências necessárias para a transposição das aprendizagens efectuadas para contextos escolares (Pedrosa, 2000). Acresce que, também a formação inicial se deveria orientar neste sentido, de modo que as actividades laboratoriais (e de campo) deveriam realizar-se em colaboração com professores das disciplinas da especialidade e de didácticas específicas que abordam as novas orientações para o trabalho prático (Dourado, 2006).

No entanto, estas mudanças não dependem apenas do empenho e da capacidade dos professores para repensarem e (re)estruturarem as suas práticas lectivas (Gabriel *et al.*, 2006), mas também dos recursos didácticos de que dispõem para “idealizar, organizar e concretizar os processos de ensino e de aprendizagem” (Morgado, 2004, p.9). Os manuais escolares constituem um dos recursos didácticos que mais influenciam as práticas lectivas dos professores (Morgado, 2004; Santos, 2001), uma vez que determinam o que fazem na sala de aula (Martins, 2002; Miguéns & Serra, 2000), assumindo-se, às vezes, como fonte programática (Chagas & Oliveira, 2005). Sendo consensual que grande parte do que se passa dentro da sala de aula se realiza com base nos manuais escolares, deles dependendo, muitas das vezes, a forma como se

estruturam as aulas, os conteúdos que se abordam e o modo como se abordam, bem como, as actividades que os alunos realizam, urge a necessidade de reflectir-se sobre a forma como se organizam estes recursos didácticos, uma vez que as estratégias que preconizam acabam por condicionar todo o processo educativo (Morgado, 2004).

As actividades de aprendizagem propostas aos alunos nos manuais escolares estão “bastante longe de reflectir os objectivos, conteúdos e orientações metodológicas sugeridas pelos programas”, existindo falta de coerência entre programas disciplinares e manuais escolares (Miguéns & Serra, 2000, p.569). A sua utilização exclusiva na preparação e organização das actividades lectivas pode constituir um importante obstáculo à implementação de novas abordagens educativas em ciências (*Ibid.*). Relativamente às actividades laboratoriais, a forma como os manuais escolares as estruturam e apresentam, não estão em sintonia com as metodologias preconizadas pelas orientações curriculares e programas disciplinares (Chagas & Oliveira, 2005; Dourado, 2010), nem com as recomendações sugeridas por investigadores em educação em ciências (Chagas & Oliveira, 2005). Nos manuais escolares predominam actividades orientadas para determinar o que acontece (Dourado, 2010), através de actividades laboratoriais fechadas, utilizadas para confirmar conhecimentos previamente adquiridos (Chagas & Oliveira, 2005), com recurso a protocolos tipo receita que exigem reduzido envolvimento cognitivo dos alunos (Tenreiro-Vieira & Vieira, 2006), em detrimento de actividades POER e investigações (Dourado, 2010). Estas actividades muito estruturadas permitem que os alunos aprendam o que se pretende, em vez de promoverem a reconstrução de conhecimento conceptual (com actividades POER) ou a aprendizagem de metodologias científicas (através da realização de investigações) (Dourado, 2010). Perfilhando-se a ideia de coerência entre os manuais escolares e as orientações e sugestões metodológicas preconizadas nos programas disciplinares para o trabalho prático, os manuais não devem apenas integrar actividades fechadas, mas incluírem propostas com características investigativas que requeiram actividades laboratoriais e de campo (Dourado, 2001b). Assim, importa que os manuais escolares apresentem propostas de actividades laboratoriais mais centradas nos alunos (Dourado, 2010).

Resultados de estudos apontam para a necessidade dos autores dos manuais escolares adquirirem formação adequada sobre trabalho prático, a fim de desenvolverem e reformularem as suas concepções, para que os manuais que elaboram sigam as orientações programáticas e as recomendações da investigação em educação em ciências (Chagas & Oliveira, 2005). A falta de publicação de livros de carácter didáctico, que ilustrem de forma evidente actividades de ensino e aprendizagem que constituam

alternativas aos manuais escolares (Dourado, 2001b; Miguéns & Serra, 2000), particularmente em relação ao trabalho prático numa perspectiva investigativa, constitui um aspecto importante para a mudança de práticas dos professores. Por outro lado, a formação de professores deve promover o desenvolvimento de competências para que, a partir das propostas de actividades laboratoriais apresentadas nos manuais escolares, os professores consigam reformulá-las e adaptá-las de modo que os alunos tenham um papel mais activo (Dourado, 2010).

Os programas disciplinares correspondem aos documentos oficiais que operacionalizam as políticas educativas influenciando directamente muitas das decisões dos professores relativamente à prática lectiva (Chagas & Oliveira, 2005). Os actuais programas de Biologia e Geologia, “trazem, naturalmente, inovação e mudança relativamente às práticas, pois correspondem a um reajustar às necessidades de formação dos jovens, face às exigências da sociedade sempre em mudança, e de actualização científica e pedagógica” (Chagas & Oliveira, 2005, p.231), encontrando-se em consonância com os resultados da investigação em didácticas específicas destas disciplinas. Porém, estes programas são alvo de algumas críticas, reclamando os professores da sua extensão (Marques, 2005; Martins, 2002) e, por vezes, até da complexidade de alguns conteúdos, o que põe em causa as estratégias de ensino neles preconizadas (Martins, 2002), de que constitui exemplo a realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa. O tempo, ou mais concretamente a falta de tempo, reflecte-se no tipo de actividades prático-laboratoriais a que os professores recorrem nas aulas, pois quando confrontados com programas demasiado longos, centram a sua prática lectiva nos conteúdos e na realização de demonstrações que os possam confirmar (Oliveira, 1999), em detrimento de abordagens investigativas. Por outro lado, também constituem obstáculos a estas inovações, a necessidade de cumprimento dos programas, sobretudo em disciplinas que têm testes intermédios ao longo do ano lectivo e exame nacional, como acontece com Biologia e Geologia do 10^o e 11^o anos.

Gagliardi (1994), atendendo aos avanços do conhecimento científico e à facilidade com que actualmente se acede à informação, nomeadamente através das novas tecnologias da informação, refere algum desfasamento dos programas disciplinares e defende que deveriam ter menos conteúdos. Diversos autores apontam para a necessidade de “ensinar menos para ensinar melhor” (Martins, 2002, p.36; Millar, 1996, citado em Marques, 2005, p.152), defendendo-se a redução dos programas disciplinares relativamente ao número e diversidade de conteúdos, para que os alunos, em vez de aprenderem muita coisa de modo superficial, aprendam mais sobre menos coisas, com o

nível de profundidade adequado para compreenderem ideias e conceitos científicos relevantes para a vida (Martins *et al.*, 2000; Miguéns & Serra, 2000). Assim, dedicando mais tempo a temas importantes, podem realizar-se actividades em que os alunos tenham mais oportunidade de reflexão e amadurecimento de ideias sobre o que aprendem (Marques, 2005), privilegiando-se as “grandes ideias e modelos científicos, com expressão nos quotidianos do nosso tempo, e [a] inclusão de uma abordagem holística dos procedimentos da investigação científica enquanto verdadeiros conteúdos de aprendizagem” (Miguéns & Serra, 2000, p.559). É indispensável que as práticas lectivas se centrem nos alunos e no desenvolvimento de redes conceptuais de base, na capacidade de utilização dos conhecimentos aprendidos e na motivação para continuar a aprender (Gagliardi, 1994).

5.5. PROPOSTAS PARA FUTURAS INVESTIGAÇÕES

Com base nas conclusões e implicações deste trabalho, sugerem-se estudos que seria interessante desenvolver em futuras investigações:

- Concepção e optimização de procedimentos aplicáveis em contextos escolares, noutras áreas de biologia que, além de trabalho laboratorial e experimental, requeiram trabalho de campo, por exemplo, em projectos de educação ambiental;
- Planificação de acções de formação contínua para professores de Biologia e/ou Geologia, que incluam trabalho prático numa perspectiva investigativa, e outros contextos problemáticos com enquadramento curricular e, se possível, com recurso a espaços exteriores à escola;
- Realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa com alunos, com pressupostos semelhantes aos preconizados para a acção de formação descrita nesta dissertação, para avaliar as suas reacções, “pois o facto dos professores o conseguirem implementar não significa que os alunos reajam positivamente a ele” (Dourado, 2001b, p.378);
- Concepção e validação de materiais didácticos que estimulem práticas de educação em ciências preconizadas pelas orientações curriculares e programas disciplinares, de que trabalho prático numa perspectiva investigativa e orientações CTS constituem exemplo;
- Identificação do que mudou nas práticas dos professores, em consequência das sugestões metodológicas dos programas de Biologia e Geologia do ensino

secundário, que vigoram desde 2004/2005, designadamente em trabalho prático baseado na identificação, formulação e resolução de problemas. Urge analisar o que se passa nas escolas, tanto no que se refere à implementação de actividades práctico-laboratoriais, como a sua integração nas práticas lectivas dos professores (Matos & Morais, 2004). Assim, importa saber como as intenções dos programas das disciplinas de Biologia e Geologia, relativamente às actividades laboratoriais, estão a traduzir-se em contextos escolares, e que problemas ou dificuldades referem os professores para a sua implementação (Marques, 2005). Por outro lado, é igualmente importante conhecer a opinião dos professores sobre as vantagens e desvantagens de integrar actividades laboratoriais e experimentais nas disciplinas de Biologia e Geologia *versus* considerá-las apenas em disciplinas de técnicas (e.g. Técnicas Laboratoriais de Biologia);

- Realização de estudos que envolvam o levantamento e análise das necessidades de formação dos professores de ciências para o seu desenvolvimento profissional e pessoal, nomeadamente no que se refere à implementação de actividades práctico-laboratoriais (Oliveira, 1999) baseadas em investigações, assim como, identificar as principais dificuldades da sua aplicação nas práticas lectivas.

Finalmente, teria sido muito interessante dar continuidade ao estudo efectuado, com uma nova acção de formação posterior à realizada, com os mesmos professores-formandos, com o objectivo de os estimular a desenvolver com os seus próprios alunos, nas suas escolas, percursos investigativos semelhantes aos por si previamente vivenciados, a partir destes contextos problemáticos ou de outros considerados adequados. A validação desta abordagem de trabalho prático em sala de aula com os alunos, para identificação de dificuldades de implementação e dos benefícios decorrentes da sua concretização, nomeadamente em termos de competências e conhecimentos mobilizados, seria outra investigação que complementaria a aqui apresentada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A

AAAS (American Association for the Advancement of Science) (1990). *Project 2061: Science for all americans*. New York: Oxford University Press.

<http://www.project2061.org/publications/sfaa/online/sfaatoc.htm> [Acedido: 29/12/2008]

AAAS (American Association for the Advancement of Science) (1993). *Project 2061: Benchmarks for science literacy*. New York: Oxford University Press.

<http://www.project2061.org/publications/bsl/default.htm> [Acedido: 29/12/2008]

ABUD, A. K., FACCIOTTI, M. C., NETTO, W. S., SCHENBERG, A. C., FARIA, J. B. (1996). Utilização de uma linhagem recombinante de *Saccharomyces cerevisiae* no processo de fermentação alcoólica de materiais amiláceos. In *V Seminário de Hidrólise Enzimática de Biomassa* (SHEB). Universidade Estadual de Maringá.

ACEVEDO-DÍAZ, J. A. (2004). Reflexiones sobre las finalidades de la enseñanza de las ciencias: educación científica para la ciudadanía. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 1 (1), 3-16.

http://www.apac-ureka.org/revista/Volumen1/Numero_1_1/Educa_cient_ciudadania.pdf

[Acedido: 30/07/2008]

ACEVEDO-DÍAZ, J. A. (2008). El estado actual de la naturaleza de la ciencia en la didáctica de las ciencias. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 5 (2), 134-169.

http://www.apac-eureka.org/revista/Volumen5/Numero_5_2/Acevedo_2008.pdf

[Acedido: 30/07/2008]

ACEVEDO-DÍAZ, J. A. & ALONSO, Á. V. (2003). Las relaciones entre ciencia y tecnología en la enseñanza de las ciencias. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 2 (3).

<http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen2/Numero3/Editorial1.pdf>

[Acedido: 30/07/2008]

ACEVEDO-DÍAZ, J. A., ALONSO, Á. V., MANASSERO MAS, M. A. (2003). Papel de la educación CTS en una alfabetización científica y tecnológica para todas las personas. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 2 (2), 80-111.

<http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen2/Numero2/Art1.pdf>

[Acedido: 30/07/2008]

ACEVEDO-DÍAZ, J. A., ALONSO, Á. V., MANASSERO MAS, M. A., ROMERO, P. A. (2002). Persistencia de las actitudes y creencias CTS en la profesión docente. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 1 (1), 1-27.

<http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen1/Numero1/Art1.pdf>

[Acedido: 02/01/2009]

ALCÂNTARA, F., CUNHA, M. Â., ALMEIDA, M. A. (2001). *Microbiologia: práticas laboratoriais*. 2ª Edição, Aveiro: Universidade de Aveiro – Departamento de Biologia.

ALMEIDA, A. M. (1998). Papel do trabalho experimental na educação em ciências. *Comunicar Ciência*. Ano I (1), Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário.

ALMEIDA, A. M. (2000). Percursos vivenciados e sua importância formativa. In L. Dourado, M. Freitas (Coords.). *Concepção e Concretização das Ações de Formação 2*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 39-62.

ALMEIDA, A. M. (2001). Educação em ciências e trabalho experimental: emergência de uma nova concepção. In A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 51-73.

AMADOR, F. (Coord.) & SILVA, M. (2004). *Programa de Geologia do 12º Ano do Curso Científico-Humanístico de Ciências e Tecnologias*. Lisboa: Ministério da Educação – Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular.

AMADOR, F. (Coord.), SILVA, C. P., BAPTISTA, J. F., VALENTE, R. A. (2001). *Programa de Biologia e Geologia do 10º ou 11º Anos do Curso Científico-Humanístico de Ciências e Tecnologias*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário.

ANDRADE, G. M., SARTORETTO, L. M., BRASILEIRO, A. C. (2003). Biologia molecular do processo de infecção por *Agrobacterium* spp. *Fitopatologia Brasileira*, 28 (5), 465-475.

ANON. (2006). *Biochemicals, Plant Cell and Tissue Culture, Phytopathology*. Catalogue 2006-2008. Ed. Duchefa Biochemie B.V. Haarlem, Netherlands.

ARUNRAJ, D. R. & BABU, B. G. (2001). Transgenics in agriculture. *Resonance*, 6 (2), 83-92.
<http://www.ias.ac.in/resonance/Feb2001/pdf/Feb2001p83-92.pdf> [Acedido: 05/07/2009]

AZINHEIRA, M. P. & CASTRO, R. M. (1998). Diagnóstico laboratorial em microbiologia. In W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 207-220.

B

BALDAIA, L. (2006). El cambio de las concepciones didácticas sobre las prácticas, en la enseñanza de la Biología. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 47, 23-29.

- BANET, H. (2007).** Finalidades de la educación científica en secundaria: opinión del profesorado sobre la situación actual. *Enseñanza de las Ciencias*, 25 (1), 5-20.
- BARBERÁ, O. & VALDÉS, P. (1996).** El trabajo práctico en la enseñanza de las ciencias: una revisión. *Enseñanza de las Ciencias*, 14 (3), 365-379.
- BARNARD, B. (1994).** *Isolation of antibiotic-producing organisms from soil*. Access excellence activities collections (fellows collection): 1994 access excellence collection.
http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/AEF/1994/barnard_isolation.php
[Acedido: 10/02/2007]
- BELO, J. A., VIEIRA, P., SOTTOMAYOR, M. (2001).** Organismos (eucariotas) genéticamente modificados. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 115-154.
- BHALLA, P. L. & WEERD, N. (1999).** *In vitro* propagation of cauliflower, *Brassica oleracea* var. *botrytis* for hybrid seed production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 56, 89-95.
- BIANCHI, M. L. & ANTUNES, L. M. (1999).** Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista Nutricional*. Campinas, Maio/Agosto, 12 (2), 123-130.
<http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n2/v12n2a01.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- BODNER, G. M. (1986).** Constructivism: a theory of knowledge. *Journal of Chemical Education*, 63 (10), 873-878.
- BRITES, S. S. (2006).** *O ensino da Biotecnologia e Microbiologia no 12º ano: procedimentos experimentais*. Tese de mestrado (não publicada), Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro.
- BRITO, G., JARDIM, R., SANTOS, C., COELHO, C. (2007).** Micropropagação de uma espécie autóctone de Porto Santo como estratégia de combate à desertificação: exemplo da oliveira-brava. *Revista da Estação Florestal Nacional. Silva Lusitana*, 15 (2), 229-247.
- BUXTON, C. A. (2006).** Creating contextually authentic science in a “low-performing” urban elementary school. *Journal of Research in Science Teaching*, 43 (7), 695-721.

C

- CAAMAÑO, A. (2004).** Experiencias, experimentos ilustrativos, ejercicios prácticos e investigaciones: una clasificación útil de los trabajos prácticos?. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 39, 8-19.

- CAAMAÑO, A. & COROMINAS, J. (2004).** Cómo abordar con los estudiantes la planificación de los trabajos prácticos investigativos?. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 39, 52-63.
- CABALLER, M. J., GIMÉNEZ, I., MADRID, A. (1995).** La enseñanza de la Biología y la resolución de problemas. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 5, 53-58.
- CABO-HERNÁNDEZ, J. M., ENRIQUE MIRÓN, C., CORTIÑAS JURADO, J. R. (2006).** Opiniones e intenciones del profesorado sobre la participación social en ciencia y tecnología. El caso de la Biotecnología. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 3 (3), 349-369. http://www.apac-eureka.org/revista/Volumen3/Numero_3_3/Cabo_et_al_2006.pdf
[Acedido: 30/07/2008]
- CACHAPUZ, A. F., PRAIA, J. F., JORGE, M. P. (2000).** Perspectivas de ensino. In A. Cachapuz (Org.). *Formação de Professores – Ciências, Textos de Apoio Nº 1*. Porto: Centro de Estudos de Educação em Ciência (CEEC).
- CALVETE, E. O., AZEVEDO, M., BORDIGNON, M. H., SUZIN, M. (2002).** Análises anatômicas e da biomassa em plantas de morangueiro cultivadas *in vitro* e *ex vitro*. *Horticultura Brasileira*, 20 (4), 649-653.
- CANAVARRO, J. M. (1999).** *Ciência e sociedade*. Coimbra: Quarteto Editora.
- CANHOTO, J. M. (2010).** *Biotecnologia vegetal – da clonagem de plantas à transformação genética*. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra.
- CASAL, M. (Coord.), SCHULLER, D., RIBEIRO, A., CARDOSO, H., NOBRE, A. (2004a).** Unidade X – Prospecção de bactérias produtoras de antibióticos. *Microbiologia e genética molecular microbiana: manual de laboratório*. Editora Copissaurio.
<https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/2763/1/Livro+Actinomicetas+.pdf>
[Acedido: 10/02/2007]
- CASAL, M. (Coord.), SCHULLER, D., RODRIGUES, G. M., PAIS, C. (2004b).** Métodos convencionais em microbiologia. *Microbiologia e genética molecular microbiana: manual de laboratório*. Editora Copissaurio.
<https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/2241/1/U1.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- CCPFC (Conselho Científico-Pedagógico da Formação Contínua) (2004).** *Relatório de actividades 2004*. CCPFC (Ed.), 28-42.

- CHAGAS, I. & OLIVEIRA, T. (2005).** O que a investigação diz acerca do ensino da Biologia. Linhas e tendências de investigação. *Investigar em Educação: Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências da Educação*, 4, 151-286.
- COLLIN, H. A. & EDWARDS, S. (1998).** *Plant cell culture*. In D. Rickwood e C. Howe (Eds.). BIOS Scientific Publishers Limited. Oxford.
- CONDE, A. P. (1993).** *Resposta de calli de girassol (Helianthus annuus L.) a radiação ultravioleta*. Estágio de Fisiologia Vegetal (trabalho não publicado), Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro.
- CORREIA, A. & MENDO, S. (2001).** *Genética: exercícios teórico-práticos e práticos*. Universidade de Aveiro.
- CORREIA, E. & PARDAL, L. (1995).** *Métodos e Técnicas de Investigação Social*. Porto, Areal Editores, 51-64.
- CÔRTE-REAL, M., LUDOVICO, P., RODRIGUES, F., LEÃO, C. (2003).** Metabolismo primário. In N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 33-66.
- COUTINHO, A. X. (1939).** *Flora de Portugal*. R. T. Palhinha (Dirig.), 2.^a Edição. Lisboa: Bertrand, Lda.
- D**
- D’COSTA, V. M., MCGRANN, K. M., HUGHES, D. W., WRIGHT, G. D. (2006).** Sampling the antibiotic resistome. *Science* de 20 de Janeiro, 311, 374-377.
- DE PRO BUENO, A. (1998).** Se pueden enseñar contenidos procedimentales en las clases de ciencias?. *Enseñanza de las Ciencias*, 16 (1), 21-41.
- DE PRO BUENO, A. (2000).** Actividades de laboratorio y enseñanza de contenidos procedimentales. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 109-124.
- DEB (Departamento da Educação Básica) (2001).** *Currículo Nacional do Ensino Básico: Competências Essenciais*. Lisboa: Ministério da Educação.

- DIXON, R. A. (1985).** Isolation and maintenance of callus and cell suspension cultures. In R. A. Dixon (Eds.). *Plant cell culture: a practical approach*. IRL Press. Oxford, Washington DC, 1-20.
- DGIDC (Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular) (2003).** *Documento Orientador da Revisão Curricular do Ensino Secundário*. Lisboa: Ministério da Educação, Abril.
- DGIDC (Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular) (2006).** *Orientações: Área de Projecto dos Cursos Científico-Humanísticos e Projecto Tecnológico dos Cursos Tecnológicos – 12º Ano*. Lisboa: Ministério da Educação, Agosto.
- DODDS, J. H. & ROBERTS, L. W. (1985).** *Experiments in plant tissue culture*. Cambridge University Press, 2.ª Edição.
- DOURADO, L. (2000).** A inter-relação entre trabalho de campo e trabalho laboratorial no ensino da Biologia. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 143-152.
- DOURADO, L. (2001a).** Trabalho prático, trabalho laboratorial, trabalho de campo e trabalho experimental no ensino das ciências – contributo para uma clarificação de termos. In A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 13-18.
- DOURADO, L. (2001b).** *O trabalho prático no ensino das Ciências Naturais: situação actual e implementação de propostas inovadoras para o trabalho laboratorial e o trabalho de campo*. Tese de doutoramento (não publicada), Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho.
- DOURADO, L. (2006).** Concepções e práticas dos professores de Ciências Naturais relativas à implementação integrada do trabalho laboratorial e do trabalho de campo. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 5 (1), 192-212.
http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen5/ART11_Vol5_N1.pdf
[Acedido: 30/07/2008]
- DOURADO, L. (2010).** As actividades laboratoriais no ensino da Geologia: um estudo centrado em manuais escolares do ensino secundário. In C. Neiva, A. Ribeiro, L. Mendes Victor, F. Noronha, M. Magalhães Ramalho (Ed.). *Ciências Geológicas – Ensino e Investigação e sua História*. Assoc. Port. Geólogos, Vol. I, Cap. VII – Ensino da Geologia em Portugal, 595-605.

DOURADO, L. & FREITAS, M. (2000). Contextualização geral das acções de formação. In L. Dourado e M. Freitas (Coords.). *Concepção e Concretização das Acções de Formação I*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 13-34.

E

EIBE (European Initiative for Biotechnology Education) (1995). *Microbes and molecules*. Unidade 1. <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01EN.PDF> [Acedido: 30/07/2008]

ESCUDERO, C. & MOREIRA, M. A. (1999). La V epistemológica aplicada a algunos enfoques en resolución de problemas. *Enseñanza de las Ciencias*, 17 (1), 61-68.

ESTEVES, E. & LEITE, L. (2006). Problemas, educação em física e educação para a cidadania. *XIX CONGRESSO ENCIGA (Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia)*. Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro. <http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 16/07/2008]

ESTEVES, E., COIMBRA, M., MARTINS, P. (2006). A aprendizagem da física e química baseada na resolução de problemas. *XIX CONGRESSO ENCIGA (Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia)*. Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro. <http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 16/07/2008]

ESTRELA, A., ELISEU, M., AMARAL, A., CARVALHO, A., PEREIRA, C. (2005). A investigação sobre formação contínua de professores em Portugal (1990-2004). *Investigar em Educação: Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências da Educação*, 4, 109-148.

F

FAIA, A. M. & CASTRO, L. T. (1998). Metabolismo microbiano produtor de energia. In W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 99-123.

FARINHEIRA, A. M., FONSECA, J. M., CONBOY, J. E. (2005). A literacia científica e percepções dos alunos do 10.º ano de escolaridade. *Revista de Educação*, XIII (2), 51-68.

FERREIRA, C. F. (2001). *Cultura in vitro de Leucodendrum laurealum x L. patersonii cv. Sunrise: ensaios de micropropagação e análise histológica das plantas regeneradas*. Tese de mestrado (não publicada), Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade de Coimbra.

- FERREIRA, H. G. (2001).** Ensino experimental da Biologia. *In* H. V. Caetano, M. G. Santos (Org.). *Cadernos Didáticos de Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 1, 13-15.
http://www.ciencias-exp-no-sec.org/documentos/publicacoes_caderno_mono.pdf
[Acedido: 10/02/2007]
- FERREIRA, E. C. & MONTES, R. (1999).** A química da produção de bebidas alcoólicas. *Química Nova Na Escola*. Nº 10, Novembro.
- FERREIRA, A. L. & MATSUBARA, L. S. (1997).** Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 43 (1), 61-68. <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v43n1/2075.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- FERREIRA, E. C. & TEIXEIRA, J. A. (2003).** Biorreactores. *In* N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 165-194.
- FEVEREIRO, P. (2006).** O que é a Biotecnologia?. *Revista Biologia e Sociedade*. Ordem dos Biólogos, Março (1), 23. http://www.ordembilogos.pt/Publicacoes/BS_n%BA1.pdf
[Acedido: 10/02/2007]
- FEVEREIRO, M. P. & NEVES, L. (2001).** Cultura *in vitro* de plantas. *In* H. V. Caetano, M. G. Santos (Org.). *Cadernos Didáticos de Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 1, 9-12.
http://www.ciencias-exp-no-sec.org/documentos/publicacoes_caderno_mono.pdf
[Acedido: 10/02/2007]
- FIGUEIROA, A. M. (2007).** *As actividades laboratoriais e a explicação de fenómenos físicos: uma investigação centrada em manuais escolares, professores e alunos do ensino básico*. Tese de doutoramento, Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho.
<https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/6921/1/tese%20final.pdf>
[Acedido: 16/07/2008]

G

- GABRIEL, A. S. (2003).** *O ensino de genética e bioquímica nas escolas: concepção de protocolos para aplicação prática nas aulas*. Tese de mestrado (não publicada), Departamento de Biologia, Universidade de Aveiro.
- GABRIEL, A. S., SANTOS, M. C., PEDROSA, M. A. (2006).** Trabalho prático nos actuais *curricula* de ciências do ensino secundário e formação de professores. *XIX CONGRESSO ENCIGA*

(*Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia*). Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro.

<http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 16/07/2008]

GAGLIARDI, R. (1994). Quelques tendances de l'enseignement des sciences en Europe. *In* Mariano Gago (Coord.). *O futuro da cultura científica*. Lisboa: Instituto de Prospectiva, 67-71.

GALVÃO, C. & FREIRE, A. (2004). A perspectiva CTS no currículo das Ciências Físicas e Naturais em Portugal. *In* I. Martins, F. Paixão, R. M. Vieira (Org.). *Perspectivas Ciência-Tecnologia-Sociedade na Inovação da Educação em Ciência*. III Seminário Ibérico CTS no Ensino das Ciências. Aveiro: Departamento de Didáctica e Tecnologia Educativa, Universidade de Aveiro, 31-38.

GALVÃO, C. (Coord.), NEVES, A., FREIRE, A. M., LOPES, A. M., SANTOS, M. C., VILELA, M. C., OLIVEIRA, M. T., PEREIRA, M. (2001). *Ciências Físicas e Naturais: Orientações Curriculares para o 3º Ciclo do Ensino Básico*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento da Educação Básica.

GAMBORG, O. L. (1984). Plant cell culture: nutrition and media. *In* I. K. Vasil (Ed.). *Cell culture genetics of plants*. New York, Academic Press.

GARCÍA-BARROS, S. (2000). Qué hacemos habitualmente en las actividades prácticas? Como podemos mejorarlas?. *In* M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 43-61.

GARCÍA-BARROS, S., MARTÍNEZ LOSADA, M. C., MONDELO ALONSO, M. (1995). El trabajo práctico. Una intervención para la formación de profesores. *Enseñanza de las Ciencias*, 13 (2), 203-209.

GARCÍA-BARROS, S., MARTÍNEZ LOSADA, M. C., MONDELO ALONSO, M. (1998). Hacia la innovación de las actividades prácticas desde la formación del profesorado. *Enseñanza de las Ciencias*, 16 (2), 353-366.

GARCÍA, M. J. & TRIÑANES, P. G. (2006). *Biocombustibles: Bioetanol y Biodiesel*. XIX CONGRESSO ENCIGA (*Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia*). Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro.
<http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 10/02/2007]

GARRET, R. M. (1995). Resolver problemas en la enseñanza de las ciencias. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 5, 6-15.

- GASKELL, G., STARES, S., ALLANSDOTTIR, A., ALLUM, N., CORCHERO, C. et al. (2006).** Europeans and Biotechnology in 2005: Patterns and Trends. *Eurobarometer 64.3*. A report to the European Commission's Directorate-General for Research.
http://ec.europa.eu/research/biosociety/pdf/eb_64_3_final_report_second_edition_july_06.pdf
[Acedido: 10/08/2010]
- GAVE (Gabinete de Avaliação Educacional) (2007).** *PISA 2006: competências científicas dos alunos portugueses*. In C. Pinto-Ferreira (Coord.), A. Serrão, L. Padinha. Lisboa: Ministério da Educação.
http://www.sipe.pt/db/uteis/264/Relatorio_PiSA_2006.pdf [Acedido: 16/07/2008]
- GAVE (Gabinete de Avaliação Educacional) (2010).** *PISA 2009: competências dos alunos portugueses – síntese de resultados*. In A. Serrão, C. Pinto-Ferreira, H. Sousa. Lisboa: Ministério da Educação.
http://www.min-edu.pt/data/docs_destaquas/Sintese_Resultados_PISA2009.pdf
[Acedido: 20/12/2010]
- GIL-PÉREZ, D. (1993).** Contribución de la historia y de la filosofía de las ciencias al desarrollo de un modelo de enseñanza/aprendizaje como investigación. *Enseñanza de las Ciencias*, 11 (2), 197-212.
- GIL-PÉREZ, D. & VALDÉS-CASTRO, P. (1996).** La orientación de las prácticas de laboratorio como investigación: un ejemplo ilustrativo. *Enseñanza de las Ciencias*, 14 (2), 155-163.
- GORDILLO, M. M. (2003).** Metáforas y simulaciones: alternativas para la didáctica y la enseñanza de las ciencias. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 2 (3), 377-398.
<http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen2/Numero3/Art10.pdf>
[Acedido: 10/02/2007]
- GRAU, R. (1994).** Qué es lo que hace difícil una investigación. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 2, 27-35.
- GRILO, L. T. (2001).** O DNA. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 3-14.
- GUERREIRO, J. (2006).** A Biotecnologia, o plano tecnológico e a estratégia de Lisboa. *Revista Biologia e Sociedade*. Ordem dos Biólogos, Julho (2), 3.

H

HODSON, D. (1990). A critical look at practical work in school science. *School Science Review*, 70 (256), 33-40.

HODSON, D. (1992). Redefining and reorienting practical work in school science. *School Science Review*, 73 (264), 65-78.

HODSON, D. (1993). Re-thinking old ways: towards a more critical approach to practical work in school science. *Studies in Science Education*, 22, 85-142.

HODSON, D. (1994). Hacia un enfoque más crítico del trabajo de laboratorio. *Enseñanza de las Ciencias*, 12 (3), 299-313.

HODSON, D. (2000). The place of practical work in science education. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 29-42.

HOWLAND, D. E., OLIVER, R. P., DAVY, A. J. (1991). A method of extraction of DNA from birch. *Plant Molecular Biology Reporter*, 9 (4), 340-344.

J

JOUE (Jornal Oficial da União Europeia) (2006). *Recomendação do Parlamento Europeu e do Conselho sobre as competências essenciais para a aprendizagem ao longo da vida.* (L 394/10; 2006/962/CE).

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:394:0010:0018:PT:PDF>

[Acedido: 10/06/2009]

JUNIOR, J. J., PEREIRA, D. M., LOPES, J. E. (2008). Análise das habilidades cognitivas requeridas dos candidatos ao cargo de contador na administração pública federal, utilizando-se indicadores fundamentados na visão da taxonomia de Bloom. *Revista Contabilidade & Finanças*. Universidade de São Paulo, 19 (46), 108-121.

K

KOIVUNEN, M. E., MORISSEAU, C., HORWATH, W. R., HAMMOCK, B. D. (2004). Isolation of a strain of *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobium radiobacter*) utilizing methylene urea (ureaformaldehyde) as nitrogen source. *Canadian Journal of Microbiology*, 50, 167-174.

KUMAR, A., KUMAR, V. A., KUMAR, J. (1993). Rapid *in vitro* propagation of cauliflower. *Plant Science*, 90 (2), 175-178.

L

LAJOLO, F. M. & DI CIERO, L. (2006). Segurança alimentar de produtos alimentícios derivados de animais alimentados com OGMs. *International Life Sciences Institute Brasil – Notícias*, Ano 14, 1, Janeiro a Março, 3-6.

LILLO, J. (1994). Los trabajos prácticos de Ciencias Naturales como actividad reflexiva, crítica y creativa. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 2, 47-56.

LIMA, N. & CORREIA, A. (2003). Genética clássica aplicada. In N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 109-124.

LIMA, N. & MOTA, M. (Coords.) (2003). Prefácio. *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda.

LEITE, L. (2000). As actividades laboratoriais e a avaliação das aprendizagens dos alunos. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 91-108.

LEITE, L. (2001). Contributos para uma utilização mais fundamentada do trabalho laboratorial no ensino das ciências. In H. V. Caetano, M. G. Santos (Org.). *Cadernos Didácticos de Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 1, 79-97.

LEITE, L. & FIGUEIROA, A. (2004). Las actividades de laboratorio y la explicación científica en los manuales escolares de ciencias. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 39, 20-30.

LEITE, L. & ESTEVES, E. (2005). Análise crítica de actividades laboratoriais: um estudo envolvendo estudantes de graduação. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 4 (1). http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen4/ART5_Vol4_N1.pdf
[Acedido: 30/07/2008]

LOUREIRO, C., PEDROSA, M. A., GONÇALVES, F. (2008). Problemas globais e educação científica formal tripolar. In R. M. Vieira, M. A. Pedrosa, F. Paixão, I. P. Martins, A. Caamaño, A. Vilches, M. J. Martín-Díaz (Coords.). *Ciência-Tecnologia-Sociedade no Ensino das Ciências – Educação Científica e Desenvolvimento Sustentável*. V Seminário Ibérico/

Seminário Ibero-americano CTS no Ensino das Ciências. Departamento de Didáctica e Tecnologia Educativa, Universidade de Aveiro, 199-202.

LUCAS, S. & VASCONCELOS, C. (2005). Perspectivas de ensino no âmbito das práticas lectivas: um estudo com professores do 7º ano de escolaridade. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 4 (3).

http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen4/ART4_Vol4_N3.pdf

[Acedido: 30/07/2008]

M

MACEDO, M. F., FONSECA, J., CONBOY, J., MARTINS, I. (2001). Formação contínua para a mudança conceptual de professores de Biologia. *Revista de Educação*, X (1), 61-73.

MACEDO, Â. C., VENÂNCIO, A., MALCATA, F. X. (2003). Biotecnologia dos alimentos. In N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 431-472.

MADDEN, D. (2000). *In a jam and out of juice*. National Centre for Biotechnology Education. The University of Reading, U.K.

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/juice.html> [Acedido: 31/01/2009]

MADDEN, D. (2001). *The lambda DNA protocol*. Student's guide, 3ª Edição. National Centre for Biotechnology Education. The University of Reading, U.K.

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/MATERIALS/PUBLICATIONS/PDF/LambdaSG.pdf>

[Acedido: 31/01/2009]

MADDEN, D. (2002). *The lambda DNA protocol*. Technical guide. National Centre for Biotechnology Education. The University of Reading, U.K.

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PDF/LambdaTG.pdf>

[Acedido: 27/08/2007]

MADDEN, D. (2006). Discovering DNA. *Science in School*, 1, 34-36.

<http://www.scienceinschool.org/repository/docs/discoveringdna.pdf> [Acedido: 30/07/2008]

MADIGAN, M. T., MARTINKO, J. M., PARKER, J. (2004). *Microbiologia de Brock*. 10ª Edição. São Paulo: Pearson Education, Inc.

MAGALHÃES, O. (2005). Que formação contínua de professores no quadro das mudanças educativas e curriculares actuais?. *Revista de Educação*, XIII (1), 39-62.

- MAGALHÃES, S. I. & TENREIRO-VIEIRA, C. (2006).** Educação em ciências para uma articulação ciência, tecnologia, sociedade e pensamento crítico. Um programa de formação de professores. *Revista Portuguesa de Educação*, 19 (2), 85-110.
<http://www.scielo.oces.mctes.pt/pdf/rpe/v19n2/v19n2a05.pdf> [Acedido: 30/07/2008]
- MAIA, M. E. (2000).** Avaliação das acções de formação pelos formandos – análise dos relatórios críticos e ensaios individuais. In L. Dourado, M. Freitas (Coords.). *Concepção e Concretização das Acções de Formação 2*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 39-62.
- MARGAÇA, J., BARATA, A., MADEIRA-LOPES, A., LOUREIRO-DIAS, M. C. (2004).** *Micróbios à mostra na escola*. Introdução à Microbiologia. Manual para professores e estudantes do ensino básico e secundário. Instituto Superior de Agronomia – Departamento de Botânica e Engenharia Biológica.
<http://www.isa.utl.pt/dbeb/seccoos/anexos/MicrobiosAMostraNaEscola2004.pdf>
[Acedido: 30/07/2008]
- MARQUES, M. (2004).** *Actividades laboratoriais para o ensino da Biologia*. Porto, Porto Editora.
- MARQUES, M. (2005).** O ensino laboratorial das Ciências Naturais pós-revisão curricular do ensino secundário: que implicações?. *Revista de Educação*, XIII (1), 133-154.
- MARSULO, M. A. & SILVA, R. M. (2005).** Os métodos científicos como possibilidade de construção de conhecimentos no ensino de ciências. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 4 (3). http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen4/ART3_Vol4_N3.pdf
[Acedido: 30/07/2008]
- MARTINS, I. P. (2002).** Problemas e perspectivas sobre a integração CTS no sistema educativo português. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 1 (1), 28-39.
<http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen1/Numero1/Art2.pdf>
[Acedido: 30/07/2008]
- MARTINS, I. P., DIAS, C. C., SILVA, I. P. (2000).** A Biologia no ensino secundário: tendências curriculares, trabalho laboratorial e interesses dos alunos. *Revista de Educação*, IX (1), 169-187.
- MATIAS, O., MARTINS, P. (2005).** *Biologia 12*. Biologia do 12º Ano. Porto, Areal Editores, 229-230.
- MATIAS, O. & MARTINS, P. (2008).** *Biologia 11*. Biologia e Geologia do 11º Ano, 1ª Edição. Porto, Areal Editores.

- MATOS, M. & MORAIS, A. (2004).** Trabalho experimental na aula de Ciências Físico-Químicas do 3º ciclo do ensino básico: teorias e prática dos professores. *Revista de Educação*, XII (2), 75-93.
- MEMBIELA, P. (2000).** Los trabajos prácticos en la enseñanza de las ciencias desde la perspectiva ciencia-tecnología-sociedad. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 125-136.
- MENDES, A. & REBELO, D. (2004).** A Biologia e os desafios da actualidade: novo programa de Biologia para o 12º ano do ensino secundário. In I. Martins, F. Paixão, R. M. Vieira (Org.). *Perspectivas Ciência-Tecnologia-Sociedade na Inovação da Educação em Ciência*. III Seminário Ibérico CTS no Ensino das Ciências. Aveiro: Departamento de Didáctica e Tecnologia Educativa, Universidade de Aveiro, 389-394.
- MENDES, A. M. (Coord.), REBELO, D. H., PINHEIRO, E. J. (2004).** *Programa de Biologia para o 12º Ano do Curso Científico-Humanístico de Ciências e Tecnologias*. Lisboa: Ministério da Educação – Direcção-Geral de Inovação e de Desenvolvimento Curricular.
- MENON, E.** *Micropropagação*. <http://www.ducamenon.hpg.ig.com.br> [Acedido: 13/01/2002]
- MESTRE, N., MACEDO, M., FONSECA, J. (2004).** Levantamento e análise de necessidades de professores de ciências. *Revista de Educação*, XII (2), 21-35.
- MIGUÉNS, M. I. (1999).** O trabalho prático e o ensino das investigações na educação básica. *Ensino Experimental e Construção de Saberes*. Lisboa: Conselho Nacional de Educação – Ministério da Educação, 77-95.
- MIGUÉNS, M. & SERRA, P. (2000).** O trabalho prático na educação básica: a realidade, o desejável e o possível.... In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 555-575.
- MILLER, J. D. (1994).** Scientific literacy: an updated conceptual and empirical review. In Mariano Gago (Coord.). *O futuro da cultura científica*. Lisboa: Instituto de Prospectiva, 37-57.
- MINTZES, J. J., WANDERSEE, J. H., NOVAK, J. D. (2000).** *Ensinando ciência para compreensão*. Lisboa: Plátano Edições Técnicas.

MORADAS-FERREIRA, P. (2001). Estratégias de produção em microrganismos. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 109-113.

MORAIS, A. M. (2002). Práticas pedagógicas na formação inicial e práticas dos professores. *Revista de Educação*, XI (1), 51-59.

MORGADO, J. C. (2004). *Manuais escolares: contributo para uma análise*. Coleção Educação. Porto, Porto Editora.

N

NCBE (National Centre for Biotechnology Education) (1995a). Cloned cauliflower. *Practical Biotechnology: a guide for schools and colleges*. Practical Protocols. The University of Reading, U.K.

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PACBIOTECH/PDF/cauli.pdf>

[Acedido: 10/02/2006]

NCBE (National Centre for Biotechnology Education) (1995b). Better milk for cats. *Practical Biotechnology: a guide for schools and colleges*. Practical Protocols. The University of Reading, U.K.

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PACBIOTECH/PDF/catmilk.pdf>

[Acedido: 10/02/2006]

NCBE (National Centre for Biotechnology Education) (2001). *Investigating plant DNA*. Student's guide, 2ª Edição. The University of Reading, U.K.

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/MATERIALS/PUBLICATIONS/PDF/PlantSG.pdf>

[Acedido: 10/02/06]

NICHOLS, B. A. & CHOLEWIAK, L. B. (1991). A quantitative enzyme study using simple equipment. *Tested studies for laboratory teaching*. C. A. Goldman (Eds.). Proceedings of the 12th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education, 12, 89-99.

<http://www.zoo.utoronto.ca/able/volumes/vol-12/6-nichol/6-nichol.htm> [Acedido: 10/02/2007]

NOBRE, A. (1998). Sobre o ensino “experimental” da Biologia. *Comunicar Ciência*. Ano I (1), Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário.

NRC (National Research Council) (1996). *National science education standards*. Washington, DC: National Academy Press. http://books.nap.edu/catalog.php?record_id=4962

[Acedido: 29/12/2008]

O

- OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (2006a).** *Assessing scientific, reading and mathematical literacy: a framework for PISA 2006.* Programme for International Student Assessment. OCDE Publishing.
<http://www.pisa.oecd.org/dataoecd/63/35/37464175.pdf> [Acedido: 03/09/2008]
- OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (2006b).** *Agricultural market impacts of future growth in the production of biofuels.* Committee for Agriculture. AGR/CA/APM(2005)24/FINAL.
<http://www.oecd.org/dataoecd/58/62/36074135.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- OCT/MCT (Observatório das Ciências e das Tecnologias) (1999).** *Inquérito à cultura científica dos portugueses 1996/1997.* Lisboa: Ministério da Ciência e Tecnologia.
http://www.estatisticas.gpeari.mctes.pt/archive/doc/50651ICCP96_97.pdf
[Acedido: 22/09/2008]
- OCT/MCT (Observatório das Ciências e das Tecnologias) (2000).** *Inquérito à cultura científica dos portugueses 2000.* Lisboa: Ministério da Ciência e Tecnologia.
<http://www.estatisticas.gpeari.mctes.pt/archive/doc/50652ICCP2000.pdf> [Acedido: 22/09/08]
- OEI (Organização de Estados Iberoamericanos para a Educação, a Ciência e a Cultura) (2001).** *Memoria programación 1999-2002.* <http://www.oei.es/memoria/index.html>
[Acedido: 22/09/2008]
- OLIVEIRA, A. (1998).** Microbiologia do solo. In W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia.* Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 271-283.
- OLIVEIRA, M. T. (1999).** Trabalho experimental e formação de professores. *Ensino Experimental e Construção de Saberes.* Lisboa: Conselho Nacional de Educação – Ministério da Educação, 35-53.
- OLIVEIRA, M. M. (2000).** Aplicações e avanços na área da Biotecnologia vegetal. *Boletim de Biotecnologia*, 66, 22-27.
http://dequim.ist.utl.pt/bbio/66/pdf/Aplicacoes_e_Avancos_na%20Biotec_Vegetal.pdf
[Acedido: 22/09/2006]
- OLIVEIRA, A. & PAMPULHA, M. E. (2000).** *Microbiologia: trabalhos práticos.* Universidade Técnica de Lisboa. Instituto Superior de Agronomia.

OLIVEIRA, H. & PINHEIRO, E. (2002). *Conteúdos procedimentais em ciências experimentais no ensino secundário*. GIPA (Grupo interdisciplinar de professores acompanhantes de Aveiro, Feira, Póvoa de Varzim e Chaves). Rede do Ensino Experimental das Ciências – Acompanhamento de Escolas – 2001/2002.

http://eec.dgidc.min-edu.pt/documentos/materiais_biologia_HelenaEduardo.doc

[Acedido: 10/02/2007]

P

PAIS, M. S. (2003). Biotecnologia vegetal. *In* N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 402-427.

PAMPULHA, M. E. (1998). Nutrição e crescimento de microrganismos. *In* W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 81-98.

PAVANELLI, A. P. (2000). *Aditivos para panificação: conceitos e funcionalidade*. Oxiteno S/A Indústria e Comércio. ABIAM – Associação brasileira da indústria de aditivos e melhoradores para alimentos e bebidas.

PEDRANCINI, V. D., CORAZZA-NUNES, M. J., GALUCH, M. T., MOREIRA, A. L., RIBEIRO, A. C. (2007). Ensino e aprendizagem de Biologia no ensino médio e a apropriação do saber científico e biotecnológico. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 6 (2), 299-309. http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen6/ART5_Vol6_N2.pdf

[Acedido: 25/09/2008]

PEDROSA, M. A. (2000). Planificação de actividades práticas de ciências e estruturação conceptual. *In* J. M. Serra (Coords.). *Materiais Didácticos I*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 19-42.

PEDROSA, M. A. (2001a). Ensino das ciências e trabalhos práticos – (re)conceptualizar.... *In* A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 19-33.

PEDROSA, M. A. (2001b). Mudanças de práticas de ensino das ciências – uma reflexão epistemológica. *In* A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 35-50.

PEDROSA, M. A. & DOURADO, L. (2000). Trabalho prático experimental no ensino das ciências – pontos de vista dos professores-formandos antes do programa. *In* L. Dourado, M. Freitas (Coords.). *Concepção e Concretização das Acções de Formação I*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 59-83.

- PEDROSA, M. A. & MATEUS, A. (2001).** Educar em escolas abertas ao mundo – que cultura e que condições de exercício de cidadania?. *In* A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 141-154.
- PEDROSA, M. A., GONÇALVES, F., HENRIQUES, M. H., MENDES, P. (2004).** (Re)Pensando educação científica – problemáticas de lixo e ensino das ciências. *In* I. Martins, F. Paixão, R. M. Vieira (Org.). *Perspectivas Ciência-Tecnologia-Sociedade na Inovação da Educação em Ciência*. III Seminário Ibérico CTS no Ensino das Ciências. Aveiro: Departamento de Didáctica e Tecnologia Educativa, Universidade de Aveiro, 109-116.
- PEDROSA, M. A. & MENDES, P. (2006).** Formação contínua de professores de ciências, construção de conhecimento científico e educação para a sustentabilidade. XIX CONGRESSO ENCIGA (*Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia*). Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro.
<http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 10/02/2007]
- PEDROSA, M. A. & MORENO, M. J. (2007).** Ensino superior, protecção ambiental e desenvolvimento sustentável. *I Congreso Internacional de Educación Ambiental dos Países Lusófonos e Galicia*. Santiago de Compostela, 24-27 de Setembro. CEIDA (Ed.), 1-16.
- PEIXE, L. V. (1998).** Esterilização, antisepsia e desinfecção. *In* W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 221-237.
- PELCZAR, M. J., CHAN, E. C., KRIEG, N. R. (1996).** *Microbiologia: conceitos e aplicações*. Volume 1 e 2, São Paulo: MAKRON Books.
- PERALES, F. J. (1994).** Los trabajos prácticos y la didáctica de las ciencias. *Enseñanza de las Ciencias*, 12 (1), 122-125.
- PEREIRA, F. C. (2004).** *Concepções e práticas de futuros professores de Ciências da Natureza sobre o trabalho prático*. Tese de mestrado, Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho.
<https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/946/1/Tese%20Final.pdf>
[Acedido: 16/07/2008]
- PEREIRA, J. M. (1998).** Genética microbiana. *In* W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 125-139.
- PHILLIPS, G. C., HUBSTENBERGER, J. F., HANSEN, E. E. (1995).** Plant regeneration from callus and cell suspension cultures by somatic embryogenesis. *In* O. L. Gamborg, G. C. Phillips (Eds.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. Springer – Verlag New York, 81-90.

POSPÍŠILOVÁ, J., TICHÁ, I., KADLEČEK, P., HASEL, D., PLZÁKOVÁ, Š. (1999). Acclimatization of micropropagated plants to *ex vitro* conditions. *Biologia Plantarum*, 42 (4), 481-497.

PRAIA, J. F. (1999). O trabalho laboratorial no ensino das ciências: contributos para uma reflexão de referência epistemológica. *Ensino Experimental e Construção de Saberes*. Lisboa: Conselho Nacional de Educação – Ministério da Educação, 55-75.

PRAIA, J. & CACHAPUZ, F. (1994). Un análisis de las concepciones acerca de la naturaleza del conocimiento científico de los profesores portugueses de la enseñanza secundaria. *Enseñanza de las Ciencias*, 12 (3), 350-354.

R

RAPOSO, J. S. (2003). *Biotecnologia na escola – recursos educativos na internet*. Trabalho realizado no âmbito da Monografia Semestral – 4º Ano da Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia, sob a orientação da Mestre, Maria Rui de Vilar Correia. Universidade do Porto, Faculdade de Ciências.

RIBEIRO, E., SILVA, J. C., OLIVEIRA, O. (2005). *Biodesafios*. Biologia do 12º Ano, 2º Volume, 2ª Edição. Edições Asa, 26-27.

REINACH, F. (2005). Menos radicais livres, mais vida. *Jornal da Ciência*. JC e-mail 2810, de 13 de Julho. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. J. M. Filho (Eds.).
<http://www.jornaldaciencia.org.br/Detailhe.jsp?id=29760> [Acedido: 10/02/2007]

REIS, P. & GALVÃO, C. (2008). Os professores de Ciências Naturais e a discussão de controvérsias sociocientíficas: dois casos distintos. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 7 (3), 746-772.
http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen7/ART13_Vol7_N3.pdf
[Acedido: 02/01/2009]

REIS, M. A., ALMEIDA, J. S., ZUNGAILIA, E. J. (2003). Biorremediação. In N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biотecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 285-300.

RIVA, G. A., GONZÁLEZ-CABRERA, J., VÁZQUEZ-PADRÓN, R., AYRA-PARDO, C. (1998). *Agrobacterium tumefaciens*: a natural tool for plant transformation. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1 (3), 118-133.

ROBERTIS, E. & ROBERTIS, E. M. (1996). *Biologia celular e molecular*. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 41-56.

RODRIGUES, J. R., AGUIAR, M. R., MARIA, L. C., SANTOS, Z. A. (2000). Uma abordagem alternativa para o ensino da função álcool. *Química Nova Na Escola*. Nº 12, Novembro.
http://sbqensino.foco.fae.ufmg.br/uploads/YH/N4/YHN4iT5FlyrO-O7wD7_SpA/v12a05.pdf
[Acedido: 10/02/2007]

ROSA, J. J. (1999). O.G.M.'s e alimentação. *Boletim de Biotecnologia*, 64, 39-41.
http://dequim.ist.utl.pt/bbio/64/pdf/biotecnologia_vegetal.pdf [Acedido: 30/07/2008]

S

SÁ-CORREIA, I., MOREIRA, L. M., FIALHO, A. M. (2003). Engenharia genética. In N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 126-161.

SAGAN, C. (1998). *Um mundo infestado de demónios*. 2ª Edição. Lisboa: Gradiva.

SALEMA, R. (1999). Biotecnologia vegetal: algumas técnicas e aplicações. *Boletim de Biotecnologia*, 64, 30-39. http://dequim.ist.utl.pt/bbio/64/pdf/biotecnologia_vegetal.pdf
[Acedido: 30/07/2006]

SANCHES, M. F. & JACINTO, M. (2004). Investigação sobre o pensamento dos professores: multidimensionalidade, contributos e implicações. *Investigar em Educação: Revista da Sociedade Portuguesa de Ciências da Educação*, 3, 131-233.

SANTOS, E. & MARTINS, I. P. (2009). Ensinar sobre alimentos geneticamente modificados. Contribuições para uma cidadania responsável. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 8 (3), 834-858.
http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen8/ART5_Vol8_N3.pdf
[Acedido: 30/08/2010]

SANTOS, M. E. (2001). *A cidadania na "voz" dos manuais escolares*. Lisboa: Livros Horizonte.

SARAIVA, I. J. (2003). Case study – produção de etanol. *Custos e impactes ambientais no projecto de processos químicos*. Relatório de Seminário, P. Saraiva e C. Gaudêncio (Orient.), R. Ferreira (Examin.). Departamento de Engenharia Química – Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 20-25.
<http://www.eq.uc.pt/~ines/seminario/ciappg08.html> [Acedido: 10/02/2007]

- SBRT (Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas) (2005).** *Álcool combustível, processos de fermentação.* M. H. Lopes (Téc. Resp.), C. Abreu (Cons. Téc.). Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro – REDETEC. <http://sbrt.ibict.br/upload/sbirt1094.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- SBRT (Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas) (2006).** *Fabricação de álcool a partir de beterraba, milho e/ou outros elementos.* I. Real (Téc. Resp.), C. Machado (Colab.). Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA. <http://www.sbirt.ibict.br/upload/sbirt2811.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- SILVA, I. M. (1999)** – *O trabalho laboratorial em Biologia no ensino secundário: das propostas curriculares às expectativas dos alunos.* Dissertação de mestrado (não publicada), Universidade de Aveiro.
- SINOGAS, C., ALHO, L., BRITO, I. (2003).** *Microbiologia, Microbiologia Geral, Princípios de Microbiologia.* Textos de apoio e manual prático. Évora: Universidade de Évora – Departamento de Biologia. http://www.ensino.uevora.pt/micro_i/Manual_2003.pdf [Acedido: 30/07/2008]
- SEQUEIRA, M. (2000).** O ensino prático e experimental em educação em ciências na revisão curricular do ensino secundário. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências.* Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 19-28.
- SILVA, A. D., GRAMACHO, F., SANTOS, M. E., MESQUITA, A. F. (2003a).** *Terra, Universo de Vida.* Biologia e Geologia do 10º Ano. 2ª Parte – Biologia. Porto, Porto Editora, 101.
- SILVA, A. D., GRAMACHO, F., SANTOS, M. E., MESQUITA, A. F., BALDAIA, L., FÉLIX, J. M. (2003b).** *Planeta Vivo – Sustentabilidade na Terra.* Ciências Físicas e Naturais. Ciências Naturais, 3º Ciclo. Porto, Porto Editora, 23-24.
- SILVA, A. D., SANTOS, M. E., MESQUITA, A. F., BALDAIA, L., FÉLIX, J. M. (2005).** *Terra, Universo de Vida.* Biologia, 12º Ano. Porto, Porto Editora.
- SILVA, J. C., RIBEIRO, E., OLIVEIRA, Ó. (2008).** *Desafios.* Biologia e Geologia, 11ºAno, Volume 1. Porto, Edições ASA.
- SOARES, G. M. (2000).** *Aplicação de sistemas enzimáticos à degradação de corantes têxteis.* Tese de doutoramento, Departamento de Engenharia Têxtil, Universidade do Minho. http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/3448/1/Gra%C3%A7a_Soares.pdf [Acedido: 10/02/2007]

SOUSA, J. C., PEIXE, L. V., FERREIRA, H., PINTO, M. E., NASCIMENTO, M. S., SOUSA, M. I., CABRAL, M. (1998). Antimicrobianos. *In* W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 239-269.

SPENCER-MARTINS, I. & SÁ-NOGUEIRA, I. (2003). Biotecnologia microbiana. *In* N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 249-265.

STEPAN-SARKISSIAN, G. & GREY, D. (1990). Growth determination and medium analysis. *In* J. W. Pollard, J. M. Walker (Eds.). *Methods in Molecular Biology: Plant Cell and Tissue Culture*. Volume 6, Capítulo 2. Human Press: Clifton, New Jersey, 13-27.

STORR, T. (1985). Plant tissues culture. *Experimenting with industry*, 13. Association for Science Education. National Centre for Biotechnology Education. The University of Reading, U.K.
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PDF/PTC2002.pdf>

[Acedido: 10/02/2006]

T

TENREIRO-VIEIRA, C. & VIEIRA, R. M. (2006). Produção e validação de actividades de laboratório promotoras do pensamento crítico dos alunos. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*, 3 (3), 452-466.

http://www.apac-ureka.org/revista/Volumen3/Numero_3_3/Tenreiro_Vieira_2006_portugu%E9s.pdf

[Acedido: 30/07/2008]

U

UNESCO-ICSU (International Council for Science) (1999). *Declaración de Budapest: declaración sobre la ciencia y el uso del saber científico*. Conferência Mundial sobre a Ciência para o Século XXI: um novo compromisso. Budapeste (Hungria), 26 de Junho a 1 de Julho. <http://www.oei.es/salactsi/budapestdec.htm> [Acedido: 16/10/2008]

V

VALADARES, J. (2001). Estratégias construtivistas e investigativas no ensino das ciências. *Conferência proferida no Encontro: O Ensino das Ciências no âmbito dos Novos Programas*. Porto: Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 4 de Maio.

http://www.ciencias-exp-no-sec.org/documentos/publicacoes_estrat_const.pdf

[Acedido: 10/02/2007]

- VALADARES, J. (2006).** O ensino experimental das ciências: do conceito à prática: investigação/acção/reflexão. *Revista Proformar*. Edição 13, Janeiro, p.5.
http://www.proformar.org/revista/edicao_13/ensino_exp_ciencias.pdf [Acedido: 14/07/2008]
- VALENTE, M. O. (1999).** As vozes das escolas. *Ensino Experimental e Construção de Saberes*. Lisboa: Conselho Nacional de Educação – Ministério da Educação, 133-164.
- VALVERDE, G. J., JIMÉNEZ, R. L., VIZA, A. L. (2005).** Los niveles de abertura en las prácticas cooperativas de química. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 4 (3).
http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen4/ART2_Vol4_N3.pdf
[Acedido: 30/07/2008]
- VALVERDE, G. J., JIMÉNEZ, R. L., VIZA, A. L. (2006).** La atención a la diversidad en las prácticas de laboratorio de química: los niveles de abertura. *Enseñanza de las Ciencias*, 24 (1), 59-70.
- VASCONCELOS, C., LOPES, B., COSTA, N., MARQUES, L., CARRASQUINHO, S. (2007).** Estado da arte na resolução de problemas em educação em ciência. *Revista Electrónica de Enseñanza de las Ciencias*, 6 (2), 235-245.
http://www.saum.uvigo.es/reec/volumenes/volumen6/ART1_Vol6_N2.pdf
[Acedido: 30/07/2008]
- VEIGA, M. L. (2000).** O trabalho prático nos programas portugueses de ciências para a escolaridade básica. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 545-554.
- VERÍSSIMO, A. & RIBEIRO, R. (2001)** – A Biologia no contexto da educação em ciências. In A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 129-137.
- VIDEIRA, A. (2001a).** Clonagem de genes. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 31-37.
- VIDEIRA, A. (2001b).** Vectores de clonagem. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 39-46.
- VIDEIRA, A. (2001c).** Alguma metodologia de análise de genes e seus produtos. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 47-66.

W

WAITES, M. J., MORGAN, N. L., ROCKEY, J. S., HIGTON, G. (2001). *Industrial microbiology: an introduction.* In Blackwell Science (Ed.).

WASKO, A. P., MARTINS, C., OLIVEIRA, C., FORESTI, F. (2003). Non-destructive genetic sampling in fish. An improved method for DNA extraction from fish fins and scales. *Hereditas*, 138, 161-165.

WATSON, J. R. (1994). Diseño y realización de investigaciones en las clases de ciencias. *Alambique: Didáctica de las Ciencias Experimentales*, 2, 57-65.

WELLINGTON, J. (1998). Practical work in science education: time for a reappraisal. In Wellington, J. (Ed.). *Practical work in school science: Which way now?*. Londres: Routledge, 3-15.

WELLINGTON, J. (2000). Re-thinking the role of practical work in science education. In M. Sequeira, L. Dourado, M. T. Vilaça, J. L. Silva, A. S. Afonso, J. M. Baptista (Org.). *Trabalho Prático e Experimental na Educação em Ciências*. Braga: Departamento de Metodologias da Educação. Instituto de Educação e Psicologia, Universidade do Minho, 75-89.

Z

ZOPPI, C. C. (2003). Radicais livres, antioxidantes, estresse oxidativo e atividade física. *Diálogos Possíveis*. Faculdade Social da Baía, Julho/Dezembro, Ano 2, 1, 185-195.
<http://www.fsba.edu.br/dialogospossiveis/artigos/3/13.pdf> [Acedido: 10/02/2007]

LEGISLAÇÃO CONSULTADA

LEGISLAÇÃO CONSULTADA

Lei de Bases do Sistema Educativo: Lei n.º 49/2005 de 30 de Agosto. *D.R. I Série*. 166 (30/08/2005) 5122-5138.

Regime Jurídico da Formação Contínua de Professores: Decreto-Lei n.º 249/92, de 9 de Novembro (com as alterações que lhe foram introduzidas pela Lei n.º 60/93, de 20 de Agosto; pelo Decreto-Lei n.º 274/94, de 28 de Outubro; pelo Decreto-Lei n.º 207/96, de 2 de Novembro; pelo Decreto-Lei n.º 155/99, de 10 de Maio e pelo Decreto-Lei n.º 15/2007, de 19 de Janeiro).

Portaria n.º 1322/2007 de 4 de Outubro: *D. R. I Série*. 192 (04/10/2007) 7170-7123: Estabelece os princípios orientadores da organização e da gestão do currículo, bem como da avaliação e certificação das aprendizagens do nível secundário de educação.

SÍTIOS DA INTERNET CONSULTADOS

SÍTIOS DA INTERNET CONSULTADOS

<http://www.accessexcellence.org/AE/ATG/data/released/0074-GenNelson/index.php>
[Acedido: 10/02/2007]

<http://learn.genetics.utah.edu/es/units/activities/wheatgerm/> [Acedido: 10/02/2007]

http://ppge.ucdavis.edu/Equipment/Protocols/strawberry_dna_extraction_05.pdf
[Acedido: 10/02/2007]

http://www.bio-rad.com/cmc_upload/Literature/12532/4006102b.pdf [Acedido: 10/02/2007]

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/DNA/PDF/DNA15.pdf> [Acedido: 08/02/2006]

http://www.biologia.edu.ar/botanica/tema6/6_5cla-carnosos.htm [Acedido: 10/02/2007]

<http://www-saps.plantsci.cam.ac.uk/worksheets/scotland/milk.htm> [Acedido: 08/02/2006]

<http://eec.dgfdc.min-edu.pt/> [Acedido: 10/02/2007]

http://www.min-edu.pt/data/docs_destaquas/Apres_Gulb_Final.pdf [Acedido: 20/12/2010]

ANEXOS

MEIOS DE CULTURA E SOLUÇÕES

1. Biotecnologia vegetal – cultura *in vitro* de couve-flor e de violeta africana

Preparação de meios de cultura²¹:

a) Para indução de rebentos (e.g. MS e cinetina):

1. Colocar o balão *Erlenmeyer* com 800 mL de água destilada sobre o agitador magnético e adicionar a barra magnética.
2. Pesar 4,4 g de meio MS e adicionar ao balão.
3. Ligar o agitador magnético, o qual deve ser mantido a funcionar durante a adição de todos os constituintes do meio de cultura, a fim de misturar bem a solução.
4. Pesar 30 g de sacarose e adicionar ao balão.
5. Adicionar 2,5 mL de cinetina (retirados a partir da solução stock de 100 mg/100 mL).
6. Após a adição dos constituintes anteriores adicionar água destilada até perfazer o volume de 1000 mL.
7. Medir o pH da solução e acertar o seu valor a 5,8.
8. Pesar 7 g de agar e adicionar à solução anterior.
9. Colocar o meio de cultura no frasco de vidro de 1000 mL (e.g. *Schott*[®]) e esterilizar no autoclave a 121°C e à pressão de 1 atmosfera durante 20 minutos (o frasco deve ir com a tampa pouco enroscada para o autoclave).
10. Dividir o meio de cultura na câmara de fluxo laminar, após a agitação prévia do mesmo, adicionando a cada frasco cerca de 2 cm de altura de meio. Convém esperar que o frasco com o meio arrefeça ligeiramente, para que possa ser manuseado, tendo no entanto em consideração que o agar solidifica com alguma rapidez.
11. Fechar bem os frascos e após a solidificação do meio revestir a tampa com película aderente até serem utilizados.
12. Marcar os frascos com o tipo de meio utilizado.

b) Para enraizamento dos rebentos: deve seguir-se o procedimento anterior não se adicionando qualquer regulador de crescimento ao meio de cultura. No caso da violeta africana o meio MS deve ter metade da concentração por litro, ou seja, 2,2 g.

c) Para indução de rebentos com adubo líquido universal KB^{®22}: deve seguir-se o mesmo procedimento, a única diferença é que neste caso, o meio MS é substituído por 7 mL de *adubo líquido universal KB[®]*.

²¹ Os restantes meios de cultura preparam-se com igual procedimento, variando o tipo de reguladores de crescimento utilizados e a respectiva concentração.

²² Este adubo encontra-se facilmente disponível no mercado e a quantidade a adicionar por litro é sugerida na embalagem.

Preparação da solução stock de cinetina²³ (100 mg/100 mL)

Reagentes:	Procedimento:
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • cinetina • hidróxido de sódio 1M²⁴ 	1 – Pesar 0,1 g de cinetina e adicionar 1 mL de hidróxido de sódio 1M para dissolver este regulador de crescimento. 2 – Adicionar água destilada até perfazer o volume de 100 mL. Guardar no frigorífico a 4°C.

Adubo líquido universal KB[®]

Composição referida no rótulo: 6% de Azoto (N) total, sendo 3,3% nítrico e 2,7% amoniacal; 3% de Anidrido fosfórico (P₂O₅) solúvel em água; 6% de Óxido de potássio (K₂O) solúvel em água. Oligoelementos solúveis em água: 0,01% de Boro (B) total; 0,002% de Cobre (Cu) total quelatado por DTPA; 0,03% de Ferro (Fe) total quelatado por DTPA; 0,01% de Manganésio (Mn) total quelatado por DTPA; 0,001% de Molibdénio (Mo) total; 0,002% de Zinco (Zn) total quelatado por DTPA.

2. Manipulação de DNA e engenharia genética²⁵

a) Preparação do tampão TE (Tris-EDTA)

Aspectos a considerar:

- ⇒ dissolve-se o DNA neste tampão quando se pretende guardá-lo, por exemplo, para trabalhos de electroforese;
- ⇒ precauções – não inalar TRIS ou EDTA, devendo utilizar-se máscara durante a preparação destes reagentes, uma vez que são irritantes, podendo causar danos pelo contacto com a pele ou por inalação;
- ⇒ o procedimento apresentado permite efectuar 100 mL de solução.

Reagentes:	Procedimento:
<ul style="list-style-type: none"> • água destilada • 0,5 M de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA, disodium sal, m.m. 372.24) – 200 µL • 1 M TRIS (pH 8, m.m. 121.10) – 1 mL 	1 – Misturar as soluções de EDTA (200 µL) e de TRIS (1 mL). 2 – Adicionar água destilada até ao volume de 100 mL. Guardar à temperatura ambiente.

Preparação de 0,5 M EDTA (pH 8) – 100 mL de solução:

1. Adicionar 18,6 g de EDTA a 80 mL de água destilada. A solução deve ser efectuada com o agitador.
2. Ajustar a solução ao pH 8 através da adição de hidróxido de sódio (cerca de 2,2 g em pastilhas). Medir o valor de pH.

²³ Este procedimento é válido para a preparação de outros reguladores de crescimento. Alguns reguladores de crescimentos são tóxicos, por isso, devem ser tomadas precauções na preparação das soluções stock, através da utilização de luvas.

²⁴ Preparação de 50 mL de hidróxido de sódio 1M: pesar 2 g de hidróxido de sódio e adicionar 50 mL de água destilada, mexer bem para dissolver as pastilhas.

²⁵ A preparação das soluções para trabalhos com DNA foi retirada de: <http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/DNA/PDF/DNA15.pdf> [Acedido: 08/02/2006]

3. O EDTA apenas se dissolve quando o pH atingir o valor 8 ou superior.
4. Guardar à temperatura ambiente.

Preparação de 1 M de TRIS (pH 8) – 110 mL de solução:

1. Adicionar 13,32 g de Tris a 80 mL de água destilada. A solução deve ser efectuada com o agitador.
2. Adicionar 5 mL de ácido clorídrico comercial 34%.
3. Medir o pH e adicionar gotas de HCl 1M até o pH atingir o valor 8. A solução fica transparente a este valor de pH.
4. Guardar à temperatura ambiente.

b) Preparação do tampão TBE (Tris-Borato-EDTA):

Aspectos a considerar:

- ⇒ usado para efectuar o gel de agarose e como solução tampão para a electroforese;
- ⇒ 10x concentrado – 1 litro.

Reagentes:	Procedimento:
<ul style="list-style-type: none"> • hidróxido de sódio – 1g • TRIS base – 108 g • Ácido bórico – 55 g • EDTA (disodium sal) – 7,4 g 	1 – Adicionar os reagentes referidos a 700 mL de água destilada. Agitar bem para os dissolver. 2 – Adicionar água destilada até ao volume de 1litro. Guardar à temperatura ambiente.

Nota: 1 volume de tampão TBE concentrado deve ser diluído em 9 volumes de água destilada antes de ser utilizado.

c) Tampão de carregamento – Tipo III (6X)

Reagentes:	Procedimento:
<ul style="list-style-type: none"> • Azul de bromofenol • Xileno-cianol • Glicerol em água 	1 – Juntar 0,25% de azul de bromofenol + 0,25% de xileno-cianol + 30% (m/v) de glicerol em água. Guardar no congelador.

d) Preparação do corante Azure A

Aspectos a considerar:

- ⇒ usado para corar ácidos nucleicos num gel de agarose;
- ⇒ 2x concentrado – 50 mL.

Reagentes:	Procedimento:
<ul style="list-style-type: none"> • Azure A – 0,08 g • Álcool etílico a 40% – 50 mL 	1 – Adicionar o Azure A a 50 mL de álcool etílico a 40%. Guardar à temperatura ambiente.

Nota: A solução concentrada deve ser diluída em igual volume de água destilada antes de ser utilizada.

3. Microbiologia

Meios de cultura²⁶:

a) Meios selectivos:

MEIO DE ISOLAMENTO	MEIO DE CRESCIMENTO
<ul style="list-style-type: none"> • 0,4 g de caseína hidrolisada • 1 g de amido solúvel • 0,5 g de nitrato de potássio • 0,1 g de hidrogenofosfato de dipotássio • 0,1 g de fosfato de magnésio • 0,1 g de carbonato de cálcio • 15 g de agar 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 g de glicose • 1 g de extracto de levedura • 1 g de nitrato de potássio • 0,1 g de hidrogenofosfato de dipotássio • 15 g de agar
Preparação: Dissolver em água destilada cada um dos componentes pela ordem com que são apresentados em cada um dos meios (o agar não se dissolve sendo por isso último a ser adicionado), perfazer a solução até 1 litro. Esterilizar no autoclave a 121°C e à pressão de 1 atmosfera durante 20 minutos e imediatamente antes de o dividir pelas placas de Petri adicionar 1 mL de cicloheximida ²⁷ .	

b) Meios complexos²⁸: *Nutrient agar* (NA) – 20 g/L

Nutrient broth (NB) – 8 g/L

Tryptic soy agar (TSA) – 40 g/L

Tryptic soy broth (TSB) – 30 g/L

Soluções:

Preparação do soluto de Lugol:

Reagentes:	Procedimento:
<ul style="list-style-type: none"> • Cristais de iodo (iodo sublimado) – 1g • Iodeto de potássio – 2 g • Água destilada – 300 mL 	1 – Adicionar os cristais de iodo à água destilada. Com auxílio de uma vareta de vidro tentar dissolver os cristais de iodo. Caso os cristais de iodo não se dissolvam completamente adicionar algumas gotas de álcool etílico. 2 – Adicionar 2 g de iodeto de potássio.

²⁶ Se o meio de cultura for dividido na câmara de fluxo laminar, as placas de Petri devem ser deixadas abertas durante alguns minutos para o meio secar, de modo a evitar a condensação do vapor de água nas tampas. Se este procedimento for efectuado numa bancada de laboratório deve fazer-se junto à chama da lamparina e o meio deve estar menos quente.

²⁷ Prepara-se em álcool etílico a 96% numa concentração de 100 mg/mL. Adiciona-se 1 mL de cicloheximida por cada litro de meio de cultura.

²⁸ Em alternativa aos meios de cultura NA e NB podem ser utilizados, respectivamente, meios TSA (*Tryptic soy agar*) e TSB (*Tryptic soy broth*), para os mesmos fins por serem economicamente mais acessíveis.

PROCEDIMENTO 1A²⁹: DESINFECÇÃO E INOCULAÇÃO DOS EXPLANTES DE COUVE-FLOR PARA A INDUÇÃO DE REBENTOS



Fig. 1 – Lavagem dos fragmentos de couve-flor em água corrente.



Fig. 2 – Divisão da couve-flor em explantes.

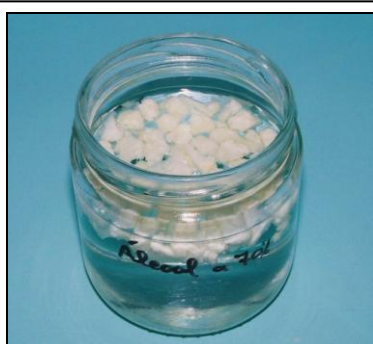


Fig. 3 – Passagem dos explantes por álcool etílico a 70%.

1. Passar por água corrente os fragmentos de couve-flor (parte branca), com o tamanho aproximado de uma cereja, durante 10 minutos (fig. 1).
2. Dividir esse fragmento em várias porções (explantes) (fig. 2).
3. Mergulhar os explantes em álcool etílico a 70% durante 15 a 30 segundos (fig. 3).
4. Efectuar uma passagem por água esterilizada durante 3 minutos.

²⁹ Baseado nas actividades: "Production of plantlets from floral organs of cauliflower" (Storr, 1985) e "Cloned cauliflower" (NCBE, 1995a). <http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PDF/PTC2002.pdf> [Acedido: 10/02/2006]
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PRACBIOTECH/PDF/cauli.pdf> [Acedido: 10/02/2006]

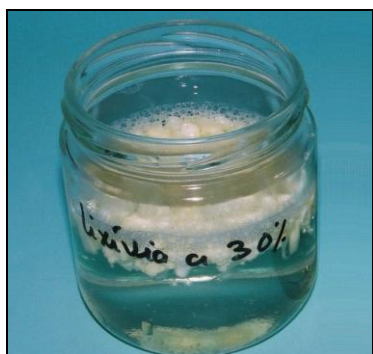


Fig. 4 – Passagem dos explantes por lixívia a 30%.

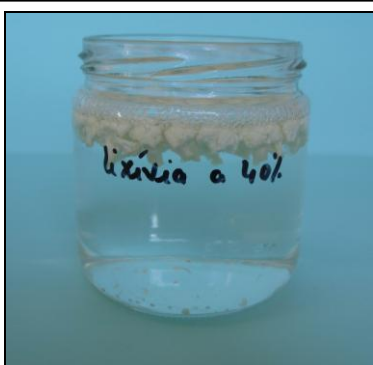


Fig. 5 – Passagem dos explantes por lixívia a 40%.



Fig. 6 – Passagem dos explantes por água esterilizada.

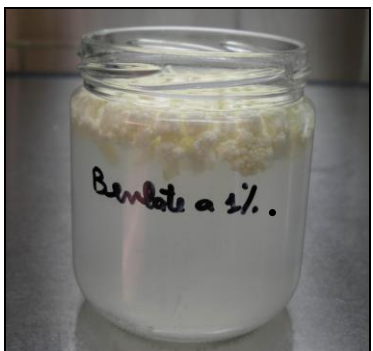


Fig. 7 – Passagem dos explantes por Benlate®.

5. Colocar os explantes na solução de lixívia com detergente a 30%, durante 10 minutos, para desinfetar a superfície do tecido (fig. 4). Este procedimento deve ser efectuado com agitação suave.

6. Repetir o passo 4.

7. Colocar os explantes na solução de lixívia com detergente a 40%, durante 5 minutos (fig. 5). Mais uma vez este procedimento deve ser efectuado com agitação suave.

A partir desta etapa todos os passos devem ser efectuados em condições assépticas na câmara de fluxo laminar para evitar a contaminação dos explantes.

8. Transferir os explantes para água esterilizada passando-os por três sucessivos frascos (fig. 6). Caso se verifique, que a última água ainda contém espuma, deve ser realizada mais uma passagem por água esterilizada (a duração da lavagem dos explantes em cada frasco deve ser de pelo menos 3 minutos e também com agitação).

9. Mergulhar os explantes numa solução de Benlate® a 1g/L, durante 5 minutos, com agitação (fig. 7).

10. Efectuar nova lavagem dos explantes, repetindo o passo 8, com três passagens em água esterilizada. Os explantes podem ser deixados no último frasco com água esterilizada até serem utilizados.



Fig. 8 – Remoção de tecido na base dos explantes.

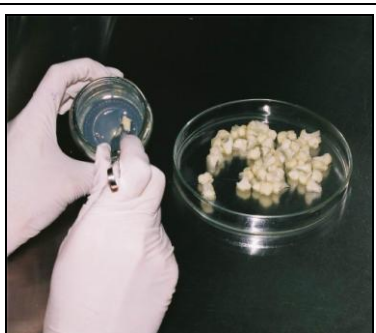


Fig. 9 – Inoculação dos explantes no meio de cultura.

11. Retirar aproximadamente 1 mm de tecido da base de cada explante antes de os introduzir no meio de cultura (fig. 8) (este tecido poderá estar morto pelo contacto directo com as soluções desinfectantes).
12. Introduzir apenas um explante em cada frasco, pressionando-o ligeiramente no meio de cultura (fig. 9). Colocar a tampa, não esquecendo de a revestir com película aderente de modo a reduzir a perda de humidade.
13. Repetir o procedimento anterior para cada frasco de cultura até todos os explantes terem sido colocados *in vitro*.
14. Marcar os frascos com a data e o tipo de meio de cultura.
15. Colocar os frascos numa câmara de cultura de tecidos, com condições de luz (fotoperíodo de 16h de luz), intensidade luminosa ($45 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes – OSRAM L 36W/21) e temperatura ($22\pm 1^\circ\text{C}$) controladas.

O crescimento dos explantes deverá ser visível após 10 dias. As infecções por fungos e/ou bactérias, caso tenham ocorrido, serão visíveis decorridos 15 dias, sendo identificadas ou pelo aparecimento de halos esbranquiçados em volta da base dos explantes, devendo por isso efectuar-se a sua localização na base dos frascos, ou pela pigmentação do meio de cultura. Por outro lado, a ausência de crescimento significa que os tecidos do explante não terão resistido à acção das soluções desinfectantes ou que a concentração de reguladores de crescimento do meio de indução não é adequada para a planta, acabando em ambas as situações os explantes por morrer.

O procedimento seguinte deve ser realizado quando os explantes apresentam elevado número de rebentos.

PROCEDIMENTO 1B: DESINFECÇÃO E INOCULAÇÃO DOS EXPLANTES DE VIOLETA AFRICANA PARA A INDUÇÃO DE REBENTOS



Fig. 1 – Lavagem das folhas, com agitação, em água com detergente.



Fig. 2 – Passagem das folhas por álcool etílico a 70%.



Fig. 3 – Passagem das folhas por lixívia a 20%.



Fig. 4 – Lavagem das folhas em água esterilizada.

1. No dia anterior à desinfecção a planta-mãe foi pulverizada com uma solução de *Benlate*[®] 1g/L (não esterilizado no autoclave).
 2. Lavar bem as folhas em água corrente.
 3. Lavar as folhas com uma solução de água com detergente, durante 10 minutos, com agitação (esta etapa pode ser efectuada manualmente) (fig.1) Caso se verifique a formação de muita espuma, deve fazer-se uma passagem por água antes do passo seguinte.
 4. Mergulhar as folhas em álcool etílico a 70% durante 15 a 30 segundos, com agitação suave (fig. 2).
 5. Colocar as folhas na solução de lixívia com detergente a 20%, durante 15 minutos, com agitação suave para desinfecção a superfície do tecido (fig. 3).
- A partir desta etapa todos os passos devem ser efectuados em condições assépticas na câmara de fluxo laminar para evitar a contaminação das folhas.**
6. Transferir as folhas para água esterilizada passando-as por três sucessivos frascos (fig. 4). Caso se verifique que a última água ainda contém espuma deve ser realizada mais uma passagem por água esterilizada (a duração da lavagem das folhas em cada frasco deve ser de pelo menos 3 minutos e também com agitação).



Fig. 5 – Passagem das folhas por Benlate®.



Fig. 6 – Lavagem das folhas em água esterilizada.



Fig. 7 – Preparação dos explantes de pecíolo.



Fig. 8 – Preparação dos explantes de limbo da folha.

7. Mergulhar as folhas numa solução de *Benlate*® a 1g/L, durante 5 minutos, com agitação (fig. 5).
8. Efectuar nova lavagem das folhas, repetindo o passo 6, com três passagens em água esterilizada (fig. 6). As folhas podem ser deixadas no último frasco com água esterilizada até serem utilizadas.
9. Destacar o pecíolo de uma folha, e antes de o dividir em fragmentos, eliminar 1 mm de tecido da base (este tecido poderá estar morto pelo contacto directo com as soluções desinfectantes).
10. Dividir o pecíolo em vários fragmentos (explantes) através de cortes longitudinais e transversais (fig. 7) (sugerem-se preferencialmente os explantes resultantes de cortes longitudinais). No caso da utilização do limbo da folha, deve-se previamente eliminar as margens da folha, e depois com auxílio do bisturi, efectuar cortes superficiais na página inferior antes de a dividir em pequenos quadrados (explantes) (fig. 8).

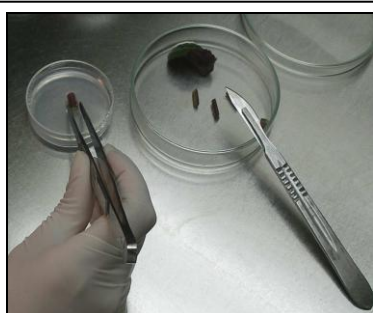


Fig. 9 – Inoculação dos explantes no meio de cultura.

- 11.** Introduzir apenas um explante em cada placa de Petri pressionando-o ligeiramente no meio de cultura (fig. 9). Colocar a superfície de corte dos explantes em contacto directo com o meio de cultura. Tapar a placa de Petri com a tampa, não esquecendo de a revestir com película aderente, de modo a reduzir a perda de humidade.
- 12.** Repetir o procedimento anterior para cada placa de Petri até todos os explantes terem sido colocados *in vitro*.
- 13.** Marcar as placas com a data e o tipo de meio de cultura.
- 14.** Colocar as placas de Petri numa câmara de cultura de tecidos, com condições de luz (fotoperíodo de 16h de luz), intensidade luminosa ($45 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ fornecida por lâmpadas fluorescentes – OSRAM L 36W/21) e temperatura ($22\pm 1^\circ\text{C}$) controladas.

Enquanto que o procedimento de desinfecção foi diferente para as duas plantas, e por isso descrito de forma individual, (procedimento 1A – couve-flor e 1B – violeta africana), as fases de transferência dos rebentos para o meio de enraizamento (procedimento 2), a transferência das plântulas para o substrato de transplante e a aclimatização (procedimento 3), foram descritas somente para a couve-flor, uma vez que os procedimentos efectuados para a violeta africana foram os mesmos.

PROCEDIMENTO 2: TRANSFERÊNCIA DOS REBENTOS PARA O MEIO DE ENRAIZAMENTO



Fig. 1 – Transferência dos rebentos para a placa de Petri.

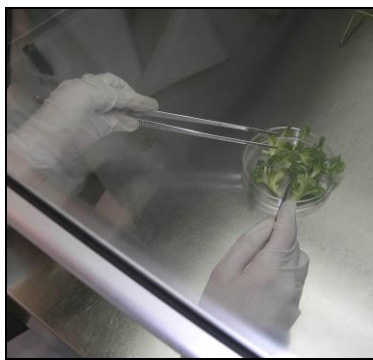


Fig. 2 – Separação dos rebentos.

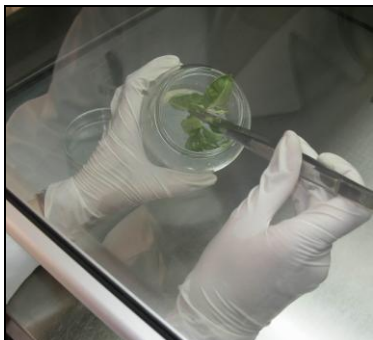


Fig. 3 – Inoculação de um rebento no meio de cultura.



Fig. 4 – Aspecto de um rebento.

1. Retirar de um frasco de cultura, com auxílio de uma pinça, os rebentos provenientes de um explante para uma placa de Petri (fig. 1).
2. Separar com a pinça vários rebentos constituídos por caules e folhas (fig. 2).
3. Introduzir, com a pinça, um rebento no meio de enraizamento pressionando ligeiramente o caule no meio de cultura (fig. 3). Colocar apenas um rebento em cada frasco. Colocar a tampa, não esquecendo de a revestir com película aderente, de modo a reduzir a perda de humidade.
4. Repetir o procedimento anterior para cada frasco de cultura até todos rebentos (fig. 4) terem sido colocados *in vitro*.
5. Marcar os frascos com a data e o tipo de meio de cultura.

PROCEDIMENTO 3: TRANSFERÊNCIA DAS PLÂNTULAS PARA O SUBSTRATO DE TRANSPLANTE E ACLIMATIZAÇÃO



Fig. 1 – Preparação do substrato de transplante.



Fig. 2 – Separação das plântulas.



Fig. 3 – Remoção do meio de cultura das raízes.



Fig. 4 – Corte das folhas próximas da raiz.

1. Misturar muito bem 2 partes de vermiculite e 1 parte de turfa (após prévia esterilização no autoclave) num tabuleiro (fig. 1). Em seguida adicionar água destilada de modo a humedecer o solo.
2. Retirar as plântulas do frasco de cultura para uma placa de Petri e separá-las com uma pinça, cuidadosamente, para não danificar as raízes (fig. 2).
3. Lavar com água corrente a raiz de uma planta, com auxílio de uma pinça, para retirar os restos do meio de cultura (fig. 3).
4. Cortar com uma tesoura as folhas que ficam mais próximas da raiz para evitar o seu apodrecimento em contacto com o substrato de transplante (fig. 4).



Fig. 5 – Colocação da plântula no vaso.



Fig. 6 – Pulverização com água destilada.



Fig. 7 – Estufim.

5. Colocar uma pequena porção do substrato de transplante num vaso e colocar a raiz da plântula na parte central. Voltar a adicionar mais substrato de transplante em volta da plântula (fig. 5).
6. Pulverizar com água destilada (fig. 6).
7. Colocar as plântulas no estufim e fechá-lo com a tampa (fig. 7). Nos primeiros 8 dias, as plântulas devem ser pulverizadas com água destilada duas vezes por dia, para manter os níveis de humidade elevados de forma a evitar o stress hídrico.
8. Colocar o estufim na estufa de aclimatização com condições de luz, intensidade luminosa e temperatura controladas.
9. Adicionar, após 8 dias, uma pequena porção de meio MS (sem reguladores de crescimento e não esterilizado) a cada planta, para estimular o crescimento (opcional).

A transferência para o substrato de transplante deve efectuar-se quando as plântulas apresentarem raízes bastante desenvolvidas. Decorridos os primeiros oito dias, pulverizam-se as plântulas com água destilada, uma vez por dia, durante mais oito dias. Após este período inicial, a pulverização das plantas deve ser reduzida de forma gradual, de modo a permitir uma adaptação progressiva a ambientes com menor humidade. O controlo posterior deve ser efectuado adicionando água (mesmo da torneira) à base do estufim e/ou aos vasos sempre que se verifique ser necessário. Durante o período de aclimatização, após as pulverizações, o estufim deve permanecer fechado com a tampa.

PROCEDIMENTO 4A³⁰: EXTRACÇÃO DE DNA DE GÉRMEN DE TRIGO (PROCEDIMENTO SIMPLES)



Fig. 1 – Adição de gérmen de trigo ao tubo de ensaio.



Fig. 2 – Adição de água quente.

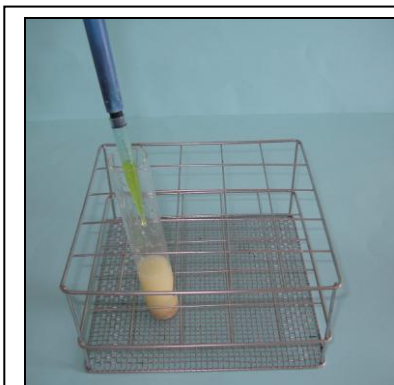


Fig. 3 – Adição de detergente.

1. Colocar 1 g de gérmen de trigo num tubo de ensaio de 50 mL (fig. 1). Este procedimento não permite obter resultados com gérmen de trigo torrado.
2. Adicionar 20 mL de água quente (50-60°C) e misturar com uma vareta, constantemente, mas com cuidado durante 3 minutos (fig. 2). A água a este intervalo de temperatura ajuda a amolecer a parede celular e a membrana plasmática e vai desnaturar enzimas – desoxirribonucleases – que possam degradar o DNA.
3. Adicionar 1 mL de detergente e misturar com cuidado a cada ½ minuto, durante 5 minutos (fig. 3) (evitar a formação de espuma).

³⁰ Procedimento da Acção de Formação “Manipulação de DNA – Desafios no Novo programa de Biologia do 12º Ano”, realizado pela formadora Doutora Albertina Lopes. Retirado de Genetic Science Learning Center, University of Utah: <http://learn.genetics.utah.edu/es/units/activities/wheatgerm/> [Acedido: 10/02/2007]

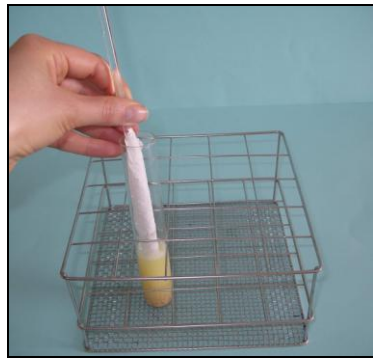


Fig. 4 – Absorção do excesso de espuma.

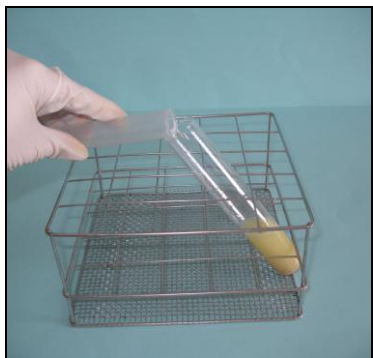


Fig. 5 – Adição de álcool etílico.

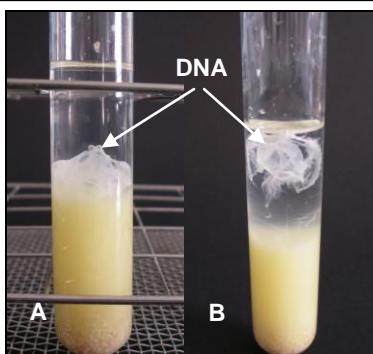


Fig. 6 – Precipitação do DNA.



Fig. 7 – Recolha do DNA.

4. Retirar o excesso de espuma, caso se tenha formado, utilizando papel absorvente envolvido numa vareta de vidro. Esperar 10 minutos para arrefecer a mistura (fig. 4).
5. Adicionar, muito lentamente, com o tubo de ensaio ligeiramente inclinado, 14 mL de álcool etílico frio, de modo a formar uma camada incolor no topo da mistura (fig. 5). Não misturar as duas camadas. O DNA não se dissolve no álcool etílico aparecendo na interfase entre as duas camadas (mistura/álcool etílico) (fig. 6A).
6. Deixar repousar durante 15 minutos. O DNA precipita na camada superior, sob a forma de um emaranhado de cor branca, onde se torna mais visível, acabando por flutuar no topo da camada de álcool etílico (fig. 6B).
7. Recolher o DNA com uma pinça (fig. 7) ou com um espeto de madeira (para espetadas), o qual deve ser rodado sempre no mesmo sentido, para que o DNA se enrole à sua volta.
8. Guardar o DNA numa solução de álcool etílico a 50% num microtubo *Eppendorf*[®].

PROCEDIMENTO 4B³¹: EXTRAÇÃO DE DNA DE MORANGO (PROCEDIMENTO SIMPLES)



Fig. 1 – Preparação da solução de extração.



Fig. 2 – Esmagamento do morango.



Fig. 3 – Adição da solução de extração à polpa do morango.

1. Preparar a solução de extração com 18 mL de água destilada e 0,3 g de sal de cozinha. Depois de dissolvido o sal, adicionar 1 mL de detergente (fig. 1).
2. Lavar bem o morango em água corrente e retirar a parte verde.
3. Cortar o morango em pedaços pequenos e esmagar bem com auxílio de um garfo (fig. 2).
4. Adicionar a solução de extração à polpa do morango (fig. 3) e misturar com uma vareta de vidro durante 1 minuto, evitando a formação de bolhas.

³¹ Procedimento da Acção de Formação “Manipulação de DNA – Desafios no Novo programa de Biologia do 12º Ano”, realizado pela formadora Doutora Albertina Lopes. Retirado de Biotechnology in the Classroom, University of California Davis. http://ppge.ucdavis.edu/Equipment/Protocols/strawberry_dna_extraction_05.pdf [Acedido: 10/02/2007]



Fig. 4 – Filtração.

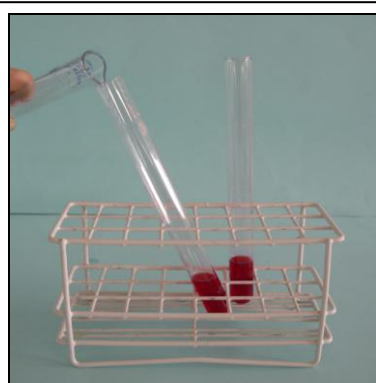


Fig. 5 – Adição de álcool etílico.



Fig. 6 – Precipitação do DNA.

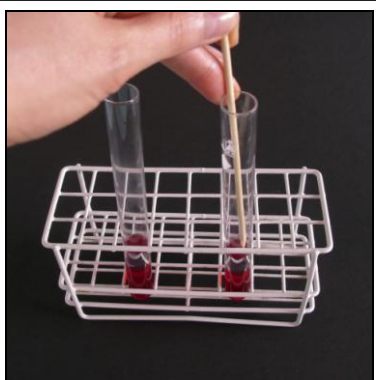


Fig. 7 – Recolha do DNA.

5. Filtrar a mistura para uma proveta, com cuidado, para evitar que a espuma contamine o filtrado (fig. 4).
6. Dividir o filtrado por dois tubos de ensaio.
7. Retirar o excesso de espuma, caso se tenha formado, utilizando papel absorvente envolvido numa vareta de vidro.
8. Adicionar, muito lentamente, a cada tubo de ensaio ligeiramente inclinado, 5 mL de álcool etílico frio, de modo a formar uma camada incolor no topo do filtrado (fig. 5). Não misturar as duas camadas. O DNA não se dissolve no álcool etílico aparecendo na interfase entre as duas camadas (filtrado/álcool etílico).
9. Deixar repousar durante 5 minutos. Decorrido este tempo agitar ligeiramente os tubos de ensaio. O DNA precipita na camada superior, sob a forma de um emaranhado de cor branca, onde se torna mais visível, acabando por flutuar no topo da camada de álcool etílico (fig. 6).
10. Recolher o DNA com um espeto de madeira (para espetadas), o qual deve ser rodado sempre no mesmo sentido, para que o DNA se enrole à sua volta (fig. 7).
11. Guardar o DNA numa solução de álcool etílico, entre 50 a 70%, num microtubo *Eppendorf*[®].

PROCEDIMENTO 5A³²: EXTRAÇÃO DE DNA DE CEBOLA PARA ELECTROFORESE

Fig. 1 – Preparação da solução de extração de DNA.



Fig. 2 – Pesagem da cebola.



Fig. 3 – Maceração da cebola.



Fig. 4 – Aquecimento no banho-maria.

1. Misturar 20 mL de água destilada com 1,5 g de sal de cozinha. Depois de dissolvido o sal, adicionar 5 mL de detergente (diluído em água destilada na proporção de 1:1) e 200 µL de ureia. Perfezer o volume final de 50 mL com água destilada – solução de extração (fig. 1).

Nota: A utilização de ureia é opcional, devendo ser adicionada à solução de extração, caso se pretenda submeter os ácidos nucleicos extraídos a electroforese.

2. Cortar meia cebola em pedaços muito pequenos e pesar 50 g (fig. 2).

3. Colocar a cebola num almofariz e adicionar a solução de extração. Macerar com o pilão (fig. 3).

4. Colocar a mistura num *gobelé* em banho-maria, a 60°C, durante exactamente 15 minutos e tapá-lo com película aderente (fig. 4). A temperatura além de ajudar a amolecer a parede celular e a membrana plasmática vai desnaturar enzimas – desoxirribonucleases – que possam degradar o DNA.

³² Baseado na actividade “Isolation of DNA from onions” retirada dos documentos: “Investigating plant DNA” (NCBE, 2001) e “Microbes and Molecules” (EIBE, 1995). <http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01EN.PDF> [Acedido: 30/07/2008] <http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/MATERIALS/PUBLICATIONS/PDF/PlantSG.pdf> [Acedido: 10/02/2006]



Fig. 5 – Arrefecimento no gelo.



Fig. 6 – Filtração.



Fig. 7 – Adição de protease.



Fig. 8 – Centrifugação.

5. Arrefecer a mistura, colocando-a em gelo dentro de um *gobelé* de plástico durante 5 minutos, mexendo frequentemente (fig. 5).

6. Filtrar a mistura para uma proveta, com cuidado, para evitar que a espuma contamine o filtrado (fig. 6).

7. Dividir o filtrado por dois tubos de ensaio colocando em cada um deles 10 mL de filtrado. Adicionar 3 a 4 gotas de protease a cada um e agitar bem (fig. 7). Caso se forme espuma a mesma deve ser retirada com uma vareta de vidro envolvida em papel absorvente.

Nota: A adição de protease é opcional, devendo contudo ser efectuada, caso se pretenda submeter os ácidos nucleicos a electroforese.

8. Passar o filtrado para dois tubos tipo *Falcon*[®] de 15 mL e centrifugar a 2000 g (aproximadamente 4800 rpm) durante 5 minutos (fig. 8). Remover o sobrenadante para dois novos tubos de ensaio.

Nota: Esta etapa é opcional, devendo efectuar-se caso se pretenda submeter os ácidos nucleicos a electroforese.



Fig. 9 – Adição de álcool etílico.

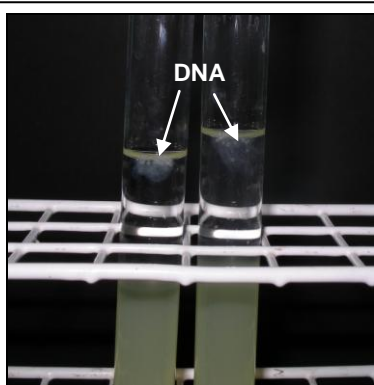


Fig. 10 – Precipitação do DNA.



Fig. 11 – Centrifugação.

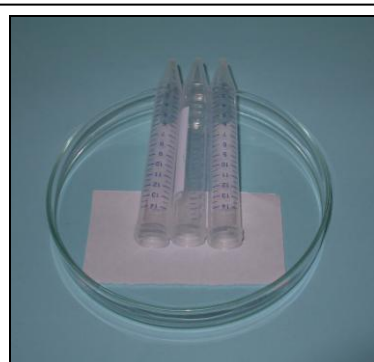


Fig. 12 – Secagem do sedimento.

9. Adicionar, muito lentamente a cada tubo de ensaio, ligeiramente inclinado, 3 mL de álcool etílico frio, de modo a formar uma camada incolor na parte superior da solução (fig. 9). Não misturar as duas camadas. O DNA não se dissolve no álcool etílico, aparecendo na interfase entre as duas camadas (solução/álcool etílico).

10. Deixar repousar durante 10 minutos. Decorrido este tempo agitar ligeiramente os tubos de ensaio. O DNA precipita na camada superior, sob a forma de um emaranhado de cor branca, onde se torna mais visível, acabando por flutuar no topo da camada de álcool etílico (fig. 10).

As restantes etapas referem-se ao procedimento a efectuar, quando se pretende guardar os ácidos nucleicos extraídos, para posterior análise por electroforese.

11. Colocar o conteúdo de cada tubo de ensaio num tubo tipo *Falcon*[®] de 15 mL e centrifugar a 2000 g (aproximadamente 4800 rpm) durante 5 minutos (fig. 11), de forma a obter um sedimento branco.

12. Remover o sobrenadante invertendo, cuidadosamente, cada tubo *Falcon*[®] em sentido contrário ao da posição do sedimento, para evitar a perda de amostras. Deixar os tubos durante a noite ligeiramente invertidos sobre papel de filtro de forma a secar o sedimento (fig. 12). O sedimento deve estar completamente seco antes da adição do tampão TE (fig. 13).



Fig. 13 – Aspecto do sedimento com DNA.



Fig. 14 – Adição do tampão TE.

13. Adicionar 200 μL de tampão TE a cada tubo *Falcon*[®] e agitar de forma a dissolver os ácidos nucleicos (fig. 14) (pode utilizar-se água esterilizada caso a amostra seja guardada por pouco tempo). Para facilitar a dissolução, os tubos *Falcon*[®] podem ser colocados durante 10 minutos no banho-maria a 37°C, e em seguida agitar bem. Transferir as amostras para microtubos *Eppendorf*[®]. Guardar no frigorífico a 4°C.

Este procedimento foi também testado com kiwi, ervilhas e morangos. No caso do kiwi o procedimento foi igual. Relativamente às ervilhas, devem ser previamente descongeladas e bem maceradas com a solução de extração, adicionando-se no final, 500 μL de tampão TE a cada tubo *Falcon*[®], para a dissolução do sedimento. Para o morango, deve escolher-se um de maior tamanho, e a solução de extração dever ser constituída por: 18 mL de água destilada; 0,3 g de sal de cozinha; 1 mL de detergente e 200 μL ureia.

No que diz respeito à recolha do DNA, apesar dos procedimentos simples anteriormente descritos referirem a utilização de espetos de madeira, este processo verificou-se ser pouco eficaz, uma vez que, além do DNA não se enrolar facilmente, existem dificuldades acrescidas quando se pretende introduzi-lo, depois de seco, no tampão TE. Deste modo, optou-se por uma centrifugação para a recolha do sedimento com DNA para os procedimentos de extração, seguidos de electroforese em gel de agarose.

Nos procedimentos descritos o filtrado divide-se, no mínimo, por dois tubos de ensaio (preferencialmente por três) de modo a compensar a perda de alguma amostra e/ou para obter várias amostras provenientes do mesmo material vegetal.

PROCEDIMENTO 5B: EXTRAÇÃO DE DNA DE GÉRMEN DE TRIGO PARA ELECTROFORESE



Fig. 1 – Preparação da solução de extração de DNA.

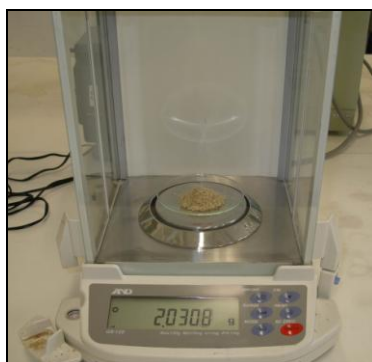


Fig. 2 – Pesagem do gérmen de trigo.



Fig. 3 – Adição da solução de extração ao gérmen de trigo.

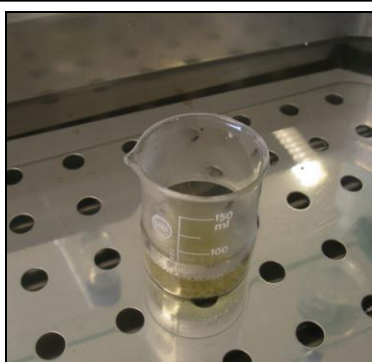


Fig. 4 – Aquecimento no banho-maria.

1. Misturar 20 mL de água destilada com 1,5 g de sal de cozinha. Depois de dissolvido o sal, adicionar 5 mL de detergente (diluído em água destilada na proporção de 1:1) e 500 μ L de ureia. Perfazer o volume final de 50 mL com água destilada – solução de extração (fig. 1). Gérmen de trigo torrado não pode ser usado.
2. Pesar 2 g de gérmen de trigo (fig. 2).
3. Adicionar a solução de extração ao gérmen de trigo e mexer cuidadosamente para evitar a formação de espuma (fig. 3).
4. Colocar a mistura num *gobelé* em banho-maria, a 60°C, durante exactamente 15 minutos e tapá-lo com película aderente (fig. 4). A temperatura além de ajudar a amolecer a parede celular e a membrana plasmática vai desnaturar enzimas – desoxirribonucleases – que possam degradar o DNA.

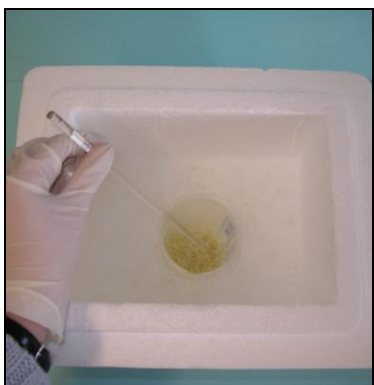


Fig. 5 – Arrefecimento no gelo.



Fig. 6 – Filtração.



Fig. 7 – Adição de protease.



Fig. 8 – Centrifugação.

5. Arrefecer a mistura, colocando-a em gelo dentro de um *gobelé* de plástico durante 5 minutos, mexendo frequentemente (fig. 5).

6. Filtrar a mistura para uma proveta, com cuidado, para evitar que a espuma contamine o filtrado (fig. 6).

7. Dividir o filtrado por dois tubos de ensaio colocando em cada um deles 10 mL de filtrado. Adicionar 3 a 4 gotas de protease a cada um e agitar bem (fig. 7). Caso se forme espuma a mesma deve ser retirada com uma vareta de vidro envolvida em papel absorvente.

8. Passar o filtrado para dois tubos tipo *Falcon*[®] de 15 mL e centrifugar a 2000 g (aproximadamente 4800 rpm) durante 5 minutos (fig. 8). Remover o sobrenadante para dois novos tubos de ensaio.



Fig. 9 – Adição de álcool etílico.

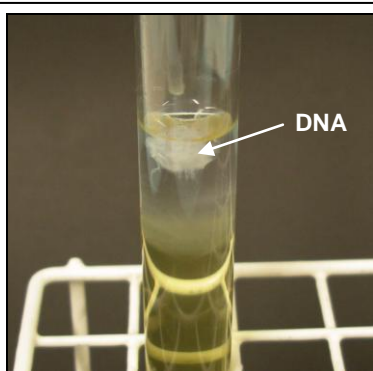


Fig. 10 – Precipitação do DNA.



Fig. 11 – Centrifugação.

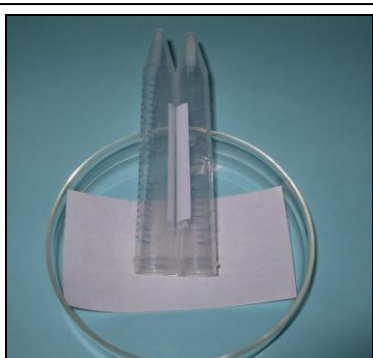


Fig. 12 – Secagem do sedimento.

9. Adicionar, muito lentamente a cada tubo de ensaio, ligeiramente inclinado, 3 mL de álcool etílico frio, de modo a formar uma camada incolor na parte superior da solução (fig. 9). Não misturar as duas camadas. O DNA não se dissolve no álcool etílico, aparecendo na interfase entre as duas camadas (solução/álcool etílico).

10. Deixar repousar durante 10 minutos. Decorrido este tempo agitar ligeiramente os tubos de ensaio. O DNA precipita na camada superior, sob a forma de um emaranhado de cor branca, onde se torna mais visível, acabando por flutuar no topo da camada de álcool etílico (fig. 10).

11. Colocar o conteúdo de cada tubo de ensaio num tubo tipo *Falcon*[®] de 15 mL e centrifugar a 2000 g (aproximadamente 4800 rpm) durante 5 minutos (fig. 11), de forma a obter um sedimento branco.

12. Remover o sobrenadante invertendo, cuidadosamente, cada tubo *Falcon*[®] em sentido contrário ao da posição do sedimento, para evitar a perda de amostras. Deixar os tubos durante a noite ligeiramente invertidos sobre papel de filtro de forma a secar o sedimento (fig. 12). O sedimento deve estar completamente seco antes da adição do tampão TE (fig. 13).

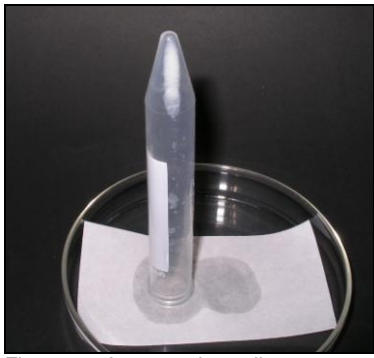


Fig. 13 – Aspecto do sedimento com DNA.



Fig. 14 – Adição do tampão TE.

13. Adicionar 200 μL de tampão TE a cada tubo *Falcon*[®] e agitar de forma a dissolver os ácidos nucleicos (fig. 14) (pode utilizar-se água esterilizada caso a amostra seja guardada por pouco tempo). Para facilitar a dissolução, os tubos *Falcon*[®] podem ser colocados durante 10 minutos no banho-maria a 37°C, e em seguida agitar bem. Transferir as amostras para microtubos *Eppendorf*[®]. Guardar no frigorífico a 4°C.

PROCEDIMENTO 6³³: ELECTROFORESE EM GEL DE AGAROSE

Fig. 1 – Preparação do tecido de fibra de carbono – eléctrodos.



Fig. 2 – Pesagem da agarose.



Fig. 3 – Dissolução da agarose no microondas.

A – Preparação do gel

1. Cortar dois pedaços do tecido de fibra de carbono, com aproximadamente 45 mm X 22 mm, e verificar se encaixam correctamente nas extremidades da tina (fig. 1). Guardar os pedaços de fibra de carbono para serem posteriormente utilizados.
2. Pesar 0,096 g de agarose (fig. 2) e adicioná-la a um frasco *Erlenmeyer* com 12 mL de tampão TBE (gel de agarose 0,8% efectuado na solução tampão TBE).
3. Dissolver a agarose no microondas fervendo, cuidadosamente, para não verter a solução (fig. 3). Durante o aquecimento é conveniente agitar o frasco *Erlenmeyer* algumas vezes para facilitar dissolução de toda a agarose (usar uma luva de pano). Uma vez dissolvida a agarose, a solução fica transparente. Esta solução também pode ser efectuada numa placa de aquecimento.
4. Colocar o pente de 6 dentes na ranhura existente numa das extremidades da tina de electroforese. Colocar a tina numa superfície lisa antes de adicionar a solução de agarose.

³³ Adaptado da actividade “*The lambda DNA protocol*” (Madden, 2001).

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/MATERIALS/PUBLICATIONS/PDF/LambdaSG.pdf> [Acedido: 31/01/2009]

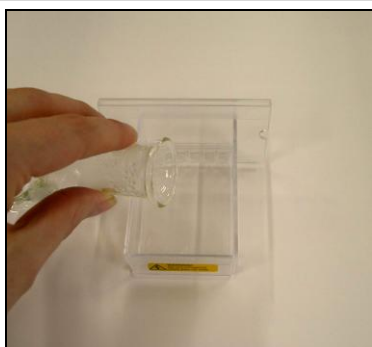


Fig. 4 – Adição da solução de agarose à tina de electroforese.



Fig. 5 – Remoção do pente.



Fig. 6 – Adição da solução tampão TBE.



Fig. 7 – Adição do tampão de carregamento ao parafilme.

5. Aguardar que a temperatura da solução diminua para 55-60°C (quando for suportável agarrar o frasco *Erlenmeyer* sem luvas). Verter a solução na tina de modo a encher a cavidade central, entre as duas saliências existentes no fundo, assegurando que tenha fluido por baixo e entre os dentes do pente (fig. 4). Caso se derrame solução de agarose para as extremidades da tina esperar que solidifique para depois a remover.

6. Deixar a tina em repouso durante 20-30 minutos, até o gel solidificar completamente (o gel ficará opaco).

B – Carregamento do gel

7. Remover cuidadosamente o pente do gel para não danificar os poços (fig. 5). Colocar a tina num local onde possa permanecer em repouso durante o decorrer da electroforese.

8. Adicionar 20 mL da solução tampão TBE sobre a tina (fig. 6). A solução além de encher os poços deixados pelo pente, deve cobrir a superfície do gel (cerca de 5 mm acima do gel) e preencher as áreas de cada extremidade da tina.

9. Cortar um rectângulo de parafilme. Separar o papel que reveste a película transparente e utilizar a parte interior desta. Adicionar, com a microseringa, 2 μ L do tampão de carregamento de acordo com o número de amostras pretendidas (fig. 7) (pode utilizar-se a mesma ponta). A numeração efectua-se no papel escrito que se coloca por baixo da película transparente.



Fig. 8 – Mistura da amostra de DNA com o tampão de carregamento.

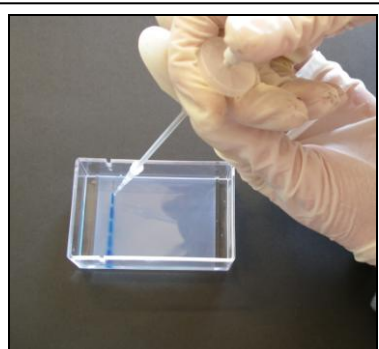


Fig. 9 – Introdução das amostras nos poços da tina de electroforese.

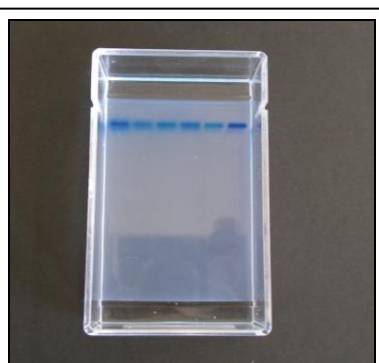


Fig. 10 – Aspecto do gel depois de carregados todos os poços.

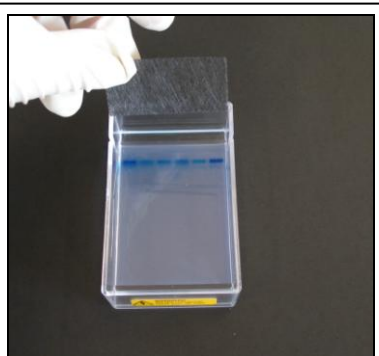


Fig. 11 – Introdução da fibra de carbono – eléctrodos – na tina.

10. Retirar 10 μL da amostra de DNA com a microseringa e adicioná-la ao tampão de carregamento, misturando cuidadosamente, através de movimentos circulares (fig. 8). Eliminar previamente o ar que possa existir na extremidade da ponta da microseringa de forma a evitar a formação de bolhas.

11. Pipetar a mistura da amostra de DNA com o tampão de carregamento para dentro do primeiro poço, segurando a ponta acima do orifício, mas debaixo da solução tampão TBE (fig. 9).

Nota: Esta etapa requer cuidados especiais para que o fundo do poço não seja perfurado com a ponta da microseringa. O carregamento das amostras será mais facilmente visualizado ao colocar-se a tina sobre uma superfície escura, por exemplo, um pedaço de papel/cartolina preta.

12. Repetir os passos 10 e 11 para as restantes amostras (fig. 10).

Nota: Para evitar a contaminação cruzada deve utilizar-se sempre uma ponta nova para cada amostra.

C – Corrida do gel

13. Colocar os dois pedaços de fibra de carbono em cada uma das extremidades da tina – estes serão os eléctrodos (fig. 11).

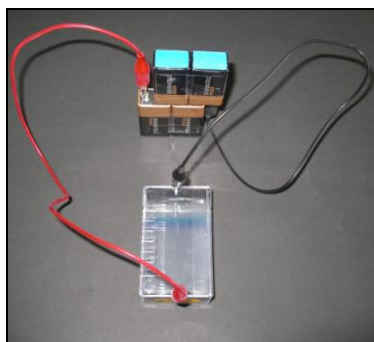


Fig. 12 – Ligeira dos electrodos às pilhas com fios de molas de crocodilo.

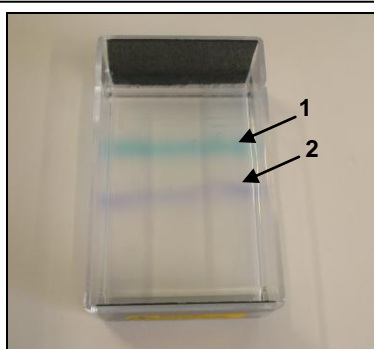


Fig. 13 – Progressão das amostras no gel. 1 – Local de visualização das bandas de DNA; 2 – Tampão de carregamento.

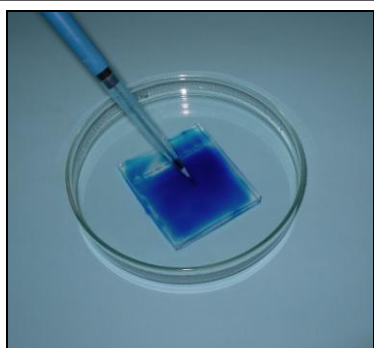


Fig. 14 – Coloração do gel com Azure A.



Fig. 15 – Lavagem do gel com água destilada.

14. Ligar os electrodos às pilhas usando os fios com molas de crocodilo (fig. 12). Deverão ser utilizadas pilhas em série para fornecer uma voltagem de 36 volts. O terminal positivo das pilhas liga-se, com o fio vermelho, ao electrodos mais afastados dos poços. O terminal negativo liga-se, com o fio preto, ao electrodos junto dos poços.

15. Verificar se há contacto entre a solução tampão e os electrodos (acrescentar mais solução tampão TBE, caso necessário). Se estiver a passar a corrente eléctrica serão visíveis bolhas provenientes de ambos os electrodos.

16. Colocar o pente sobre a tina para reduzir a evaporação da solução tampão.

17. Deixar o gel a correr em repouso durante 1,5 – 2 horas.

18. Desligar as pilhas logo que o corante arroxeadado estiver próximo do fim do gel (fig. 13). Limpar as molas de crocodilo com água da torneira e secá-las bem para prevenir a corrosão.

C – Coloração do gel

19. Retirar os electrodos e deitá-los fora. Verter a solução tampão para fora da tina (esta solução poderá ser guardada e reutilizada várias vezes).

20. Retirar o gel, cuidadosamente, com uma espátula para uma placa de Petri (este processo deve iniciar-se pela parte do gel mais afastada dos poços).

- 21.** Adicionar sobre o gel 500 μ L do corante Azure A, durante exactamente 4 minutos, cobrindo-o totalmente (fig. 14). Tal como a solução tampão, este corante pode ser reutilizado várias vezes, no entanto, nestas aplicações poderá ter de ficar sobre o gel um pouco mais de tempo.
- 22.** Lavar a superfície do gel com 5 mL de álcool etílico durante alguns segundos.
- 23.** Eliminar o álcool etílico e lavar a superfície do gel com água destilada fria, repetindo o processo 3 a 4 vezes, para eliminar o excesso de corante (fig. 15) (a água com cloro provoca o desaparecimento da cor do gel). O corante não removido vai deslocar-se gradualmente para o interior do gel corando o DNA. Bandas muito suaves poderão ser visíveis após 15 minutos.
- 24.** Tapar a placa de Petri e envolvê-la com película aderente ou introduzi-la dentro de um saco de plástico para evitar a desidratação do gel. Em seguida, deixar o gel “revelar” durante a noite, uma vez que as bandas se apresentam mais visíveis no dia seguinte. Os géis podem ser guardados indefinidamente no frigorífico dentro de um saco de plástico fechado.

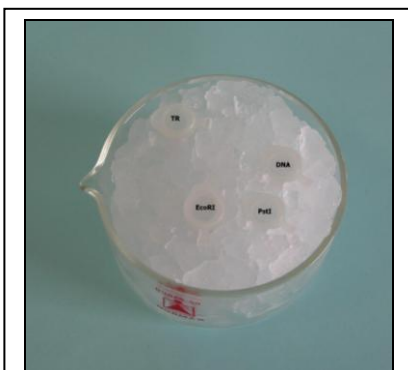
PROCEDIMENTO 7³⁴: DIGESTÃO DO DNA LAMBDA PELA *EcoRI* E *PstI*

Fig. 1 – Introdução dos microtubos com as soluções para a digestão do DNA no gelo.

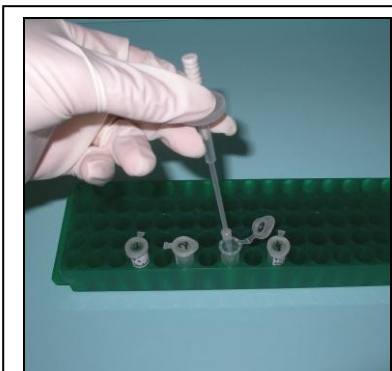


Fig. 2 – Adição de componentes aos microtubos.

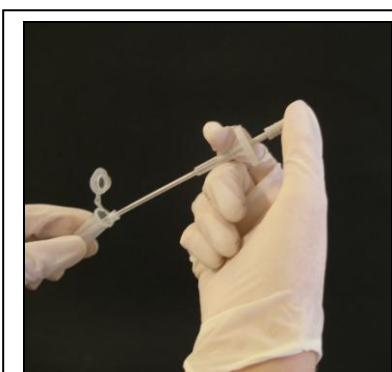


Fig. 3 – Posicionamento do microtubo para a adição do DNA lambda.

A – Digestão do DNA

1. Colocar os microtubos com as soluções enzimáticas, o DNA lambda e o tampão de restrição no gelo (fig. 1).
2. Marcar quatro microtubos *Eppendorf*[®] com os números de 1 a 4 e colocá-los no suporte:
 - 1 – marcador/padrão λ /*HindIII* (este tubo será posteriormente utilizado na fase B – electroforese)
 - 2 – DNA lambda “não cortado”
 - 3 – produto da digestão do DNA lambda com *EcoRI*
 - 4 – produto da digestão do DNA lambda com *PstI*
3. Adicionar aos microtubos 2, 3 e 4 DNA lambda, tampão de restrição e enzima, de acordo com a tabela seguinte (fig. 2):

Microtubos	DNA Lambda	Tampão de restrição	<i>EcoRI</i>	<i>PstI</i>
2	10 μ L	10 μ L	-	-
3	8 μ L	10 μ L	2 μ L	-
4	8 μ L	10 μ L	-	2 μ L

Nota: Primeiro adiciona-se o DNA aos microtubos, em seguida o tampão de restrição e depois as enzimas. Utilizar por microtubo uma ponta nova para adicionar o tampão de restrição e as enzimas.

4. Inclinar ligeiramente cada microtubo e adicionar no fundo, junto às paredes deste, cada componente para verificar se de facto as adições foram efectuadas (fig. 3).

³⁴ Procedimento da Acção de Formação “Manipulação de DNA – Desafios no Novo programa de Biologia do 12º Ano”, realizado pela formadora Doutora Albertina Lopes. Retirado da actividade “Restriction Digestion and Analysis of Lambda DNA Kit”, Instruction Manual, Catalog #166-0002EDU, BIO-RAD.
http://www.bio-rad.com/cmc_upload/Literature/12532/4006102b.pdf [Acedido: 10/02/2007]

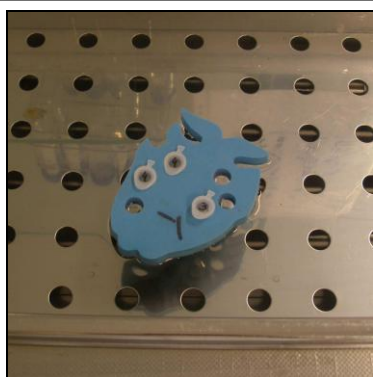


Fig. 4 – Incubação no banho-maria a 37°C.

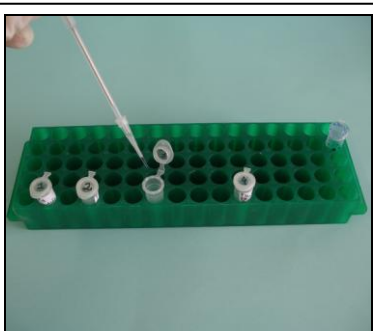


Fig. 5 – Adição do tampão de carregamento.



Fig. 6 – Incubação a 65°C.

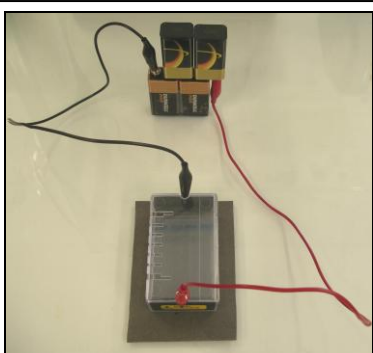


Fig. 7 – Corrida do gel na tina de electroforese.

5. Tapar cuidadosamente os microtubos. Agitar ligeiramente, através de movimentos com os dedos no fundo de cada microtubo, de forma a misturar todos os componentes. Terminar com pancadas leves sobre a bancada de trabalho para recolher a mistura no fundo de cada microtubo.
6. Colocar os microtubos no banho-maria a 37°C durante 1 hora (fig. 4). Os microtubos também podem incubar durante a noite à temperatura ambiente. As enzimas de restrição actuam melhor a 37°C uma vez que foram isoladas de bactérias que vivem dentro de animais de sangue quente. Após a incubação os microtubos podem ser guardados no frigorífico ou prosseguir para a electroforese.

B – Preparação das amostras para a electroforese em gel de agarose

7. Adicionar ao primeiro microtubo 15 μL de DNA do marcador/padrão λ /*HindIII*.
8. Adicionar a cada um dos quatro microtubos 2 μL do tampão de carregamento (fig. 5) e voltar a agitar, tal como descrito no passo cinco.
9. Incubar os tubos 1, 3 e 4 a 65°C (fig. 6) durante 5 minutos e depois colocá-los em gelo durante 8 minutos. Este processo permite uma melhor separação dos fragmentos/bandas de DNA.

- 10.** Preparar o gel de agarose conforme o procedimento anteriormente descrito, no entanto, atendendo à quantidade de amostra a inserir nos poços, deve utilizar-se o pente de 4 dentes.
- 11.** Pipetar o conteúdo de cada microtubo para os diferentes poços do gel, utilizando sempre uma ponta nova. Os géis são analisados da esquerda para a direita, sendo o DNA marcador carregado no primeiro poço e depois as outras amostras, de acordo com a seguinte sequência:
 - Poço 1 – DNA marcador/padrão λ /*HindIII*
 - Poço 2 – DNA lambda “não cortado”
 - Poço 3 – DNA lambda com *EcoRI*
 - Poço 4 – DNA lambda com *PstI*
- 12.** Deixar o gel a correr em repouso durante 1,5 – 2 horas (fig. 7).
- 13.** Proceder à coloração do gel de acordo com o procedimento anteriormente descrito.

PROCEDIMENTO 8: TRANSFORMAÇÃO GENÉTICA DE RAIZ DE CENOURA MEDIADA POR *Rhizobium radiobacter*



Fig. 1 – Lavagem das cenouras com água corrente.



Fig. 2 – Passagem das cenouras por lixívia a 20%.



Fig. 3 – Lavagem das cenouras com água esterilizada.



Fig. 4 – Adição de água esterilizada ao papel de filtro das placas de Petri.

1. Lavar as cenouras com água corrente durante 10 minutos (fig. 1).
2. Colocar as cenouras na solução de lixívia com detergente a 20%, durante 20 minutos, com agitação suave para desinfetar a superfície do órgão (fig. 2).
3. Lavar as cenouras através de quatro passagens com água esterilizada (fig. 3).

A partir desta etapa todos os passos devem ser efectuados em condições assépticas junto à chama de uma lamparina ou preferencialmente numa câmara de fluxo laminar.

4. Adicionar algumas gotas de água esterilizada ao papel de filtro existente dentro de cada placa de Petri (apenas o suficiente para humedecer, ligeiramente, o papel de filtro) (fig. 4).

PROCEDIMENTO 9³⁵: ISOLAMENTO DE BACTÉRIAS DO SOLO

Fig. 1 – Adição da amostra de solo ao tubo 10⁰ – diluição inicial.



Fig. 2 – Agitação da suspensão de solo.



Fig. 3 – Transferência de 1 mL da suspensão de solo.

1. Marcar e datar na base das placas de Petri o meio de cultura e a indicação da diluição.
2. Numerar 5 tubos de ensaio de acordo com as diluições a efectuar (10⁰, 10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴). Adicionar 10 mL de água destilada ao primeiro tubo e 9 mL aos restantes quatro. Esterilizar os tubos tapados com as rolhas (formadas por algodão cardado envolvido em gaze), revestidas por folha de alumínio.
3. Pesar 1 g de solo (previamente deixado a secar no escuro durante uma semana).
4. Transferir a amostra de solo, junto à chama, para o tubo de ensaio com 10 mL de água esterilizada (10⁰), (diluição inicial) (fig. 1). Flamejar a abertura do tubo de ensaio, adicionar-lhe o solo, e passar de novo à chama antes de colocar novamente a tampa (segurar sempre a tampa).
5. Agitar vigorosamente a suspensão de solo do tubo de ensaio (fig. 2) e deixar repousar 5 minutos.
6. Transferir, junto à chama, 1 mL da suspensão de solo do tubo de ensaio 10⁰ para o tubo 10⁻¹ (fig. 3). Flamejar a abertura do tubo e colocar a tampar. Agitar vigorosamente a suspensão de solo antes de proceder à diluição seguinte.

7. Fazer diluições sucessivas: do tubo 10⁻¹ para o 10⁻²; do tubo 10⁻² para o 10⁻³; e do tubo 10⁻³ para o 10⁻⁴ (fig. 4). Agitar vigorosamente a suspensão obtida após cada diluição, antes de proceder à diluição seguinte e sempre com pontas esterilizadas (não utilizar a mesma ponta para diluições diferentes). Antes e após as adições da suspensão de solo, deve flamejar-se a abertura dos tubos de ensaio.

³⁵ Os procedimentos 9, 10 e 11 foram baseados nas actividades: “*Isolation of antibiotic-producing organisms from soil*” (Barnard, 1994) e “*Antibiotic production*” (EIBE, 1995). Estes procedimentos foram realizados com a colaboração da colega Sofia Brites durante o desenvolvimento da tese de mestrado (Brites, 2006).

http://www.accessexcellence.org/AE/AEC/AEF/1994/barnard_isolation.php [Acedido: 10/02/2007]

<http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01EN.PDF> [Acedido: 30/07/2008]



Fig. 4 – Diluições sucessivas.



Fig. 5 – Adição de 200 µL da suspensão de solo ao meio de cultura.



Fig. 6 – Inoculação pelo método de espalhamento.

8. Junto à chama da lamparina, transferir com a pipeta, 200 µL da suspensão de solo de cada uma das diluições dos passos anteriores, para o meio de isolamento (fig. 5). Duas placas de meio para cada diluição 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-4} e quatro placas para a diluição 10^{-3} .
9. Inocular, por espalhamento, as suspensões de solo sobre o meio sólido com o espalhador de vidro esterilizado, por imersão no álcool etílico e flamejado na chama da lamparina (fig. 6). Depois de queimado o álcool, deve deixar-se o espalhador arrefecer ao ar (próximo da chama) antes de ser utilizado. A placa de Petri deve ser rodada enquanto se espalha o inóculo.
10. Incubar as placas de Petri inoculadas em posição invertidas, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz (para simular as condições naturais do solo), durante 4 a 7 dias.
11. Repetir os passos 8 e 9 para o meio NA.
12. Incubar, durante 4 a 7 dias, tal como referido para o meio de isolamento.

Tal como referido no Capítulo 2 (ver secção 2.2.4.2. Produtos de microbiologia industrial, A) Microorganismos do solo e produção de antibióticos, p.62), os microrganismos produtores de antibióticos mais comuns no solo, sobretudo bactérias *Actinomycetes* do género *Streptomyces*, apresentam morfologia típica, tais como: colónias pequenas (1 a 10 mm de diâmetro), com forma arredondada, bastante densas e granulosas (Casal *et al.*, 2004a) e, com a aparência de pó de giz (Barnard, 1994). Estas características devem ser consideradas na selecção de colónias a efectuar no procedimento seguinte, de forma a assegurar maior abundância de bactérias produtoras de antibióticos entre os isolados bacterianos e, deste modo, melhores resultados.

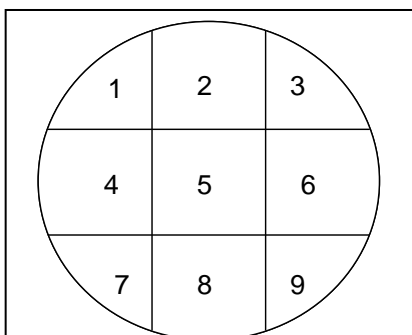
PROCEDIMENTO 10: OBTENÇÃO DE ISOLADOS BACTERIANOS

Fig. 1 – Divisão do círculo de papel em quadrículas numeradas.



Fig. 2 – Selecção de colónias. As setas indicam colónias com morfologia típica de *Streptomyces*.



Fig. 3 – Isolamento de colónias para o meio de crescimento.



Fig. 4 – Inoculação em meio de crescimento e/ou meio NA.

1. Dividir em quadrículas um círculo de papel da dimensão do fundo da placa de Petri e numerar cada quadrícula de forma centrada (fig. 1).
2. Colocar esta folha de papel por baixo da placa de Petri, como referência para a inoculação de isolados bacterianos.
3. Seleccionar as placas de Petri provenientes das diluições anteriores que apresentem colónias afastadas entre si (guardar duas placas de Petri: uma proveniente da diluição 10^{-3} e a outra da diluição 10^{-4} , para a sobrecamada directa). Procurar colónias com a morfologia típica de *Actinomycetes* do género *Streptomyces* (fig. 2). Usar um fundo escuro por baixo da placa de Petri para melhorar a visualização das colónias.
4. Tocar, com um palito esterilizado, numa colónia isolada de uma placa de Petri (fig. 3) e, em seguida, tocar no meio de crescimento na zona correspondente à primeira quadrícula (fig. 4). Inocular apenas uma colónia por quadrícula (os palitos usados devem ser descartados num recipiente com lixívia antes de serem introduzidos no lixo ou em alternativa proceder à sua esterilização).
5. Repetir o mesmo procedimento até transferir o número de colónias correspondentes ao número de quadrículas marcadas.
6. Repetir os passos 4 e 5 para as placas de Petri com meio NA, provenientes das diluições efectuadas no procedimento 9, para novas placas de Petri com o mesmo meio de cultura.
7. Incubar as placas de Petri inoculadas em posição invertida, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, durante 3 a 5 dias. Marcar e datar as placas de Petri.

PROCEDIMENTO 11: DETECÇÃO DA ACTIVIDADE ANTIBIÓTICA**A – Sobrecamada (directa e em colónias isoladas)**

1. Inocular, junto à chama da lamparina, duas alíquotas de *Micrococcus luteus* (crescida em meio de cultura sólido) em 25 mL de meio NB (líquido) através das seguintes etapas:
 - ⇒ passar a ansa de inoculação pela chama da lamparina até a extremidade ficar incandescente, deixar arrefecer ao ar, mantendo a ansa sempre próximo da chama;
 - ⇒ retirar a tampa do frasco com o meio de cultura líquido e passar a abertura pela chama;
 - ⇒ remover uma alíquota de *Micrococcus luteus* com a ansa arrefecida e transferi-la para o meio de cultura;
 - ⇒ passar a abertura do frasco novamente pela chama e colocar a tampa;
 - ⇒ esterilizar a ansa, passando-a de novo pela chama até ficar incandescente;
 - ⇒ repetir o procedimento para introduzir nova alíquota.

2. Incubar a cultura de *Micrococcus luteus* em meio líquido, numa estufa a 37°C, durante 36 h (a turvação do meio indica que houve crescimento da bactéria).

3. Preparar 200 mL de meio de cultura NA, e depois de esterilizado, deixá-lo arrefecer até cerca de 45-50°C (o controlo deste valor de temperatura pode ser efectuado no banho-maria, ou de forma mais imprecisa, quando se conseguir suportar a temperatura do frasco com as mãos). Também pode ser usado meio NA solidificado, desde que seja aquecido no microondas e agitado, por diversas vezes (com a tampa ligeiramente desenroscada), até ficar totalmente liquefeito.

Nota: Não deixar que a temperatura do meio baixe demasiado para que não solidifique antes de ser utilizado.

4. Inocular, por incorporação, no meio NA à temperatura de 45-50°C (com uma ponta esterilizada), 2 mL do meio de cultura NB com *Micrococcus luteus*, depois de incubado a 37°C (1 mL de *Micrococcus luteus* por cada 100 mL de meio NA). Para a inoculação do meio NA deve passar-se com a abertura do frasco pela chama antes e depois da adição do inóculo. Agitar levemente o frasco para evitar a formação de espuma.

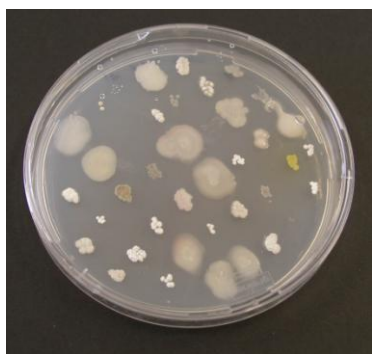


Fig. 1 – Isolados bacterianos para a técnica de sobrecamada.



Fig. 2 – Técnica de sobrecamada.

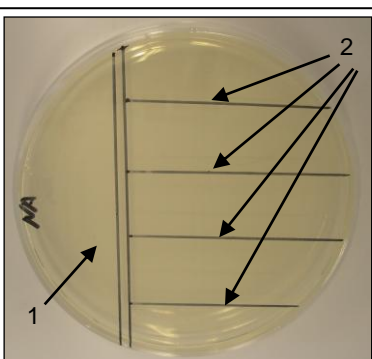


Fig. 3 – Marcação da base das placas de Petri. As setas indicam os locais de inoculação: 1 – estirpe indicadora e 2 – estirpes seleccionadas para teste.



Fig. 4 – Esterilização da ansa de inoculação.

5. Recolher todas as placas de Petri com as colónias isoladas provenientes do meio de crescimento e do meio NA (fig. 1), e as resultantes directamente da diluição 10^{-3} e 10^{-4} , ainda não utilizadas.
6. Verter o meio NA, junto à chama da lamparina para cada placa de Petri, de modo a formar uma camada suficiente para cobrir todas as colónias (técnica de sobrecamada) (fig. 2).
7. Esperar que o meio solidifique e colocar as placas de Petri invertidas dentro de um saco de plástico, na estufa a 37°C , durante 36 h.

B – Técnica de riscado

1ª Parte – Inoculação das estirpes teste

1. Marcar a base das placas de Petri com meio NA de acordo com o traçado representado na figura 3.
2. Recolher, mais uma vez, as placas de Petri provenientes das diluições efectuadas no procedimento 9 que apresentem colónias afastadas entre si. Procurar novamente colónias com a morfologia típica de *Streptomyces*.
3. Passar a ansa de inoculação pela chama da lamparina até a extremidade ficar incandescente, deixar arrefecer ao ar, mantendo a ansa sempre próximo da chama (fig. 4).



Fig. 5 – Isolamento de uma colónia proveniente das diluições.



Fig. 6 – Inoculação de uma colónia sob a forma de traço.



Fig. 7 – Crescimento de bactérias após três dias de incubação.



Fig. 8 – Inoculação da estirpe indicadora.

4. Retirar com a ansa de inoculação, junto à chama da lamparina, uma colónia proveniente das diluições (fig. 5) e fazer um traço sobre o meio de cultura ao longo de uma das marcações efectuada no fundo da placa de Petri (fig. 6).
5. Repetir os procedimentos 3 e 4, fazendo quatro traços por placa, a partir de colónias diferentes.
6. Incubar as placas de Petri inoculadas em posição invertida, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, durante 3 dias, para as bactérias crescerem (fig. 7).

2ª Parte – Inoculação da estirpe indicadora

7. Passar a ansa de inoculação pela chama da lamparina até a extremidade ficar incandescente, deixar arrefecer ao ar, mantendo a ansa sempre próximo da chama.
8. Retirar uma alíquota da cultura da estirpe indicadora (crescida em meio sólido) e inocular de seguida de forma a cobrir toda a superfície da placa de Petri (fig. 8) assinalada com a seta 1 (fig. 3).
Nota: Nunca tocar nas bactérias crescidas ao longo dos quatro traços.
9. Repetir o mesmo procedimento até inocular em todas as placas de Petri a estirpe indicadora.
10. Incubar as placas de Petri inoculadas em posição invertida (seladas com película aderente), dentro de um saco de plástico, na estufa a 37°C, durante 36 h.

PROCEDIMENTO 12: AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE ANTIBIÓTICOS, ANTISSÉPTICOS E DESINFECTANTES EM BACTÉRIAS DO SOLO PRODUTORAS DE ANTIBIÓTICOS

1ª Parte – Cultura em meio líquido de bactérias produtoras de antibióticos



Fig. 1 – Inoculação em meio líquido de uma bactéria do solo produtora de antibióticos.

1. Escolher quatro bactérias produtoras de antibióticos isoladas no trabalho prático anterior.
2. Inocular, junto à chama da lamparina, uma alíquota de uma estirpe produtora em 10 mL de meio TSB (fig. 1), de acordo com as etapas referidas no ponto 1 do procedimento 11: “*Deteção da actividade antibiótica*”.
3. Repetir o mesmo procedimento até inocular em cada um dos tubos de ensaio uma estirpe bacteriana produtora de antibióticos.
4. Incubar os tubos de ensaio a 28°C durante 2-3 dias.

2ª Parte³⁶ – Inoculação no meio de cultura e adição de discos de papel de filtro com antibióticos, antissépticos e desinfetantes



Fig. 1 – Inoculação por incorporação em meio TSA (45-50°C).



Fig. 2 – Distribuição do meio de cultura depois de inoculado.

A – Inoculação por incorporação

1. Marcar na parte inferior das placas de Petri a data e o processo de inoculação.
2. Agitar o tubo de ensaio com a bactéria a inocular.
3. Inocular, por incorporação, no meio TSA à temperatura de 45-50°C (com uma ponta esterilizada) 0,8 mL do meio de cultura com a bactéria a inocular (fig. 1). Ao inocular o meio TSA deve passar-se com a abertura do frasco pela chama antes e depois da adição do inóculo. Agitar levemente o frasco para evitar a formação de espuma.
4. Verter o conteúdo, junto à chama da lamparina, para as placas de Petri (fig. 2) e esperar que o meio solidifique. Por cada estirpe bacteriana inocular três placas de Petri por incorporação.

³⁶ Baseado na actividade “*Avaliação da eficácia de antibióticos, antissépticos e desinfetantes*” (Alcântara *et al.*, 2001).



Fig. 3 – Introdução da zaragatoa na cultura a inocular.



Fig. 4 – Inoculação com a zaragatoa.

5. Repetir os procedimentos anteriores até inocular todas as estirpes bacterianas nas placas de Petri.

B – Inoculação por espalhamento com a zaragatoa

1. Utilizar as placas de Petri com meio TSA solidificado e marcá-las na parte inferior com a data e o processo de inoculação.
2. Agitar novamente o tubo de ensaio com a bactéria a inocular.
3. Retirar, junto à chama da lamparina, uma zaragatoa do seu invólucro e mergulhá-la na cultura a inocular (fig. 3).
4. Retirar a zaragatoa e pressioná-la contra a parede do tubo de ensaio de modo a extrair o excesso de líquido.

5. Inocular toda a superfície do agar com a zaragatoa (fig. 4) do seguinte modo: 1) espalhar sobre a superfície do agar de modo contínuo numa só direcção; 2) repetir este procedimento mais duas vezes, mas em direcções diferentes; 3) passar com a zaragatoa à volta do anel exterior da placa de Petri. Por cada estirpe bacteriana inocular uma placa de Petri por espalhamento com a zaragatoa.

6. Repetir os procedimentos anteriores para os restantes tubos de ensaio com as bactérias a inocular.

C – Adição de discos de papel de filtro com antibióticos, antissépticos e desinfetantes

1. Preparar os frascos com os antissépticos, desinfetantes e as soluções de antibióticos escolhidas.
2. Marcar exteriormente as placas de Petri com um traço preto para orientar a disposição dos discos de papel de filtro. Dividir o fundo de cada placa de Petri em sectores. Marcar cada sector com um código correspondente ao agente antibacteriano utilizado (e.g. esquema representado na Figura 3.2 do Capítulo 3, p.149).
3. Esterilizar a pinça mergulhando-a em álcool etílico e flamejá-la na chama da lamparina (fig. 5). Deixá-la arrefecer ao ar próximo da chama durante algum tempo.



Fig. 5 – Esterilização da pinça.



Fig. 6 – Recolha de um disco de papel de filtro.



Fig. 7 – Introdução de um disco de papel de filtro numa solução antimicrobiana.

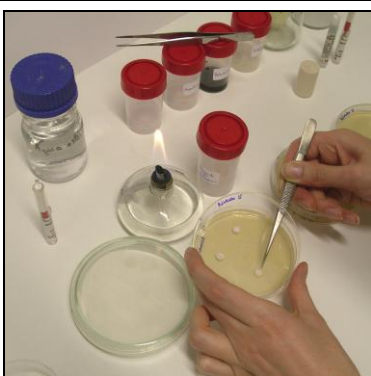


Fig. 8 – Aplicação de um disco de papel de filtro embebido no agente antimicrobiano numa placa de Petri.

4. Retirar, com a pinça esterilizada, um disco de papel de filtro (fig. 6) e mergulhá-lo no agente antimicrobiano (antibiótico/antisséptico/desinfetante) pretendido (fig. 7).
5. Retirar o excesso de solução encostando o disco de papel de filtro às paredes do recipiente.
6. Colocar, junto à chama da lamparina, o disco de papel de filtro embebido no agente antimicrobiano no sector apropriado da placa de Petri (fig. 8).
Nota: Não deixar cair gotas de agentes antimicrobianos sobre outros sectores.
7. Repetir os procedimentos 3, 4, 5 e 6 até adicionar os discos embebidos nos agentes antimicrobianos em todas as placas de Petri.
8. Aplicar em assepsia, utilizando uma pinça esterilizada, os discos de papel com os antibióticos de concentração conhecida.
9. Colocar as placas de Petri no frigorífico durante 30 minutos para facilitar a difusão das substâncias para o meio de cultura.
10. Incubar as placas de Petri inoculadas, não invertidas, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente durante 36 horas.
11. Após a incubação, observar e registar a presença/ausência de halos de inibição do crescimento das bactérias em estudo, à volta dos discos de papel de filtro.
12. Medir com uma régua os diâmetros dos halos de inibição observados.

PROCEDIMENTO 13: DETECÇÃO DE ENZIMAS PRODUZIDAS POR BACTÉRIAS DO SOLO

1ª Parte – Isolamento de bactérias do solo

Repetir o procedimento 9, “*Isolamento de bactérias do solo*”, realizado no âmbito do trabalho prático “*Detecção e isolamento de bactérias do solo produtoras de antibióticos*”, com as seguintes alterações: a) meio de cultura NA suplementado de amido solúvel (0,2%) e b) número de placas inoculadas (três por cada diluição da amostra de solo).

2ª Parte – Inoculação dos poços e coloração com soluto de Lugol³⁷

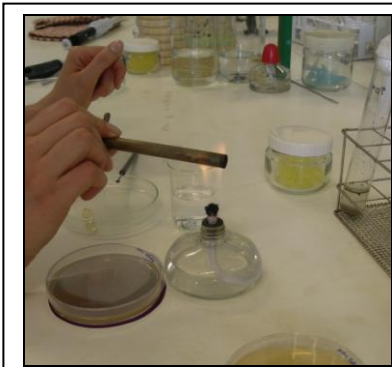


Fig. 1 – Esterilização do furador de rolhas.



Fig. 2 – Realização de poços no meio de cultura.



Fig. 3 – Remoção dos círculos de meio de cultura.

1. Esterilizar o furador de rolhas por imersão da extremidade no álcool etílico e flamejá-lo na chama da lamparina (fig. 1).

Nota: Enquanto o álcool etílico estiver a arder, deve manter-se o furador de rolhas na posição horizontal para que a chama não o atravesse interiormente e saia do lado oposto, queimando a mão. Deixar arrefecer ao ar, próximo da chama, antes de utilizá-lo.

2. Junto à chama da lamparina, cortar com o furador de rolhas, dois círculos (diametralmente opostos) no meio de cultura (fig. 2). Usar um fundo escuro por baixo da placa de Petri.

3. Remover os círculos de meio de cultura com uma agulha lanceolada previamente esterilizada pela chama da lamparina (fig. 3).

4. Repetir os procedimentos 1, 2 e 3 até realizar dois poços em cada placa de Petri.

5. Marcar na base das placas de Petri um dos poços com a designação controlo (água destilada esterilizada). Referir a data e a diluição da suspensão de solo a introduzir no outro poço.

³⁷ Baseado nas actividades: “*Amylase production by soil microbes*” e “*Cellulase production*” (EIBE, 1995).
<http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01EN.PDF> [Acedido: 30/07/2008]



Fig. 4 – Inoculação num poço de 50 µL da suspensão de solo.



Fig. 5 – Adição de água destilada esterilizada.



Fig. 6 – Coloração das placas de Petri com soluto de Lugol.

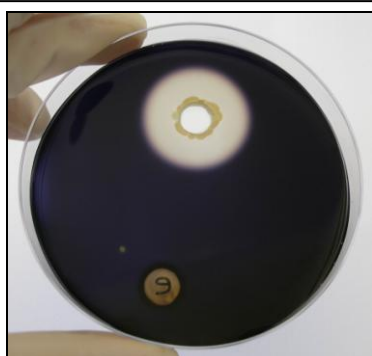


Fig. 7 – Zona de hidrólise em volta de um poço.

6. Junto à chama da lamparina, transferir com a micropipeta para um dos poços 50 µL (ou 100 µL) da suspensão de solo proveniente da diluição 10^{-1} (fig. 4).
Nota: Não esquecer de agitar, vigorosamente, cada um dos tubos de ensaio com as diluições, antes de recolher a amostra.
7. Adicionar ao outro poço a mesma quantidade de água destilada esterilizada (fig. 5).
8. Repetir os procedimentos 6 e 7 para as restantes diluições, num total de três placas de Petri para cada diluição (mudar sempre de ponta).
9. Incubar as placas de Petri inoculadas, não invertidas, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente, durante 3 dias. Cuidado com o manuseamento das placas de Petri para evitar derrames do conteúdo dos poços para o meio de cultura.
10. Adicionar soluto de Lugol (aproximadamente 3 mL), após os 3 dias de incubação, de forma a percorrer toda a superfície do meio de cultura e deixar actuar no escuro durante 1 minuto (fig. 6).
11. Medir com uma régua os diâmetros das zonas de hidrólise (zona clara) em volta dos poços (fig. 7).
12. Repetir o passo 10 para as placas de Petri inoculadas com as diluições da amostra de solo efectuadas na 1ª parte – “*Isolamento de bactérias do solo*”.

PROCEDIMENTO 14³⁸: PEELING ENZIMÁTICO DE CITRINOS

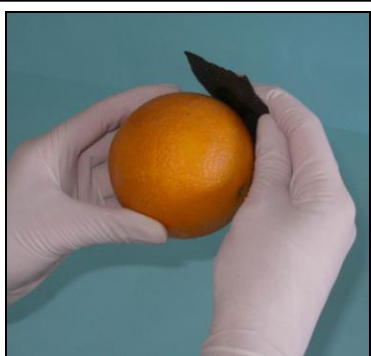


Fig. 1 – Remoção da cera da casca de laranja.



Fig. 2 – Adição da pectinase à água destilada.

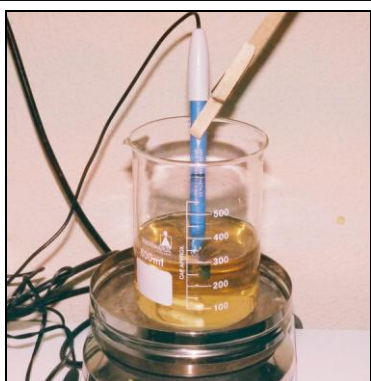


Fig. 3 – Acerto do pH a 3,5.

1. Esfregar suavemente toda a laranja com folha de lixa. Este processo remove a cera da casca de laranja facilitando a acção da pectinase (fig. 1).

2. Adicionar no *gobelé* 15 mL de pectinase a 285 mL de água destilada (fig. 2).

3. Acertar o pH da solução a 3,5 (fig. 3). Este passo é opcional, pois a remoção da casca de laranja também ocorre sem colocar a enzima no pH óptimo.

³⁸ Retirado da actividade "*Peeling citrus fruit*" (Madden, 2000).
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/juice.html> [Acedido: 31/01/2009]



Fig. 4 – Introdução da laranja na solução de pectinase.



Fig. 5 – Colocação de película aderente no *gobelé*.



Fig. 6 – Introdução no banho-maria.



Fig. 7 – Lavagem da laranja com água corrente.

4. Colocar a laranja dentro da solução de pectinase. Deve ser colocado um peso sobre a laranja, para que fique submersa, uma vez que esta flutua na solução de pectinase (fig. 4).
5. Cobrir o *gobelé* com película aderente para evitar a evaporação da solução de pectinase (fig. 5).
6. Colocar o *gobelé* no banho-maria à temperatura de 35-40°C (fig. 6). Deixar durante a noite no banho-maria para ocorrer o ataque enzimático.
7. Lavar a laranja em água corrente (esta etapa deve ser efectuada com luvas) (fig. 7).

PROCEDIMENTO 15³⁹: ACÇÃO ENZIMÁTICA NA PRODUÇÃO DE SUMO DE MAÇÃ

Fig. 1 – Remoção da casca de maçã.



Fig. 2 – Esmagamento da maçã.



Fig. 3 – Pesagem de 50 g de maçã.

Fig. 4 – Adição das enzimas:
P – pectinase; C – celulase; P + C
pectinase + celulase; água destilada.

1. Descascar as maçãs (fig. 1).
2. Cortar as maçãs em pequenos pedaços e esmagar com um garfo até obter polpa (fig. 2).
3. Marcar com uma caneta de acetato cada um dos quatro *gobelés* com as seguintes letras: P (pectinase), C (celulase), P+C (pectinase+celulase) e água destilada (controlo). Em seguida adicionar 50 g de maçã a cada um deles (fig. 3).
4. Adicionar a cada *gobelé* o seguinte (fig. 4):
Gobelé P – 1 mL de pectinase, diluído em igual volume de água destilada, imediatamente antes de utilizar;
Gobelé C – 1 mL de celulase, diluído em igual volume de água destilada, imediatamente antes de utilizar;
Gobelé P+C – 0,5 mL de pectinase + 0,5 mL de celulase, diluídos em 1 mL de água destilada, imediatamente antes de utilizar;
Gobelé Controlo (água destilada) – 2 mL de água.
Nota: Para cada tipo de enzima deve utilizar-se uma pipeta diferente.

³⁹ Retirado da actividade “More juice from apples” (Madden, 2000).
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/juice.html> [Acedido: 31/01/2009]



Fig. 5 – Mistura do conteúdo dos gobelés.



Fig. 6 – Introdução no banho-maria.

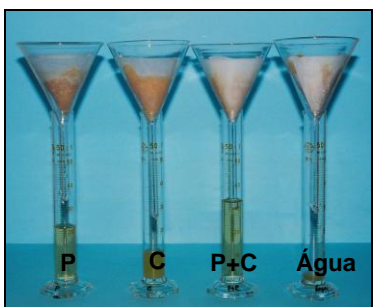


Fig. 7 – Filtração.
P – pectinase; C – celulase; P+C pectinase + celulase; água destilada.

5. Mexer o conteúdo de cada *gobelé* com uma vareta de vidro (fig. 5). Passar a vareta por água entre cada *gobelé*.
6. Tapar cada um dos *gobelés* com película aderente e colocá-los no banho-maria a 40°C, durante 15-20 minutos (fig. 6).
7. Filtrar o sumo de maçã de cada *gobelé* para uma proveta (fig. 7).
8. Registrar o volume de sumo obtido nos quatro lotes de polpa de maçã, em intervalos de 5 minutos (durante 30 minutos), e apresentar os resultados através de um gráfico. Registrar também o aspecto dos sumos obtidos.

PROCEDIMENTO 16⁴⁰: ACÇÃO DA LACTASE SOBRE O LEITE POR IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA

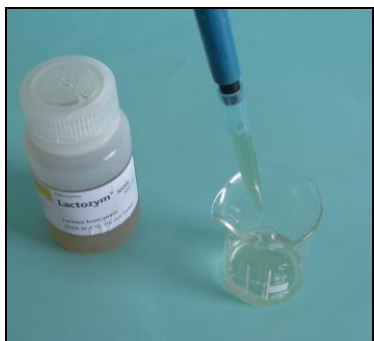


Fig. 1 – Preparação da solução de enzima/alginato de sódio.

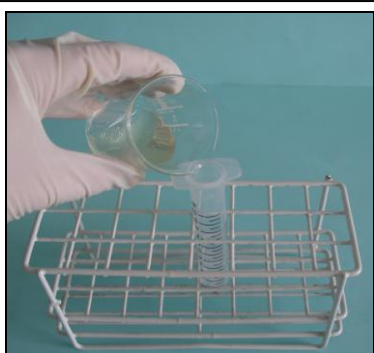


Fig. 2 – Adição da solução de enzima/alginato de sódio à seringa.

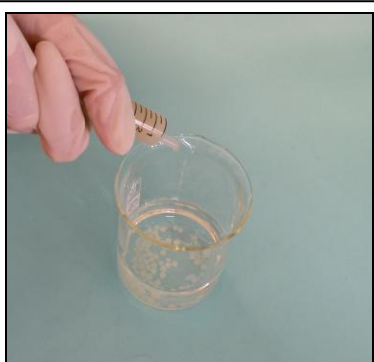


Fig. 3 – Imobilização da enzima e formação de pérolas de alginato de cálcio.

1. Tapar a ponta da seringa com a extremidade de um espeto de madeira para impedir que verta líquido.
2. Adicionar no *gobelé* 2 mL de lactase e 8 mL de alginato de sódio (fig. 1) e mexer com auxílio da vareta de vidro para misturar bem as duas soluções.
3. Adicionar a solução de enzima/alginato de sódio à seringa (fig. 2).
4. Adicionar 100 mL de cloreto de cálcio a um *gobelé* de 250 mL.
5. Inserir, cuidadosamente, o êmbolo da seringa e retirar a ponta do espeto de madeira da extremidade da mesma (vai ocorrer a saída repentina de algum líquido da seringa que deve ser desprezado).
6. Empurrar lentamente o êmbolo da seringa de forma a adicionar, sob a forma de pequeninas gotas, a solução de enzima/alginato de sódio ao *gobelé* com cloreto de cálcio (fig. 3). Observar a formação de pérolas de alginato de cálcio com a enzima imobilizada.

⁴⁰ Retirado das actividades: "Better mil for cats" (NCBE, 1995b) e "The effects os lactase (β -galactosidade) enzyme on lactose in milk".

<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PRACBIOTECH/PDF/catmilk.pdf> [Acedido: 10/02/2006]

<http://www.saps.plantsci.cam.ac.uk/worksheets/scotland/milk.htm> [Acedido: 08/02/2006]



Fig. 4 – Lavagem das pérolas com água destilada.

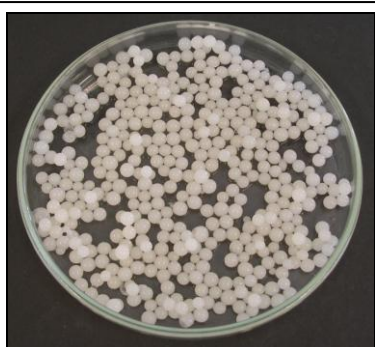


Fig. 5 – Aspecto das pérolas de alginato de cálcio com a enzima imobilizada.

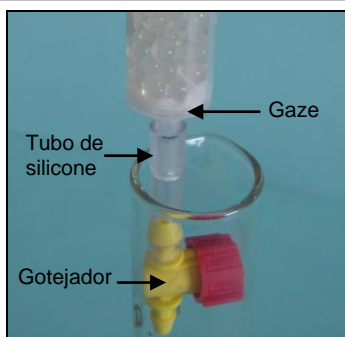


Fig. 6 – Preparação da seringa.



Fig. 7 – Adição do leite sobre as pérolas de alginato de cálcio com a enzima imobilizada.

7. Deixar as pérolas com a enzima imobilizada durante 10 minutos na solução de cloreto de cálcio para endurecerem.
8. Separar as pérolas da solução de cloreto de cálcio com um passador e lavá-las com água destilada (fig. 4). Aspecto das pérolas de alginato de cálcio com a enzima imobilizada (fig. 5). As pérolas podem ser guardadas no frigorífico em água destilada.
9. Ligar o tubo de silicone de 3 cm à ponta da seringa e na extremidade deste adaptar o gotejador (para regular a saída do leite pela torneira (fig. 6). Colocar no fundo da seringa um círculo de gaze.
10. Regular a abertura da torneira, antes de adicionar as pérolas de alginato de cálcio e o leite à seringa, para que o gotejamento ocorra de forma lenta mas contínua. Testar inicialmente com água.
11. Fixar a seringa na proveta e adicionar as pérolas de alginato de cálcio com a enzima imobilizada à coluna da seringa.
12. Adicionar lentamente o leite (fig. 7). Caso necessário, com os devidos cuidados, pode corrigir-se a abertura da torneira.
13. Testar o leite recolhido com uma fita de diabético e comparar os resultados com uma amostra do mesmo leite não submetido à acção da lactase.

PROCEDIMENTO 17⁴¹: EXTRACÇÃO DA CATALASE

Fig. 1 – Pesagem da batata.



Fig. 2 – Homogeneização da mistura.



Fig. 3 – Filtração.



Fig. 4 – Adição de água destilada até perfazer 100 mL.

1. Descascar uma batata nova e cortá-la em pequenos cubos.
2. Pesar 50 g de batata (fig. 1).
3. Colocar numa misturadora os cubos de batata, 50 mL de água destilada (previamente arrefecida no frigorífico), uma pequena quantidade de gelo triturado (25 g – efectuado a partir de água destilada) e homogeneizar durante 30 segundos a alta velocidade (fig. 2).
4. Filtrar o extracto de batata para uma proveta de 100 mL (fig. 3).
5. Adicionar água destilada (previamente arrefecida no frigorífico) ao extracto de batata obtido até perfazer o volume de 100 mL (fig. 4). Mexer bem. Este extracto corresponde, arbitrariamente, a 100 unidades de enzima por mL (100 unidades/mL).
6. Guardar no frigorífico.

⁴¹ Os procedimentos 17, 18, 19, 20 e 21 foram adaptados das actividades: "A quantitative enzyme study using simple equipment" (Nichols & Cholewiak, 1991) e "Catalase lab".

<http://www.zoo.utoronto.ca/able/volumes/vol-12/6-nichol/6-nichol.htm> [Acedido: 10/02/2007]

<http://www.accessexcellence.org/AE/ATG/data/released/0074-GenNelson/index.php> [Acedido: 10/02/2007]

PROCEDIMENTO 18: ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE ENZIMA NA ACTIVIDADE ENZIMÁTICA



Fig. 1 – Preparação dos tubos de ensaio com a solução de H_2O_2 .



Fig. 2 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de catalase.

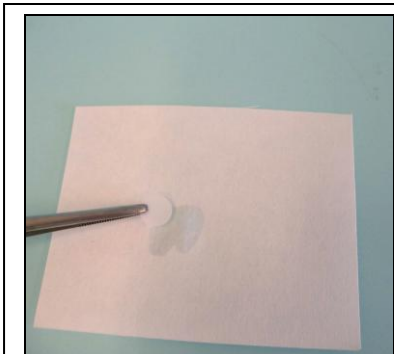


Fig. 3 – Eliminação do excesso da solução de catalase.



Fig. 4 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de H_2O_2 .

1. Marcar 5 tubos de ensaio com os números de 1 a 5 e adicionar a cada 40 mL de peróxido de hidrogénio a 10 volumes (3%) (fig. 1).
2. Marcar 5 *gobelés*/tubos *Falcon*[®] com os números de 1 a 5 e preparar 20 mL da solução de catalase de acordo com as seguintes concentrações:

<i>Gobelés</i>	Unidades de catalase/mL	Catalase (mL)	Água destilada arrefecida no frigorífico (mL)
1	0	0	20
2	20	4	16
3	50	10	10
4	80	16	4
5	100	20	0

Nota: As diversas soluções de catalase devem ser mantidas num recipiente de esferovite com gelo durante toda a actividade prática.

3. Mergulhar, usando uma pinça, um disco de papel de filtro na solução de catalase a 0 unidades/mL e esperar que absorva a referida solução durante 5 segundos (fig. 2).
4. Retirar o excesso da solução de catalase do papel de filtro tocando-o ligeiramente com um dos lados numa folha de papel absorvente (fig. 3).
5. Colocar, com auxílio da pinça, o papel de filtro no fundo do primeiro tubo de ensaio com a solução de peróxido de hidrogénio (fig. 4).

6. Registrar o tempo em segundos que demora o papel de filtro a subir até à superfície e determinar a velocidade da reacção considerando que a mesma é igual a $1/t$. Repetir o mesmo procedimento duas vezes para cada concentração de catalase.

Nota: Não esquecer de passar a pinça por água da torneira e secá-la entre cada ensaio.

7. Repetir os passos 3, 4, 5 e 6 para as restantes concentrações de catalase, tendo o cuidado de utilizar sempre um novo tubo com a solução de peróxido de hidrogénio para cada ensaio.

8. Preencher a seguinte tabela:

Gobelés	Unidades de catalase/mL	Tempo que o disco de papel de filtro demora a subir (s)		Velocidade da reacção ($1/t$) em segundos
		1º Ensaio	2º Ensaio	
1	0			
2	20			
3	50			
4	80			
5	100			

Nota: Na determinação da velocidade da reacção efectua-se o cálculo da média dos dois ensaios.

9. Representar os resultados através de um gráfico.

PROCEDIMENTO 19: ESTUDO DA CONCENTRAÇÃO DE SUBSTRATO NA ACTIVIDADE ENZIMÁTICA



Fig. 1 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de catalase.

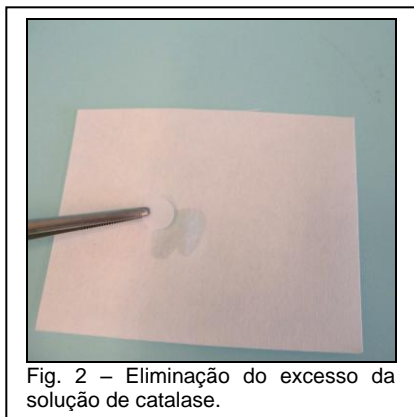


Fig. 2 – Eliminação do excesso da solução de catalase.



Fig. 3 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de H_2O_2 .

1. Adicionar 20 mL de catalase com a concentração de 100 unidades/mL ao *gobelé* de 50 mL. A solução de catalase deve ser mantida num recipiente de esferovite com gelo durante o decorrer de toda a actividade prática.
2. Marcar 9 tubos de ensaio com os números de 1 a 9 e preparar 40 mL da solução de substrato (peróxido de hidrogénio a 10, 20 e 30 volumes) de acordo com as seguintes concentrações:

Tubos de ensaio	% de H_2O_2 (10, 20 e 30 vol.)	H_2O_2 (mL)	Água destilada à temperatura ambiente
1	0% (10 vol.)	0	40
2	0,38% (10 vol.)	5	35
3	0,75% (10 vol.)	10	30
4	1,5% (10 vol.)	20	20
5	3% (10 vol.)	40	0
6	4,5% (20 vol.)	30	10
7	6% (20 vol.)	40	0
8	6,75% (30 vol.)	30	10
9	7,875% (30 vol.)	35	5

3. Mergulhar, usando uma pinça, um disco de papel de filtro na solução de catalase a 100 unidades/mL e esperar que absorva a referida solução durante 5 segundos (fig. 1).
4. Retirar o excesso da solução de catalase do papel de filtro tocando-o ligeiramente com um dos lados numa folha de papel absorvente (fig. 2).

5. Colocar, com auxílio da pinça, o papel de filtro no fundo do tubo de ensaio com a solução de peróxido de hidrogénio a 0% (fig. 3).
6. Registar o tempo em segundos que demora o papel de filtro a subir até à superfície e determinar a velocidade da reacção considerando que a mesma é igual a $1/t$. Repetir o mesmo procedimento duas vezes para cada concentração de peróxido de hidrogénio.
Nota: Não esquecer de passar a pinça por água da torneira e secá-la entre cada ensaio.
7. Repetir os passos 3, 4, 5 e 6 para cada uma das restantes concentrações de peróxido de hidrogénio.

8. Preencher a seguinte tabela:

Tubos de ensaio	% de H_2O_2	Tempo que o disco de papel de filtro demora a subir (s)		Velocidade da reacção ($1/t$) em segundos
		1º Ensaio	2º Ensaio	
1	0%			
2	0,38%			
3	0,75%			
4	1,5%			
5	3%			
6	4,5%			
7	6%			
8	6,75%			
9	7,875%			

Nota: Na determinação da velocidade da reacção efectua-se o cálculo da média dos dois ensaios.

9. Representar os resultados através de um gráfico.

PROCEDIMENTO 20: EFEITO DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA ACTIVIDADE ENZIMÁTICA



Fig. 1 – Preparação dos gobelés com a solução de catalase.



Fig. 2 – Preparação dos tubos de ensaio com a solução de H₂O₂.



Fig. 3 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de catalase.

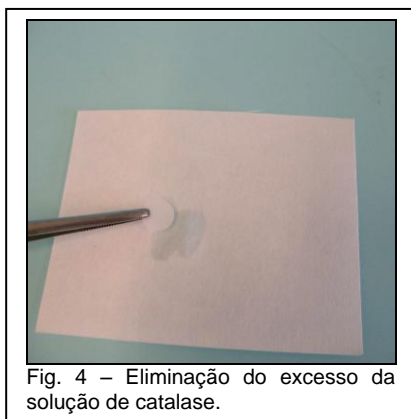


Fig. 4 – Eliminação do excesso da solução de catalase.

1. Marcar 4 gobelés com os números de 1 a 4 e adicionar a cada 5 mL de catalase a 100 unidades/mL (fig. 1).
2. Marcar 4 tubos de ensaio com os números de 1 a 4 e adicionar a cada 40 mL de peróxido de hidrogénio a 1% (fig. 2). Para 180 mL de solução: adiciona-se 60 mL de peróxido de hidrogénio (10 volumes) a 120 mL de água destilada.
3. Colocar os gobelés com a catalase e os tubos de ensaio com o peróxido de hidrogénio às seguintes temperaturas:

Gobelés com catalase	Temperatura (°C)	Tubos de ensaio com H ₂ O ₂	Temperatura (°C)
1	→ gelo (0°C)	1	→ gelo (0°C)
2	→ temperatura ambiente (22°C)	2	→ temperatura ambiente (22°C)
3	→ banho-maria a 37°C	3	→ banho-maria a 37°C
4	→ fervura em banho-maria	4	→ temperatura ambiente (22°C)

Nota: Não se ferve o tubo de ensaio com a solução de peróxido de hidrogénio.

4. Esperar que a catalase e o peróxido de hidrogénio possam incubar, durante 10 minutos às temperaturas referidas no passo 3, antes de efectuar os testes da actividade enzimática.
5. Mergulhar, usando uma pinça, um disco de papel de filtro na solução de catalase colocada no gelo e esperar que absorva a referida solução durante 5 segundos (fig. 3).
6. Retirar o excesso da solução de catalase do papel de filtro tocando-o ligeiramente com um dos lados numa folha de papel absorvente (fig. 4).



Fig. 5 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de H_2O_2 proveniente do gelo.

7. Colocar, com auxílio da pinça, o papel de filtro no fundo do tubo de ensaio com a solução de peróxido de hidrogénio que também foi colocado no gelo (fig. 5).

8. Registar o tempo em segundos que demora o papel de filtro a subir até à superfície e determinar a velocidade da reacção considerando que a mesma é igual a $1/t$. Repetir o mesmo procedimento duas vezes para cada temperatura.

Nota: Não esquecer de passar a pinça por água da torneira e secá-la entre cada ensaio.

9. Repetir os passos 5, 6, 7 e 8 para as restantes temperaturas.

10. Preencher a seguinte tabela:

Tubos de ensaio	Temperatura (°C)	Tempo que o disco de papel de filtro demora a subir (s)		Velocidade da reacção ($1/t$) em segundos
		1º Ensaio	2º Ensaio	
1	0			
2	22			
3	37			
4	100			

Nota: Na determinação da velocidade da reacção efectua-se o cálculo da média dos dois ensaios.

11. Representar os resultados através de um gráfico.

PROCEDIMENTO 21: EFEITO DA VARIAÇÃO DO pH NA ACTIVIDADE ENZIMÁTICA

Fig. 1 – Preparação dos tubos de ensaio com a solução de H_2O_2 .



Fig. 2 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de catalase a $pH=4$.

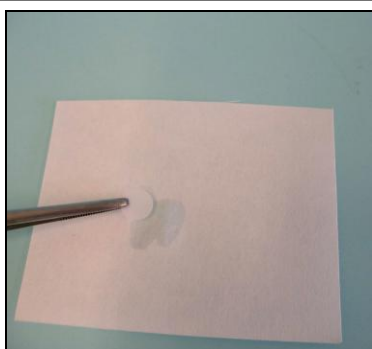


Fig. 3 – Eliminação do excesso da solução de catalase.



Fig. 4 – Introdução do disco de papel de filtro na solução de H_2O_2 .

1. Adicionar 40 mL de peróxido de hidrogénio a 1% a três tubos de ensaio (fig. 1).
2. Marcar 3 tubos de ensaio com os números de 1 a 3 e, preparar em cada, uma solução de catalase com os seguintes valores de pH:

Tubos de ensaio	Catalase (100 unidades/mL)	pH
1	5 mL	5 mL de tampão a $pH=4$
2	5 mL	5 mL de tampão a $pH=7$
3	5 mL	5 mL de tampão a $pH=10$

3. Mergulhar, usando uma pinça, um disco de papel de filtro na solução de catalase a $pH=4$ e esperar que absorva a referida solução durante 5 segundos (fig. 2).
4. Retirar o excesso da solução de catalase do papel de filtro tocando-o com um dos lados numa folha de papel absorvente (fig. 3).
5. Colocar, com auxílio da pinça, o papel de filtro no fundo do tubo de ensaio com peróxido de hidrogénio (fig. 4).

6. Registrar o tempo em segundos que demora o papel de filtro a subir até à superfície e determinar a velocidade da reacção considerando que a mesma é igual a $1/t$. Repetir o mesmo procedimento duas vezes para cada valor de pH.

Nota: Não esquecer de passar a pinça por água da torneira e secá-la entre cada ensaio.

7. Repetir os passos 3, 4, 5 e 6 para cada uma das soluções de catalase aos restantes valores de pH.

8. Preencher a seguinte tabela:

Tubos de ensaio	pH	Tempo que o disco de papel de filtro demora a subir (s)		Velocidade da reacção ($1/t$) em segundos
		1º Ensaio	2º Ensaio	
1	4			
2	7			
3	10			

Nota: Na determinação da velocidade da reacção efectua-se o cálculo da média dos dois ensaios.

9. Representar os resultados através de um gráfico.

PROCEDIMENTO 22⁴²: ESTUDO DO TIPO DE SUBSTRATO NO RENDIMENTO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA

1. Preparar a suspensão de leveduras através da adição de 20 g de fermento de padeiro a 200 mL de água destilada. Agitar bem para dissolver o fermento padeiro e deixar repousar 12 h.
2. Encher a proveta de 100 mL com a solução de cloreto de sódio e revestir a sua abertura com parafilme de modo a que ao invertê-la não saia líquido.
3. Adicionar 300 mL da solução de cloreto de sódio ao *gobelé* de 500 mL.
4. Inverter a proveta dentro da solução do *gobelé* e retirar o parafilme (verificar que não há perda de solução da proveta).
5. Introduzir o tubo de vidro em L na rolha e na extremidade exterior ligar o tubo de silicone (caso necessário pode aquecer-se muito ligeiramente, à chama da lamparina, o tubo de silicone para facilitar a ligação ao tubo de vidro).
6. Introduzir a outra extremidade do tubo de silicone no interior da proveta (este processo exige bastante cuidado porque caso entre ar para dentro da proveta o seu conteúdo sairá).
7. Marcar o nível da solução inicial da proveta invertida e registar esse valor.
8. Repetir todos os procedimentos anteriores de forma a obter quatro montagens iguais.
9. Marcar três balões *Erlenmeyer* com os nomes dos hidratos de carbono a utilizar e o quarto com indicação de controlo.

⁴² Baseado na actividade “*Immobilised yeast cells*” (EIBE, 1995).
<http://www.ipn.uni-kiel.de/eibe/UNIT01EN.PDF> [Acedido: 30/07/2008]



Fig. 1 – Adição da suspensão de leveduras à solução de glicose.



Fig. 2 – Montagem do fermentador.

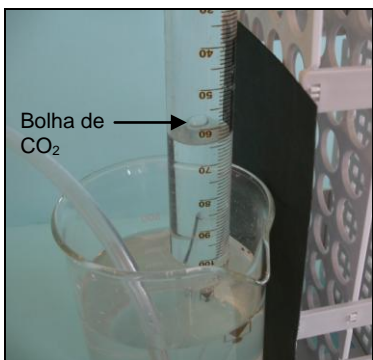


Fig. 3 – Libertação de dióxido de carbono na proveta invertida.

10. Adicionar a cada balão *Erlenmeyer* o seguinte:
 - 1 – 200 mL de solução de glicose (30%) + 50 mL de suspensão de leveduras (fig. 1);
 - 2 – 200 mL de solução de sacarose (30%) + 50 mL de suspensão de leveduras;
 - 3 – 200 mL de solução de amido (30%) + 50 mL de suspensão de leveduras;
 - 4 – 200 mL de água destilada + 50 mL de suspensão de leveduras (controlo).

11. Colocar as rolhas nos balões *Erlenmeyer* para efectuar as ligações aos *gobelés* com as provetas invertidas. Envolver as rolhas com película aderente.

12. Colocar as provetas na posição vertical unindo-as a um suporte (fig. 2).

13. Observar a libertação de gás na solução de cloreto de sódio existente na proveta (fig. 3). Logo que se verifique a primeira bolha de gás a subir pela proveta, medir de 15 em 15 minutos, o nível de líquido no interior da mesma.

14. Representar em gráfico os resultados (volume de gás libertado em função do tempo).

PROCEDIMENTO 23: EFEITO DA VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NO RENDIMENTO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA



Fig. 1 – Processo de fermentação alcoólica à temperatura de 30°C.

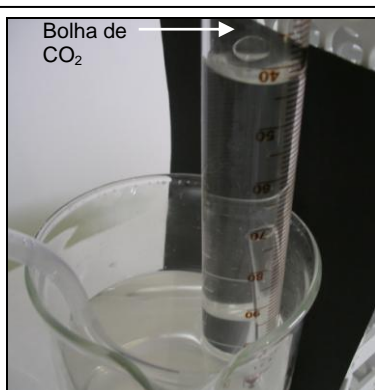


Fig. 2 – Libertação de dióxido de carbono na proveta invertida.

1. Preparar as montagens de acordo com o procedimento anterior (passos de 1 a 8).
2. Preparar 4 balões *Erlenmeyer* com 200 mL de solução de glicose e 50 mL de suspensão de leveduras em cada um.
3. Efectuar as ligações dos balões *Erlenmeyer* às provetas invertidas nos *gobelés*.
4. Colocar um balão *Erlenmeyer* à temperatura ambiente e outro no banho-maria regulado com a temperatura que se pretende testar (fig. 1). Neste procedimento foram testadas, separadamente, as temperaturas de 21° (temperatura ambiente), 30°, 40° e 50°C.
5. Proceder às medições do volume de dióxido de carbono libertado de acordo com o procedimento anterior (fig. 2).
6. Representar em gráfico os resultados (volume de gás libertado em função do tempo).

QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO

Antes de iniciar o “**Desenvolvimento de actividades práticas em Biotecnologia numa perspectiva investigativa: um contributo na (re)orientação de ensino e aprendizagem de Ciências**”, importa, no âmbito da Oficina de Formação, que os professores-formandos reflectam sobre o seu modo de pensar e agir no que se refere à implementação de trabalho prático no Ensino das Ciências e registem os seus pontos de vista, respondendo individualmente às questões que compõem o presente questionário.

O conteúdo das respostas é da maior importância para o desenvolvimento da Oficina de Formação. A sua validade depende da sinceridade com que responder às questões, e do seu grau de aproximação ao que pensa sobre trabalho prático e ao que faz quando a ele recorre nas suas práticas lectivas (não há respostas certas ou erradas).

Obrigada pela sua colaboração.

Março de 2007

PARTE I – Motivações, expectativas e conhecimentos

- 1 – Que motivações profissionais e/ou pessoais o(a) levaram a inscrever-se nesta Oficina de Formação?

2 – Quais as suas expectativas relativamente a esta Oficina de Formação?

3 – Nas disciplinas de ciências as reformas educativas que recentemente foram introduzidas em Portugal, como em muitos outros países, são baseadas em referenciais teóricos. No que se refere a educação em ciências, como avalia o seu grau de conhecimento relativamente a cada um dos que se indicam a seguir?

Assinale a sua resposta colocando X nos locais apropriados.

	Nulo	Fraco	Razoável	Bom	Muito Bom
3.1. Inter-relações CTS.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.2. Perspectivas investigativas de trabalho prático.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

PARTE II – Crenças, convicções e práticas acerca de trabalho prático

1 – Situando-se no contexto da sua prática lectiva diga o que entende por:

1.1 – Trabalho prático.

1.2 – Trabalho laboratorial.

1.3 – Trabalho experimental.

1.4 – Que relações estabelece entre trabalho prático, trabalho laboratorial e trabalho experimental?

2 – Qual a importância que atribui à realização de trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário?

Assinale a sua opinião colocando X nos locais apropriados.

	3º Ciclo	Ensino Secundário
A. Nenhuma.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
B. Pouca.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
C. Média.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D. Muita.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2.1 – Justifique as suas respostas.

3 – Tendo em conta o(s) ciclo(s) de ensino que lecciona ou leccionou nos últimos cinco anos, qual a frequência com que, em geral, realiza trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.

Assinale a sua resposta colocando X nos locais apropriados.

	3º Ciclo	Ensino Secundário
A. Nunca.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
B. Uma aula por período.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
C. Duas aulas por período.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
D. Três aulas por período.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
E. Outra. Indique qual.	_____	_____
	_____	_____

3.1 – Justifique a(s) sua(s) resposta(s).

4 – Indique o seu **grau de satisfação** com o trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, que costuma realizar.

Assinale a sua opinião colocando X no local apropriado.

- A. Insatisfeito.
- B. Pouco satisfeito.
- C. Satisfeito.
- D. Muito satisfeito.

4.1 – **Justifique** a sua resposta.

5 – Quanto recorre ao trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, em aulas de ciências, qual o seu grau de concordância/discordância com os seguintes aspectos:

Assinale os seus pontos de vista colocando X nos locais apropriados.

	Discordo	Concordo em parte	Concordo totalmente	Não tenho opinião
5.1. Ajuda os alunos a compreender conceitos e teorias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.2. Motiva os alunos para aprender ciências.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.3. Demonstra e/ou permite verificar experimentalmente conceitos e teorias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.4. Ajuda a preparar os alunos para provas de avaliação (testes/exames).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.5. Contribui para que as aulas sejam menos monótonas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.6. Dificulta o cumprimento dos programas, pois requer muito tempo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

6 – Qual o grau de concordância/discordância relativamente a dificuldades que sente aquando da implementação de trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, nas suas actividades lectivas?

Assinale os seus pontos de vista colocando X nos locais apropriados.

	Discordo	Concordo em parte	Concordo totalmente	Não tenho opinião
Aspectos materiais e humanos:				
6.1. Falta de materiais consumíveis (reagentes e material de vidro).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.2. Falta de equipamentos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.3. Falta de protocolos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.4. Falta de um técnico de apoio ao laboratório.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.5. Falta de interesse dos alunos pela realização de trabalho prático.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.6. Falta de motivação dos professores.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.7. Falta de tempo para o preparar.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Organização escolar e disciplinar:				
6.8. Excessivo número de alunos por turno.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.9. Existência de um único laboratório para vários docentes.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.10. Programas disciplinares demasiado extensos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Formação docente:				
6.11. Falta de formação (inicial e contínua) dos professores para a realização de trabalho prático.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.12. Dificuldade de execução de algumas técnicas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.13. Dificuldade de utilização de alguns equipamentos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Outras eventuais dificuldades:				
6.14. _____				

7 – Tendo em conta o(s) ciclo(s) de ensino que lecciona ou leccionou nos últimos cinco anos, ordene por ordem de frequência de realização a modalidade de trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, a que recorreu.

Assinale a sua resposta colocando 1, 2 e 3 nos locais apropriados que correspondam às situações mais frequente, intermédia e menos frequente, respectivamente.

	3º Ciclo	Ensino Secundário
Centrado no professor:		
7.1. Realizado por um aluno, seguindo instruções do professor.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.2. Realizado pelo professor com a ajuda de alunos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.3. Realizado pelo professor – os alunos observam.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Centrado nos alunos – trabalho individual:		
7.4. Com protocolo predefinido.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.5. Seguindo instruções do professor.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Centrado nos alunos – trabalho de grupo:		
7.6. Com protocolo predefinido.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.7. Seguindo instruções do professor.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.8. Com protocolo construído em conjunto por professor e alunos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.9. Com protocolo construído pelos alunos com ajuda do professor.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

- 8** – Baseando-se em trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, que desenvolve nas suas aulas, como o avalia em termos do grau de consecução de objectivos centrados nos argumentos que se seguem:

Assinale os seus pontos de vista colocando X nos locais apropriados.

	Nulo	Fraco	Razoável	Bom	Muito Bom
Argumentos predominantemente cognitivos:					
8.1. Ilustrar conceitos, confirmar teorias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.2. Desenvolver competências para formular questões.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.3. Desenvolver competências para formular hipóteses e prever resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.4. Desenvolver competências para testar e validar ideias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.5. Desenvolver pensamento criativo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.6. Desenvolver competências para controlar variáveis.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.7. Desenvolver competências para analisar dados e interpretar resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.8. Desenvolver competências para elaborar ideias e formular conclusões.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.9. Compreender como se constrói conhecimento científico.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Argumentos predominantemente afectivos:					
8.10. Promover o interesse e gosto por aprender ciências.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.11. Proporcionar aos alunos oportunidades para apreciarem fenómenos do mundo natural.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.12. Desenvolver curiosidades.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.13. Estimular oportunidades para os alunos desenvolverem autonomia e sentido de responsabilidade.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Argumentos centrados em competências manipulativas:					
8.14. Desenvolver competências para manusear material de laboratório (equipamentos, materiais e reagentes).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.15. Desenvolver técnicas científicas básicas, como por exemplo, observar e medir.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

9 – Tendo em conta o(s) ciclo(s) de ensino que lecciona ou leccionou nos últimos cinco anos, aquando da realização de trabalho prático, designadamente experimental e laboratorial, solicita aos alunos a elaboração de relatório?

3º Ciclo Sim Não
Ensino Secundário Sim Não

9.1 – Se respondeu **sim**, indique o tipo de relatório que mais frequentemente solicita aos seus alunos.

Assinale a sua resposta colocando X no local apropriado.

	3º Ciclo	Ensino Secundário
9.1.1. Relatório com estrutura predefinida e individual.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.1.2. Relatório com estrutura predefinida e por grupo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.1.3. Vê de Gowin elaborado individualmente.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.1.4. Vê de Gowin elaborado em grupo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.1.5. Outro. Indique qual e para que nível de ensino.		

9.2 – Se respondeu **não**, justifique a sua resposta.

Obrigada.

Ana Sofia Gabriel

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DA OFICINA DE FORMAÇÃO

O objectivo do presente questionário é recolher a sua opinião acerca da Oficina de Formação que agora termina. As respostas (anónimas) são fundamentais para avaliar a Oficina de Formação, designadamente para ajuizar até que ponto cumpriu os objectivos que se definiram, conhecer razões que justifiquem eventuais distanciamentos entre aqueles objectivos e as respectivas realizações e/ou identificar eventuais insuficiências.

Obrigada pela sua colaboração.

Maio de 2007

1 – Qual o seu grau de concordância/discordância com os seguintes aspectos referentes à Oficina de Formação?

Assinale os seus pontos de vista colocando X nos locais apropriados.

	Discordo	Concordo em parte	Concordo totalmente	Não tenho opinião
1.1. A Oficina de Formação correspondeu às expectativas criadas pelo programa de formação.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.2. Os objectivos definidos para a Oficina de Formação foram atingidos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.3. A duração da Oficina de Formação foi adequada aos objectivos definidos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.4. Em geral, as metodologias adoptadas na Oficina de Formação foram adequadas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.5. As sessões de trabalho prático, com componentes laboratoriais e/ou experimentais foram úteis.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.6. As relações interpessoais estabelecidas entre os formandos ao longo da Oficina de Formação foram boas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.7. As relações interpessoais estabelecidas entre os formandos e a investigadora-formadora ao longo da Oficina de Formação foram boas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2 – Em termos de desenvolvimento de competências que se pretendeu estimular na Oficina de Formação, como auto-avalia o seu desempenho pessoal?

Assinale a sua resposta colocando X nos locais apropriados.

	Nulo	Fraco	Razoável	Bom	Muito Bom
2.1. Compreensão de significados de trabalho prático, designadamente experimental, laboratorial e de campo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.2. Actualização de conhecimentos em áreas de aplicação da Biotecnologia.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.3. Aquisição de competências necessárias para implementar trabalho prático numa perspectiva investigativa.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.4. Aquisição de competências para utilizar novas técnicas e procedimentos em laboratórios escolares.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.5. Compreensão da importância de utilizar Vês de Gowin e mapas de conceitos em ensino de ciências.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3 – No âmbito do percurso investigativo realizado, indique o grau de dificuldade/facilidade que percecionou na concretização dos seguintes aspectos:

Assinale os seus pontos de vista colocando X nos locais apropriados.

	Muito difícil	Difícil	Razoavelmente fácil	Fácil	Muito Fácil
3.1. Formulação de questões de investigação (questões-foco).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.2. Formulação de hipóteses.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.3. Elaboração de mapas de conceitos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.4. Previsão de dados e/ou resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.5. Elaboração de procedimentos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.6. Execução de procedimentos.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.7. Discussão de resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.8. Elaboração de conclusões.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

4 – Acrescente informação que considere pertinente para justificar as suas respostas à **questão 3**.

5 – Em termos do grau de consecução de objectivos centrados nos argumentos que se seguem, como avalia o trabalho prático desenvolvido nesta Oficina de Formação?

Assinale os seus pontos de vista colocando X nos locais apropriados.

	Nulo	Fraco	Razoável	Bom	Muito Bom
Argumentos predominantemente cognitivos:					
5.1. Ilustrar conceitos, confirmar teorias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.2. Desenvolver competências para formular questões.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.3. Desenvolver competências para formular hipóteses e prever resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.4. Seleccionar e/ou elaborar novos procedimentos laboratoriais.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.5. Desenvolver competências para testar e validar ideias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.6. Desenvolver pensamento criativo.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.7. Desenvolver competências para controlar variáveis.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.8. Desenvolver competências para analisar dados e interpretar resultados.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.9. Desenvolver competências para elaborar ideias e formular conclusões.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.10. Compreender como se constrói conhecimento científico.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Argumentos predominantemente afectivos:					
5.11. Promover interesse e gosto por aprender assuntos novos relevantes para ensinar ciências.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.12. Apreciar oportunidades para reflectir sobre assuntos de ciências relevantes para as pessoas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.13. Desenvolver curiosidades sobre assuntos de ciências com implicações na vida das pessoas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.14. Apreciar a importância de desenvolver competências investigativas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.15. Apreciar a importância de proporcionar oportunidades para os alunos desenvolverem competências investigativas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Argumentos centrados em competências manipulativas:					
5.16. Desenvolver competências para manusear novos materiais de laboratório (equipamentos, biomateriais e reagentes).	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.17. Aplicar novas técnicas científicas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.18. Testar novos procedimentos laboratoriais.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

6 – Relativamente à realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa, refira **duas vantagens** e **duas desvantagens**.

Vantagens:

Desvantagens:

7 – Apresente a sua avaliação da Oficina de Formação incluindo, **pelo menos**, um **aspecto positivo** e um **aspecto negativo**.

Positivo:

Negativo:

8 – Qual o seu **grau de satisfação** com o percurso investigativo que realizou nesta Oficina de Formação?

Assinale a sua opinião colocando X no local apropriado.

- A. Insatisfeito.
- B. Pouco satisfeito.
- C. Satisfeito.
- D. Muito satisfeito.

8.1 – Justifique a sua resposta.

9 – Faça uma apreciação crítica relativamente ao **desempenho da investigadora-formadora**.

Obrigada.

Ana Sofia Gabriel

RELATÓRIO CRÍTICO

Designação da Acção de Formação: Desenvolvimento de actividades práticas em Biotecnologia numa perspectiva investigativa: um contributo na (re)orientação de ensino e aprendizagem de Ciências.

Modalidade da Acção: Oficina de Formação.

Duração: 50 horas.

Promotor: Centro de Formação de Associação de Escolas dos Concelhos de Alcobaça e Nazaré.

Formando(a):

Formadora: Ana Sofia Gomes da Silva Franco Gabriel.

Local de realização: Escola Secundária D. Inês de Castro de Alcobaça.

ESTRUTURA DO RELATÓRIO:

1. Avaliação do trabalho desenvolvido durante a Oficina de Formação relativamente ao interesse, pertinência e aplicabilidade nas práticas lectivas.

2. Avaliação da participação na Oficina de Formação em termos de ganhos, a nível profissional e/ou pessoal.

3. Opinião relativamente às actividades propostas ao longo da Oficina de Formação.

4. Apreciação crítica do trabalho desenvolvido na Oficina de Formação referindo-se, designadamente ao contexto problemático seleccionado (Actividade 3) e ao percurso investigativo realizado.

5. Apresentação de sugestões de alteração que possam contribuir para melhorar futuras iniciativas de formação, caso esta Oficina de Formação venha a realizar-se de novo.

Alcobaça, 15 de Junho de 2007.

Assinatura,

Nome do(a) formando(a)

QUESTIONÁRIO DE DIAGNÓSTICO: TIPOS, MODALIDADES E OBJECTIVOS DAS QUESTÕES

QUESTÕES	TIPO	MODALIDADE	OBJECTIVOS DAS QUESTÕES
I – 1	Intenção	Aberta	Conhecer as motivações profissionais e/ou pessoais que levaram os professores-formandos a inscreverem-se na oficina de formação.
I – 2	Intenção	Aberta	Conhecer as expectativas dos professores-formandos relativamente à oficina de formação.
I – 3	Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Saber qual o grau de conhecimento percebido pelos professores-formandos relativamente a referenciais teóricos relevantes em educação em ciências.
II – 1.1	Opinião	Aberta	Saber o que entendem os professores-formandos por trabalho prático.
II – 1.2	Opinião	Aberta	Saber o que entendem os professores-formandos por trabalho laboratorial.
II – 1.3	Opinião	Aberta	Saber o que entendem os professores-formandos por trabalho experimental.
II – 1.4	Opinião	Aberta	Conhecer as relações que os professores-formandos estabelecem entre trabalho prático, trabalho laboratorial e trabalho experimental.
II – 2	Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer a importância que os professores-formandos atribuem à realização de trabalho prático no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.
II – 2.1	Opinião	Aberta	Conhecer as justificações dos professores-formandos relativamente à importância atribuída à realização de trabalho prático no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.
II – 3	Ação	Escolha múltipla em leque aberto	Saber com que frequência os professores-formandos realizam trabalho prático no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.
II – 3.1	Opinião	Aberta	Conhecer as justificações dos professores-formandos relativamente à frequência com que realizam trabalho prático no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.
II – 4	Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer o grau de satisfação dos professores-formandos relativamente ao trabalho prático que costumam realizar.
II – 4.1	Opinião	Aberta	Conhecer os motivos dos professores-formandos que justifiquem o seu grau de satisfação relativamente ao trabalho prático que costumam realizar.
II – 5	Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer o grau de concordância/discordância dos professores-formandos relativamente a vários aspectos relativos ao trabalho prático.
II – 6	Opinião	Escolha múltipla em leque aberto	Saber quais são as principais dificuldades dos professores-formandos na implementação de trabalho prático.
II – 7	Ação	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Identificar a modalidade de trabalho prático mais utilizado pelos professores-formandos no 3º ciclo do ensino básico e no ensino secundário.
II – 8	Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer a opinião dos professores-formandos relativamente ao grau de consecução de objectivos que pensam conseguir atingir com o trabalho prático que desenvolvem nas suas aulas.
II – 9	Facto	Fechada	Saber se os professores-formandos solicitam aos alunos a elaboração de relatórios aquando da realização de trabalho prático.
II – 9.1	Ação	Escolha múltipla em leque aberto	Identificar o tipo de relatório solicitado aos alunos.
II – 9.2	Opinião	Aberta	Conhecer os motivos dos professores-formandos para não solicitarem aos alunos a elaboração de relatórios.

QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO DA OFICINA DE FORMAÇÃO: TIPOS, MODALIDADES E OBJECTIVOS DAS QUESTÕES

QUESTÕES	TIPO	MODALIDADE	OBJECTIVOS DAS QUESTÕES
1	Acção e Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer o grau de concordância/discordância dos professores-formandos relativamente a aspectos referentes à oficina de formação.
2	Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer como os professores-formandos auto-avaliaram as competências que se pretenderam estimular na oficina de formação.
3	Acção e Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Identificar o grau de dificuldade/facilidade na concretização de processos envolvidos nos percursos investigativos realizados.
4	Opinião	Aberta	Conhecer as justificações dos professores-formandos relativamente ao grau de dificuldade/facilidade na concretização de processos envolvidos nos percursos investigativos realizados.
5	Acção e Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Conhecer como os professores-formandos avaliaram o trabalho prático desenvolvido na oficina de formação, relativamente ao grau de grau de consecução de objectivos predominantemente centrados em argumentos cognitivos, afectivos e centrados em competências manipulativas.
6	Opinião	Aberta	Saber quais as vantagens e desvantagens que os professores-formandos atribuem à realização de trabalho prático numa perspectiva investigativa.
7	Opinião	Aberta	Conhecer a avaliação que os professores-formandos efectuaram da oficina de formação em termos de aspectos positivos e negativos.
8	Acção e Opinião	Escolha múltipla de avaliação ou estimação	Saber qual o grau de satisfação dos professores-formandos com o percurso investigativo realizado na oficina de formação.
8.1	Opinião	Aberta	Conhecer as justificações dos professores-formandos relativamente ao grau de satisfação com o percurso investigativo realizado na oficina de formação.
9	Acção e Opinião	Aberta	Conhecer a opinião dos professores-formandos relativamente ao desempenho da investigadora-formadora.

RELATÓRIO CRÍTICO: TIPOS, MODALIDADES E OBJECTIVOS DAS QUESTÕES

QUESTÕES	TIPO	MODALIDADE	OBJECTIVOS DAS QUESTÕES
1	Opinião	Aberta	Conhecer como os professores-formandos avaliam o interesse, pertinência e aplicabilidade nas práticas lectivas do trabalho desenvolvido na oficina de formação.
2	Opinião	Aberta	Conhecer como os professores-formandos avaliam os ganhos a nível profissional e/ou pessoal com a participação na oficina de formação.
3	Acção e Opinião	Aberta	Conhecer a opinião dos professores-formandos sobre as actividades propostas ao longo da oficina de formação.
4	Acção e Opinião	Aberta	Saber que apreciação crítica os professores-formandos fazem ao contexto problemático seleccionado e ao percurso investigativo realizado.
5	Intenção Opinião	Aberta	Conhecer as sugestões de alteração propostas pelos professores-formandos, para melhorar futuras iniciativas de formação, caso esta oficina de formação venha a realizar-se de novo.

FICHAS INDIVIDUAIS DOS PROFESSORES – FORMANDOS

Caracterização pessoal e profissional

1 – Nome: _____

2 – Nº de telefone de contacto: _____

3 – Sexo: F M

4 – Nome da escola onde actualmente lecciona:

5 – Idade:

5.1. 21 a 25 anos.

5.2. 26 a 30 anos.

5.3. 31 a 35 anos.

5.4. 36 a 40 anos.

5.5. 41 a 45 anos.

5.6. 46 a 50 anos.

5.7. 51 a 55 anos.

5.8. mais de 55 anos.

6 – Categoria profissional:

6.1. Professor(a) do Quadro de Nomeação Definitiva (Quadro de Escola).

6.2. Professor(a) do Quadro de Zona Pedagógica de Nomeação Definitiva.

6.3. Professor(a) do Quadro de Zona Pedagógica de Nomeação Provisória.

6.4. Professor(a) Contratado.

6.5. Outra. Qual? _____

7 – Área de formação inicial:

7.1. Licenciatura em Biologia (Ramo educacional/Ensino).

7.2. Licenciatura em Biologia (Ramo científico).

7.3. Licenciatura em Geologia (Ramo educacional/Ensino).

7.4. Licenciatura em Geologia (Ramo científico).

7.5. Licenciatura em Ensino de Biologia e Geologia.

7.6. Outra. Qual? _____

13 – No que diz respeito à frequência de acções de formação, para efeitos de progressão na carreira docente, preencha os seguintes dados relativamente às duas últimas acções frequentadas:

Acção de Formação 1:

Nome da acção frequentada: _____

Instituição formadora: _____

Local onde se realizou: _____

Data: _____

Acção de Formação 2:

Nome da acção frequentada: _____

Instituição formadora: _____

Local onde se realizou: _____

Data: _____

Obrigada.

Ana Sofia Gabriel

Caro(a) colega

A actual Oficina de Formação foi concebida como parte integrante dos trabalhos que presentemente estou a desenvolver no âmbito da investigação do meu projecto de doutoramento, intitulado “A Biotecnologia: concepção e validação de trabalhos práticos”. Este trabalho de investigação está a realizar-se no Departamento de Biologia da Universidade de Aveiro, sob Orientação das Professoras Doutoradas Maria da Conceição Santos e Maria Arminda Pedrosa.

Com o objectivo de recolher informações sobre a implementação desta Oficina de Formação, torna-se importante proceder à gravação áudio e vídeo de algumas sessões de trabalho. As gravações e toda a informação recolhida, assim como as respostas aos questionários e reflexões escritas individuais ou em grupo, serão exclusivamente usadas para fins da investigação e a sua utilização respeitará o anonimato.

Venho por este meio, solicitar a preciosa colaboração do(a) colega na concretização desta parte do projecto de investigação, nos termos anteriormente apresentados, que será oficializado pela assinatura da declaração que se segue.

Alcobaça, 12 de Abril de 2007

Assinatura da investigadora-formadora,

(Ana Sofia Gomes da Silva Franco Gabriel)

DECLARAÇÃO:

Declaro que tomei conhecimento do conteúdo do presente documento e que aceito constituir-me como professor colaborador na presente investigação, nos termos acima referidos.

Assinatura dos professores-formandos,

Actividade 1A – Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos, acerca de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo) – clarificação de significados.

1 – Analisem com atenção a seguinte actividade retirada de um manual escolar dos actuais programas do ensino secundário e respondam às seguintes questões:

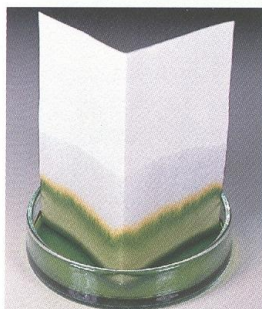
SEPARAÇÃO DE PIGMENTOS FOTOSSINTÉTICOS

Material

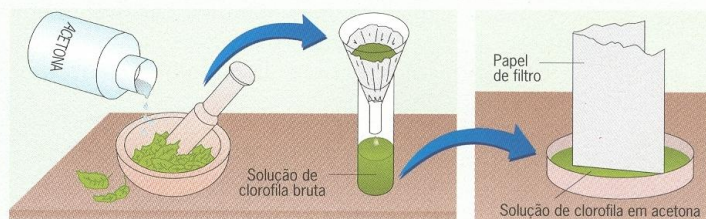
- Folhas de espinafres ou de urtigas
- Funil
- Placa de Petri
- Acetona
- Vareta
- Papel de filtro
- Almofariz
- Areia fina
- Tesoura

Modo de proceder

- 1 Corte as folhas em pedaços para dentro do almofariz. Junte areia e esmague com o pilão.
- 2 Adicione um pouco de acetona, agite com a vareta e filtre.
- 3 Verta o filtrado para uma caixa de Petri. Introduza nesse filtrado um rectângulo de papel de filtro dobrado em ângulo.



29 Disposição dos diferentes pigmentos fotossintéticos.



30

- 4 Após o procedimento, aguarde alguns minutos, observe o papel de filtro e registre as alterações que verificar.
- 5 Compare os resultados que obteve com os dados da figura [29].

- Como interpreta os resultados?

SILVA, A. D., GRAMACHO, F., SANTOS, M. E., MESQUITA, A. F. (2003a). *Terra, Universo de Vida*. Biologia e Geologia do 10º Ano. 2ª Parte – Biologia. Porto, Porto Editora, 101.

1.1 – Situando-se no contexto das vossas práticas lectivas, no que se refere à execução do procedimento, como procederiam?

Assinalem a resposta colocando X no local apropriado.

- | | |
|---|--------------------------|
| 1.1.1. Realizado pelo professor – os alunos observam | <input type="checkbox"/> |
| 1.1.2. Realizado pelo professor com a ajuda dos alunos. | <input type="checkbox"/> |
| 1.1.3. Trabalho em grupo. | <input type="checkbox"/> |
| 1.1.4. Trabalho individual. | <input type="checkbox"/> |
| 1.1.5. Outro. Indique qual. _____ | <input type="checkbox"/> |

1.2 – Qual o **papel do(a) professor(a)** e dos **alunos** no desenvolvimento da actividade?

1.3 – Indiquem qual o **principal objectivo** a atingir com a realização desta actividade.

1.4 – Esta actividade envolve controlo e manipulação de variáveis?

Sim Não

1.5 – **Justifiquem** a vossa opção.

1.6 – Como designariam esta actividade?

Assinalem a resposta colocando X na(s) opção(ões) que consideram adequada(s).

- 1.6.1. Trabalho prático.
- 1.6.2. Trabalho laboratorial.
- 1.6.3. Trabalho experimental.
- 1.6.4. Trabalho de campo.

1.7 – **Justifiquem** a vossa resposta.

1.8 – Actualmente podem resumir-se a cinco objectivos principais a atingir com a implementação de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo). Qual a contribuição dessa actividade no grau de consecução desses objectivos?

Assinalem a vossa opinião colocando X nos locais apropriados.

	Nula	Fraca	Razoável	Boa	Muito Boa
1.8.1. Promover o interesse e a motivação.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.8.2. Desenvolver competências práticas de laboratório.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.8.3. Promover a compreensão de conceitos e teorias.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.8.4. Desenvolver competências investigativas e de resolução de problemas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
1.8.5. Promover a compreensão de como se constrói conhecimento científico.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1.9 – Recorrendo à análise do seguinte documento:

ALMEIDA, A. M. (2001). Educação em ciências e trabalho experimental: emergência de uma nova concepção. In A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 51-73.

Como avaliam o tipo de actividade proposta? **Justifiquem** a resposta.

2 – Apresentação do trabalho realizado pelo grupo em **sessão plenária**.

Actividade 1B – Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos, acerca de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo) – clarificação de significados.

1 – Analisem com atenção a seguinte actividade retirada de um manual escolar dos actuais programas do ensino básico e respondam às seguintes questões:

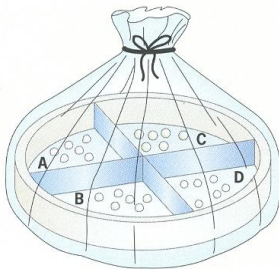
QUAL A INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA GERMINAÇÃO DAS SEMENTES?

Material:

- Caixas de Petri
- Algodão
- Tiras de cartolina
- Solução de lixívia a 20%
- Sacos de plástico transparente
- Elásticos
- Sementes de ervilheira, tomateiro, rabanete e alface

Modo de proceder:

- 1 Coloca uma camada de algodão no fundo de quatro placas de Petri. Divide cada caixa em quatro partes, utilizando tiras de cartolina [11]. Passa as sementes por uma solução de lixívia para evitar a formação de bolores.
- 2 Coloca em cada quadrante 6 sementes.
- 3 Rega os recipientes com igual quantidade de água.
- 4 Introduce cada caixa num saco de plástico opaco e ata-o na extremidade.
- 5 Coloca as caixas nas seguintes condições:
 - Caixa I – frigorífico (cerca de 5 °C)
 - Caixa II – estufa (entre 25 e 30 °C)
 - Caixa III – estufa (60 °C)
 - Caixa IV – temperatura ambiente num local sem luz
- 6 Mantém as caixas húmidas, humedecendo o seu conteúdo sempre que necessário.
- 7 Observa diariamente e regista o número de sementes germinadas de cada planta em cada dia.
- 8 Para cada uma das caixas, indica as sementes que germinaram em primeiro lugar e as sementes que, em menos dias, germinaram em maior número.



11 Montagem experimental:

- A – Sementes de tomateiro
- B – Sementes de rabanete
- C – Sementes de alface
- D – Sementes de ervilheira

Discussão

- Explica por que razão:
 - se utilizou igual quantidade de água em 3;
 - cada uma das caixas foi introduzida num saco plástico opaco.
- Que tipos de sementes suportam melhor as baixas temperaturas?
- Quais das sementes teriam mais vantagens se fossem semeadas em dias frios de Novembro?

SILVA, A. D., GRAMACHO, F., SANTOS, M. E., MESQUITA, A. F., BALDAIA, L., FÉLIX, J. M. (2003b). *Planeta Vivo – Sustentabilidade na Terra*. Ciências Físicas e Naturais. Ciências Naturais, 3º Ciclo. Porto, Porto Editora, 23-24.

Nota: As questões sobre esta actividade são as mesmas da Actividade 1A.

Actividade 2 – Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos acerca de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo) – clarificação de significados (continuação).

1 – Recorrendo à análise dos seguintes documentos:

DOURADO, L. (2001a). Trabalho prático, trabalho laboratorial, trabalho de campo e trabalho experimental no ensino das ciências – contributo para uma clarificação de termos. In A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.) *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 13-18.

LEITE, L. (2001). Contributos para uma utilização mais fundamentada do trabalho laboratorial no ensino das ciências. In H. V. Caetano, M. G. Santos (Org.). *Cadernos Didácticos de Ciências*, 1, Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 79-97.

1.1 – Elaborem um mapa de conceitos, recorrendo às interligações que considerarem convenientes, utilizando as seguintes palavras-chave:

- **trabalho prático**
- **trabalho de campo**
- **trabalho experimental**
- **trabalho laboratorial**

2 – Apresentação do trabalho realizado pelo grupo em **sessão plenária**.

Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação.

1 – Analisem com atenção o seguinte texto:

“BACTÉRIAS DO SOLO: PRODUÇÃO E RESISTÊNCIA A ANTIBIÓTICOS”

A partir da inesperada descoberta da penicilina em 1928 e da estreptomicina em 1943 que a indústria farmacêutica tem estudado milhares de amostras de solo para a pesquisa de agentes antimicrobianos produzidos por microrganismos do solo (Tomasz, 2006). De facto “a procura de antibióticos pela indústria farmacêutica, constitui um bom exemplo de como as técnicas de isolamento e rastreio de estirpes a partir do meio ambiente, são importantes na selecção de microrganismos para aplicação industrial” (Casal *et al.*, 2004a, p.5).

A maioria dos antibióticos produzidos por microrganismos habitantes do solo pertence aos *Actinomycetes* (D’Costa *et al.*, 2006). Os *Actinomycetes* são bactérias gram-positivas com uma estrutura filamentosa (Oliveira, 1998), que podem desenvolver micélio superficial e submerso, com hifas de 0,5 a 2,0 µm de diâmetro (Casal *et al.*, 2004a). Atendendo à sua semelhança com fungos, uma vez que muitas apresentam a formação de esporos aéreos, conídios, dispostos em cadeia, foram inicialmente classificadas como tais (*Ibid.*), sendo, no entanto, organismos procarióticos, ao contrário dos fungos. Estas bactérias, que podem atingir vários milhões por grama de solo (10^7 - 10^8), desempenham um papel biológico relevante na decomposição de substratos resistentes, como por exemplo a celulose, quitina e lenhina (Oliveira, 1998), são aeróbias, heterotróficas e apresentam temperatura e pH de crescimento óptimos entre, respectivamente, 25°C-30°C e 6,5-8,0 (Casal *et al.*, 2004a). As colónias de *Actinomycetes*, particularmente do género *Streptomyces*, são pequenas (1 a 10 mm de diâmetro), inicialmente apresentam um aspecto relativamente macio e sem brilho, apresentando, após o desenvolvimento do micélio aéreo, um aspecto bastante denso, granuloso e pulverulento (*Ibid.*). Atendendo ao facto de produzirem grande variedade de compostos pigmentados, as colónias, assim como o meio de crescimento, podem apresentar diferentes cores (*Ibid.*).

Dentro do grupo de *Actinomycetes*, o género *Streptomyces* é o de maior interesse comercial, atendendo a que mais de 70% dos antibióticos processados industrialmente serem produzidos por representantes deste género (Casal *et al.*, 2004a). Entre estes, há a salientar o *Streptomyces griseus* e o *Streptomyces aureofaciens* que produzem importantes antibióticos, como a estreptomicina, sintetizada por *S. griseus*, a clorotetraciclina, sintetizada por *S. aureofaciens*, a terramicina, sintetizada por *S. rimosus*, entre muitos outros.

Um estudo publicado recentemente pela revista *Science* (de 20 de Janeiro de 2006 por D’Costa *et al.* num artigo intitulado “*Sampling the Antibiotic Resistome*”) refere que várias bactérias encontradas no solo são resistentes a antibióticos. Este estudo sugere que o solo constitui um

reservatório sub-reconhecido de resistência que tem o potencial de se reflectir em bactérias clinicamente importantes. Neste estudo foram isoladas 480 estirpes bacterianas, morfológicamente formadoras de esporos, provenientes de amostras de solo do meio urbano, agrícola e florestal. As bactérias isoladas pertencem ao género *Streptomyces*, cujas espécies produzem cerca de metade dos antibióticos conhecidos. As bactérias foram testadas não como produtoras de agentes antimicrobianos, mas sim, para verificar a sua resistência aos antibióticos. Assim, as bactérias foram submetidas a 21 antibióticos de diversas origens: natural, semi-sintéticos e totalmente sintéticos, uns disponíveis no mercado há décadas, outros só recentemente aprovados. Os resultados obtidos mostram que, em média e sem excepção, as estirpes utilizadas foram resistentes a 7 ou 8 dos antibióticos testados, verificando-se ainda que duas estirpes apresentam resistência a 15 dos 21 antibióticos.

Nas últimas décadas tem aumentado a resistência das bactérias patogénicas a determinados antibióticos (e.g. macrólidos), verificando-se, também neste estudo, níveis consideráveis de resistência das bactérias do solo a este tipo de antibióticos, independentemente de terem origem natural, tal como a eritromicina (introduzido em 1952, 27%), ou semi-sintética, como a telitromicina (aprovado em 2004 pela *Food and Drug Administration*, 17%). Os resultados desta investigação mostram que o estudo das bactérias do solo pode fornecer indicações importantes, designadamente para compreender como algumas delas desenvolvem resistência a antibióticos, e assim, contribuir para o desenvolvimento de novas substâncias mais eficientes no tratamento de infecções.

Este estudo permitiu uma análise do potencial de resistência de microrganismos do solo aos antibióticos, sendo notáveis os elevados níveis de resistência das bactérias, independentemente dos antibióticos testados serem recentemente aprovados para utilização em humanos ou já serem prescritos durante décadas para tratamentos de infecções. No entanto, este estudo, embora revele a densidade e concentração de resistência do ambiente aos antibióticos, não produz evidência directa da transferência da resistência de microrganismos do solo para as bactérias patogénicas. Por outro lado, os resultados obtidos não reflectem a verdadeira extensão da resistência a antibióticos, uma vez que o estudo se restringiu às bactérias produtoras de esporos, que representam apenas uma fracção das bactérias existentes no solo.

Num outro trabalho, publicado no mesmo número da *Science*, intitulado “*Weapons of Microbial Drug Resistance Abound in Soil Flora*”, Tomasz baseou-se nos resultados obtidos por D’Costa *et al.* (2006), para propor que o estudo dos mecanismos de resistência das bactérias do solo aos antibióticos pode oferecer pistas no desenvolvimento de novo arsenal de medicamentos terapêuticos. Segundo Tomasz (2006) o mecanismo de resistência de bactérias patogénicas a antibióticos pertencentes ao grupo dos aminoglicosídeos (e.g. estreptomicina e canamicina) pode ser estudada através das bactérias do solo produtoras destes antibióticos. De facto, micróbios que sintetizam sofisticadas substâncias químicas que têm constituído a chave do sucesso da humanidade por controlarem doenças provocadas por bactérias, possuem igualmente mecanismos sofisticados para se protegerem dos seus próprios produtos tóxicos. Estes

mecanismos de auto-protecção representam armas formidáveis que podem anular o sucesso da terapia antimicrobiana em bactérias patogénicas.

Referências bibliográficas

- CASAL, M. (Coord.), SCHULLER, D., RIBEIRO, A., CARDOSO, H., NOBRE, A. (2004a).** Unidade X – Prospecção de bactérias produtoras de antibióticos. *Microbiologia e genética molecular microbiana: manual de laboratório*. Editora Copissaurio.
<https://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/2763/1/Livro+Actinomicetas+.pdf>
[Acedido: 10/02/2007]
- D’COSTA, V. M., MCGRANN, K. M., HUGHES, D. W., WRIGHT, G. D. (2006).** Sampling the antibiotic resistome. *Science* de 20 de Janeiro, 311, 374-377.
- OLIVEIRA, A. (1998).** Microbiologia do solo. In W. Ferreira, J. Sousa (Coords.). *Microbiologia*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda. Volume 1, 271-283.
- TOMASZ, A. (2006).** Weapons of microbial drug resistance abound in soil flora. *Science* de 20 de Janeiro, 311, 342-343.

Questões:

1.1– Caracterizem o contexto problemático apresentado.

1.2 – Em que medida o contexto apresentado reflecte inter-relações CTS (Ciência, Tecnologia e Sociedade)?

1.3 – Com base no texto formulem questões cuja elaboração de respostas requeira o desenvolvimento de uma investigação.

1.4 – Das questões anteriormente formuladas seleccionem uma que entendam apropriada para desenvolverem um percurso investigativo.

1.5 – Relativamente à questão seleccionada respondam às seguintes questões:

1.5.1 – A questão formulada tem enquadramento curricular? Especifiquem.

1.5.2 – Prevêem que possa despertar interesse nos alunos? Porquê?

Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação.

1 – Analisem com atenção o seguinte texto:

“BIOCOMBUSTÍVEIS: BIOETANOL – UMA APLICAÇÃO DA FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA”

Segundo o relatório da OCDE (2004) *“Agriculture, biomass, sustainability and policy: an overview”*, a actual utilização de energia a partir de biomassa agrícola⁴³ (AgroPortal, 2004a) é, na maioria dos países membros, muito pequena comparativamente com a energia derivada dos combustíveis fósseis. Salienta-se, então, a necessidade de os países substituírem progressivamente o modelo económico actual, dependente dos combustíveis fósseis, por outros que utilizem a biomassa como fonte de energia, referindo-se que muitos países membros da OCDE estão já a desenvolver políticas que visam incentivar a produção de energia a partir de biomassa agrícola (OCDE, 2004). Pretende-se, assim, reduzir a emissão de gases com efeito de estufa (GEE) intervenientes nas alterações climáticas, aumentando a utilização de fontes renováveis de energia com menores emissões de dióxido de carbono, comparativamente com os combustíveis fósseis (OCDE, 2004). A este propósito, destaca-se que o Protocolo de Quioto⁴⁴, discutido e negociado no Japão em 1997 – um tratado internacional com compromissos quantificados para a redução da emissão de GEE (de acordo com a maioria das investigações científicas considerados causa do aquecimento global⁴⁵) – fixou a meta de se reduzir estas emissões em pelo menos 5,2% até 2012.

O Parlamento Europeu e o Conselho da União Europeia aprovaram a Directiva 2003/30/EC, relativa à promoção da utilização de biocombustíveis e de outros combustíveis renováveis para o sector dos transportes. Segundo esta directiva, os Estados-Membros devem assegurar a utilização de biocombustíveis e de outros combustíveis renováveis para o sector dos transportes, num valor de referência de 2% do total do consumo de gasolina e gasóleo em 2005, devendo ascender a 5,75% em 2010 (JOUE, 2003).

Recentemente, os Ministros do Ambiente da União Europeia concordaram em reduzir em 20% as emissões de GEE até 2020, valor que poderá ascender a 30%, caso exista, a nível internacional, um compromisso mais amplo pelos restantes países industrializados do mundo⁴⁶.

⁴³ Produtos e resíduos da actividade agrícola e florestal, como por exemplo, cereais, forragens, plantas oleaginosas, produtos fibrosos e lenhosos.

⁴⁴ “Em 31 de Maio de 2002, a União Europeia ratificou o Protocolo de Quioto, que entrou em vigor em 16 de Fevereiro de 2005, após a sua ratificação pela Rússia. Vários países industrializados recusaram-se a ratificar o Protocolo, entre os quais os EUA e a Austrália”. O portal da União Europeia: <http://europa.eu/scadplus/leg/pt/lvb/l28060.htm> [Acedido: 10/02/2007]

⁴⁵ http://pt.wikipedia.org/wiki/Protocolo_de_Quioto [Acedido: 10/02/2007]

⁴⁶ <http://www.portugaldiario.iol.pt/noticia.php?id=776198> [Acedido: 10/02/07]

Biocombustível designa qualquer tipo de combustível derivado de biomassa (García & Triñanes, 2006), destacando-se, de entre os biocombustíveis líquidos, o biodiesel e bioetanol pela sua importância, aplicação e volume de produção.

No relatório da OCDE (2006b) intitulado “*Agricultural market impacts of future growth in the production of biofuels*” refere-se que o crescente interesse na utilização de biocombustíveis se deve a aspectos ecológicos, económicos e geopolíticos. Salienta-se que o aumento do consumo de combustíveis derivados do petróleo, sobretudo no sector dos transportes, tem contribuído para a emissão de gases prejudiciais ao ambiente pelo seu efeito de estufa (e.g. dióxido de carbono). Cada vez mais, o preço do barril de petróleo tende a subir, disparando o seu valor, a cada ameaça de guerra ou crise internacional⁴⁷, o que, conjuntamente com a redução das reservas, tem proporcionado incentivos económicos não só para o uso de fontes de combustível alternativas, como para a investigação nesta área (OCDE, 2006b). Por outro lado, a crescente procura de petróleo tem levado ao aumento da dependência de grande parte dos países relativamente a um pequeno número de regiões produtoras, algumas das quais consideradas de risco geopolítico (*Ibid.*).

Na utilização dos biocombustíveis destacam-se como vantagens: originam-se a partir de matérias-primas renováveis; reduzem a dependência do sector dos transportes em relação ao petróleo; promovem a revitalização das economias rurais e a criação de emprego; decréscimo das emissões de GEE (García & Triñanes, 2006; Saraiva, 2003), sendo de referir que o biodiesel é menos contaminante pelo facto de não possuir enxofre, estando comprovado que as emissões contaminantes são 55% mais baixas do que as provenientes da combustão do gasóleo (Osmán, 2007). Como desvantagens destacam-se o custo actual de produção dos biocombustíveis e o facto de serem necessárias grandes áreas de cultivo para que a produção seja rentável (e.g. para produzir um litro de álcool são necessários 3 kg de cereais ou 10 kg de raiz de beterraba) (García & Triñanes, 2006). A utilização de biocombustíveis depende de políticas dos governos, designadamente de incentivos, quer aos agricultores para produzirem matéria-prima (García & Triñanes, 2006), quer aos consumidores no imposto automóvel (OCDE, 2006b). Por outro lado, para que o preço dos biocombustíveis seja competitivo relativamente aos combustíveis derivados do petróleo deve isentar-se de impostos (García & Triñanes, 2006).

Biodiesel e bioetanol podem ser utilizados como único combustível ou em misturas com gasóleo e gasolina, respectivamente (García & Triñanes, 2006). Actualmente, a maioria dos veículos pode utilizar baixos níveis de mistura de biocombustíveis com gasolina e gasóleo, já que elevados níveis de mistura, ou mesmo biocombustíveis puros, requerem modificações nos motores (OCDE, 2006b). Existem misturas pobres em etanol (E-10: 10% de etanol e 90% de gasolina) e misturas ricas (E-85: 85% de etanol e 15% de gasolina) (Saraiva, 2003). O E-85 pode utilizar-se nos veículos de combustível flexível (*flexible fuel vehicle - FFV*) que podem receber misturas de gasolina e etanol em diversas proporções até ao máximo de 85% de etanol (García & Triñanes,

⁴⁷ <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/vantagens/vantagens-biodiesel.htm> [Acedido: 10/02/2007]

2006). Estes veículos estão disponíveis no mercado em alguns países como Brasil, Estados Unidos e Suécia (*Ibid.*). Finalmente, o etanol pode usar-se juntamente com um derivado do petróleo (isobuteno) para produzir ETBE (éter etil-ter-butílico) (García & Triñanes, 2006; OCDE, 2006b), um aditivo destinado a melhorar a combustão da gasolina (aumenta o índice de octanas) (Saraiva, 2003). O ETBE é uma alternativa ao MTBE (éter metil-ter-butílico) que se obtém a partir do petróleo (García & Triñanes, 2006; Saraiva, 2003), e que, por ser cancerígeno, tem vindo a ser menos utilizado (Saraiva, 2003). Em Portugal, o MTBE ainda é adicionado à gasolina super sem chumbo 98 (numa concentração final de 4%) (*Ibid.*).

Os biocombustíveis podem ser produzidos a partir de diversas matérias-primas (OCDE, 2006b), o biodiesel, especificamente, obtém-se a partir de óleos vegetais de sementes de plantas oleaginosas (García & Triñanes, 2006; OCDE, 2006b). Os óleos mais utilizados são os de colza e girassol, na Europa, e os de soja na América do Norte (OCDE, 2006b). Actualmente, a nível mundial, a União Europeia lidera a produção de biodiesel, sendo a Alemanha o maior produtor, seguido da França e Itália (*Ibid.*). As matérias-primas mais utilizadas para a produção de etanol são a cana-de-açúcar no Brasil e os cereais nos Estados Unidos e União Europeia (*Ibid.*). No que diz respeito à União Europeia, os maiores produtores são a Espanha, França, Polónia e Suécia (*Ibid.*). Em Portugal, uma área de cerca de 47 mil hectares na zona de influência da barragem do Alqueva pode vir a ser utilizada para a produção de 100 milhões de litros anuais de bioetanol, prevendo-se a construção de uma destilaria, para a produção de bioetanol a partir de cereais e beterraba (AgroPortal, 2004b).

O preço total do biodiesel é fundamentalmente determinado pelos custos da matéria-prima, podendo reduzir-se significativamente utilizando óleos mais baratos (e.g. palma, ou mesmo óleos usados em frituras) (OCDE, 2006b). Aliás, o processamento de óleos vegetais surgiu de forma caseira e rudimentar através da utilização de óleos de frituras provenientes de restaurantes de comidas rápidas, tendo, então, surgido empresas para reciclar óleos usados transformando-os em biodiesel (García & Triñanes, 2006).

A fermentação alcoólica, para além de utilizada na indústria de panificação, é o processo mais usado para produzir etanol (Ferreira & Montes, 1999; García & Triñanes, 2006; OCDE, 2006b; SBRT, 2005; 2006). É um processo de grande importância que permite a obtenção industrial de álcool e todas as bebidas alcoólicas não destiladas (e.g. cerveja e vinho) e destiladas (e.g. aguardente, uísque) (SBRT, 2005). O etanol (ou álcool etílico) é um líquido incolor, com cheiro característico, volátil, inflamável, solúvel em água, tendo larga utilização: no fabrico de tintas, lacas, vernizes e perfumes; como desinfetante sob a forma de álcool etílico a 96% (96 partes de álcool e 4 partes de água: 96º Gay Lussac) (Saraiva, 2003); como combustível, na forma de álcool absoluto – característica necessária para preparar misturas com gasolina (García & Triñanes, 2006; SBRT, 2005).

Na fermentação alcoólica, os hidratos de carbono são transformados em etanol e dióxido de carbono pela acção de microrganismos – leveduras (fermentos biológicos). As leveduras são fungos unicelulares adequados para fermentações em escala industrial devido às suas

propriedades específicas, como a tolerância a altas concentrações de álcool (10 a 15%) e de dióxido de carbono, ou o crescimento rápido (SBRT, 2006). As espécies mais comuns para a produção de álcool são a *Saccharomyces cerevisiae* (vulgarmente conhecida como levedura de cerveja ou fermento de padeiro) e a *Saccharomyces carlsbergensis* (*Ibid.*).

A fermentação alcoólica envolve três etapas: preparação do substrato, fermentação e destilação do fermentado (SBRT, 2006). Na preparação do substrato, a matéria-prima é tratada visando obter-se açúcares fermentáveis (metabolizáveis pelas leveduras); na destilação, o etanol é separado do caldo de fermentação e posteriormente purificado (*Ibid.*).

Na produção de etanol podem utilizar-se diferentes matérias-primas de acordo com o tipo de hidratos de carbono presentes:

- Matérias-primas açucaradas, designadamente cana-de-açúcar, beterraba açucareira, mel e frutas – contêm açúcares simples (monossacarídeos), como a glicose e frutose, directamente fermentáveis e apenas utilizados na produção de bebidas como o vinho e a sidra, e dissacarídeos, como a sacarose e maltose, fermentáveis após hidrólise enzimática (Ferreira & Montes, 1999; Rodrigues *et al.*, 2000; SBRT, 2006).
- Matérias-primas amiláceas, designadamente cereais (*e.g.* milho, sorgo, cevada, trigo), tubérculos (*e.g.* batata, batata-doce) e raízes (*e.g.* mandioca) – contêm hidratos de carbono complexos, como o amido (SBRT, 2006).
- Matérias-primas celulósicas, designadamente palha, madeira, resíduos agrícolas e de fábricas de papel – contêm celulose e, apesar de abundantes, a sua utilização para produzir etanol ainda não é economicamente viável, uma vez que, para se tornarem fermentáveis, têm que ser transformadas através de um processo complexo de hidrólise ácida (SBRT, 2006). Espera-se, num futuro próximo, poder utilizar-se microrganismos geneticamente modificados que, degradando a celulose baixem os custos de produção do etanol (García & Triñanes, 2006). O Conselho Nacional de Defesa dos Recursos Renováveis dos Estados Unidos refere que, anualmente, são produzidos mais de mil milhões de toneladas destes materiais (*e.g.* serradura, relva, folhas de árvores e aparas de madeira) e espera-se que, em 2050, se obtenham, através da sua fermentação e destilação, cerca de 30% dos combustíveis para o sector automóvel (*Ibid.*).

Para além do tipo de matéria-prima, a fermentação alcoólica é controlada por outros factores, como: a temperatura, que é variável e dependente do processo – é mais baixa na produção de cerveja do que na produção industrial de álcool e vinho (SBRT, 2005); o pH, que deve apresentar-se adequado para inibir o desenvolvimento de bactérias contaminantes, sem prejudicar o desenvolvimento das leveduras (SBRT, 2005; 2006); a concentração de açúcares, que é variável e dependente do processo – varia entre 12 e 14% para a produção de álcool industrial, entre 6 e 9% para a produção de cerveja, e entre 22 a 24% para a produção de vinho (SBRT, 2005); a concentração de leveduras – aumentando a concentração destas, aumenta-se a rapidez da fermentação, melhorando-se, assim, a produtividade (SBRT, 2006).

O tempo de fermentação pode variar de dois a cinco dias, dependendo dos factores que a afectam (SBRT, 2006). Quando cessa a produção de dióxido de carbono, as leveduras depositam-se no fundo do fermentador, podendo utilizar-se este parâmetro como critério para se considerar a fermentação completa (*Ibid.*). A libertação de dióxido de carbono é facilmente detectada pela formação de bolhas na mistura, que parece estar em ebulição, o que, apesar de não ser verdade, se associa à designação fervura fria (SBRT, 2005).

Referências bibliográficas

- AGROPORAL (2004a).** A biomassa agrícola como fonte de biocombustíveis. *AgroNotícias*, 26 de Setembro. <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2004/09/26a.htm> [Acedido: 10/02/2007]
- AGROPORAL (2004b).** Biocombustíveis: produção de 100 milhões de litros de bioetanol pode avançar no Alqueva. *AgroNotícias*, 5 de Novembro. Fonte: Lusa. <http://www.agroportal.pt/x/agronoticias/2004/11/05f.htm> [Acedido: 10/02/2007]
- FERREIRA, E. C. & MONTES, R. (1999).** A química da produção de bebidas alcoólicas. *Química Nova Na Escola*. Nº 10, Novembro.
- GARCÍA, M. J. & TRIÑANES, P. G. (2006).** *Biocombustibles: Bioetanol y Biodiesel*. XIX CONGRESO ENCIGA (Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia). Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro. <http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 10/02/2007]
- JOUE (Jornal Oficial da União Europeia) (2003).** *Directiva 2003/30/CE do Parlamento Europeu e do Conselho relativa à promoção da utilização de biocombustíveis ou de outros combustíveis renováveis nos transportes*. (L 123/42). <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2003:123:0042:0042:PT:PDF> [Acedido: 10/02/2007]
- OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (2004).** *Agriculture, biomass, sustainability and policy: an overview*. OCDE Workshop on Biomass and Agriculture (Vienna, Austria), 10 e 13 June, 2003. Kevin Parris, OCDE, France. OCDE Publication Service, Paris. <http://webdomino1.oecd.org/comnet/agr/BiomassAg.nsf> [Acedido: 10/02/2007]
- OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (2006b).** *Agricultural market impacts of future growth in the production of biofuels*. Committee for Agriculture. AGR/CA/APM(2005)24/FINAL. <http://www.oecd.org/dataoecd/58/62/36074135.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- OSMÁN, E. J. P. (2007).** Biocombustibles: el biodiesel. *EnergiBoletín – Boletín Digital de Energia y Medio Ambiente*. E. Osmán (Edit.). Ano 3, 3, Março.
- RODRIGUES, J. R., AGUIAR, M. R., MARIA, L. C., SANTOS, Z. A. (2000).** Uma abordagem alternativa para o ensino da função álcool. *Química Nova Na Escola*. Nº 12, Novembro. http://sbgensino.foco.fae.ufmg.br/uploads/YH/N4/YHN4iT5FlyrO-O7wD7_SpA/v12a05.pdf [Acedido: 10/02/2007]
- SARAIVA, I. J. (2003).** Case study – produção de etanol. *Custos e impactes ambientais no projecto de processos químicos*. Relatório de Seminário, P. Saraiva e C. Gaudêncio (Orient.), R. Ferreira (Examin.). Departamento de Engenharia Química – Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, 20-25. <http://www.eq.uc.pt/~ines/seminario/ciappq08.html> [Acedido: 10/02/2007]
- SBRT (Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas) (2005).** *Álcool combustível, processos de fermentação*. M. H. Lopes (Téc. Resp.), C. Abreu (Cons. Téc.). Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro – REDETEC. <http://sbrt.ibict.br/upload/sbrt1094.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- SBRT (Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas) (2006).** *Fabricação de álcool a partir de beterraba, milho e/ou outros elementos*. I. Real (Téc. Resp.), C. Machado (Colab.). Rede de Tecnologia da Bahia – RETEC/BA. <http://www.sbrt.ibict.br/upload/sbrt2811.pdf> [Acedido: 10/02/2007]

Questões: As mesmas da actividade “Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos”.

Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação.

1 – Analisem com atenção o seguinte texto:

“MENOS RADICAIS LIVRES, MAIS VIDA...O CASO DA CATALASE”

Certamente já ouviram falar de radicais livres, antioxidantes...

Mas...sabem o que realmente são? Quais os malefícios dos radicais livres e o benefícios dos antioxidantes? Neste texto explica-se o que fazem e como actuam.

A capacidade dos seres vivos utilizarem oxigénio na produção de energia constitui um dos principais avanços do seu processo evolutivo (Zoppi, 2003). Em processos fisiológicos do metabolismo celular aeróbio, ao nível das mitocôndrias, o oxigénio (O_2) actua como acceptor final de electrões na cadeia respiratória (Zoppi, 2003), sofre redução tetravalente, com aceitação de quatro electrões e forma-se água (Ferreira & Matsubara, 1997). Estima-se que neste processo se utilize 95 a 98% do oxigénio total consumido pelas células, podendo a fracção restante (2 a 5%), ser usada na formação de espécies reactivas de oxigénio (ROS) (Zoppi, 2003). Em geral, as ROS formam-se utilizando electrões que escapam à cadeia mitocondrial e reduzem o oxigénio, com a formação do anião radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$) (Schriner *et al.*, 2005) que, através de outras reacções, conduz à formação de peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e de radicais hidroxilo (OH^{\cdot}) (figura 1).

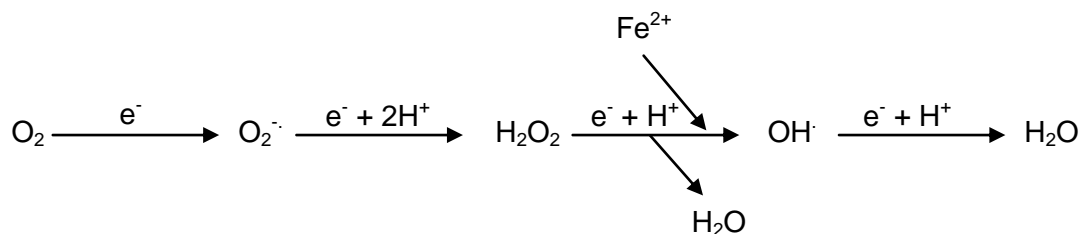


Figura 1 – Vias de formação de espécies reactivas de oxigénio. $O_2^{\cdot-}$ (anião radical superóxido); OH^{\cdot} (radical hidroxilo); H_2O_2 (peróxido de hidrogénio). De acordo com o esquema, o anião radical superóxido é o primeiro intermediário na redução do oxigénio até à água, sendo as restantes ROS formadas a partir dele. (Adaptada de Renz, 2003).

As ROS estão envolvidas em diversos processos degenerativos, quer por actuarem directamente em macromoléculas (*e.g.* proteínas), quer por conduzirem a outras reacções que geram mais radicais livres (Renz, 2003). O termo radical livre refere-se a um átomo ou molécula que contém um número impar de electrões de valência (Ferreira & Matsubara, 1997). Esta configuração faz com que os radicais livres sejam altamente instáveis e quimicamente muito reactivos (Bianchi & Antunes, 1999; Ferreira & Matsubara, 1997). Para estabilizarem a sua estrutura molecular (Zoppi, 2003), os radicais livres podem causar danos em muitas moléculas biológicas, tais como lípidos,

proteínas e DNA (Bianchi & Antunes, 1999; Zoppi, 2003) levando à morte celular. A oxidação de um ou mais aminoácidos pode romper as estruturas secundária e terciária das proteínas, resultando em alterações nas suas funções biológicas (e.g. o radical hidroxilo pode reagir com o carbono alfa de qualquer aminoácido com implicações nas proteínas) (Zoppi, 2003). Um exemplo das consequências ao nível celular da peroxidação lipídica é a oxidação dos lípidos das membranas que leva a alterações na estrutura e na permeabilidade destas (Ferreira & Matsubara, 1997; Zoppi, 2003). Ao nível do material genético poderão ocorrer modificações nas bases azotadas, levando à inactivação ou a mutações do DNA (Ferreira & Matsubara, 1997).

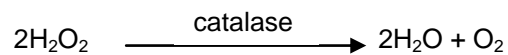
Nem todas as ROS poderão designar-se radicais livres, como acontece com o peróxido de hidrogénio que, no estado fundamental, não apresenta electrões de valência desemparelhados. Porém, o peróxido de hidrogénio é altamente tóxico para as células (Ferreira & Matsubara, 1997) porque, além de poder atravessar o invólucro nuclear e induzir danos na molécula de DNA (Bianchi & Antunes, 1999), na presença de ferro intervém na formação do radical hidroxilo (Zoppi, 2003), que é a espécie mais reactiva na indução de lesões celulares (Bianchi & Antunes, 1999; Ferreira & Matsubara, 1997; Zoppi, 2003).

Durante os processos de transferência de electrões que ocorrem no metabolismo celular a produção contínua de ROS (oxidantes) levou ao desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante (Bianchi & Antunes, 1999). O desequilíbrio entre a produção e eliminação de ROS, que se pode verificar pelo aumento da sua concentração, assim como pela diminuição da capacidade antioxidante, designa-se stress oxidativo (excesso de ROS) (Zoppi, 2003). Factores como poluição atmosférica, medicamentos, tabagismo, tipo de alimentação e consumo de álcool, podem aumentar o stress oxidativo (Bianchi & Antunes, 1999).

Os antioxidantes actuam de diferentes formas na protecção dos organismos (Bianchi & Antunes, 1999, p.125):

- “O primeiro mecanismo de defesa contra os radicais livres é impedir a sua formação, principalmente pela inibição das reacções em cadeia com o ferro [...]”.
- “Os antioxidantes são capazes de interceptar os radicais livres gerados pelo metabolismo celular ou fontes exógenas [...] evitando a formação de lesões e perda da integridade celular”.
- “Outro mecanismo de protecção é o reparo das lesões causadas pelos radicais. Esse processo está relacionado com a remoção de danos da molécula de DNA e a reconstituição das membranas celulares danificadas”.
- “Em algumas situações pode ocorrer uma adaptação do organismo em resposta à geração desses radicais com o aumento da síntese de enzimas antioxidantes”.

Os antioxidantes podem classificar-se como enzimáticos (endógenos) e não enzimáticos. Um conjunto de enzimas, como, por exemplo, superóxido dismutase (SOD), peroxidases (POX) e a catalase (CAT), constituem antioxidantes enzimáticos que reagem com moléculas oxidantes e protegem as células e tecidos do stress oxidativo (Bianchi & Antunes, 1999; Zoppi, 2003). Neste texto destaca-se o papel desempenhado pela catalase na decomposição do peróxido de hidrogénio em água e oxigénio, de acordo com a seguinte equação:



Esta enzima encontra-se nos peroxissomas existentes em células animais e vegetais e também no citoplasma de algumas bactérias. Os peroxissomas são organelos pequenos, de forma esférica ou ovóide, que participam na oxidação de substratos (na presença de oxigénio), realizando a decomposição do peróxido de hidrogénio proveniente dessas oxidações, por acção da catalase⁴⁸.

A catalase encontra-se nos tecidos animais e vegetais, sendo especialmente abundante nos órgãos de reserva das plantas, tais como no tubérculo da batateira, bolbos e partes carnudas dos frutos (Nichols & Cholewiak, 1991); encontra-se no sangue, medula óssea, mucosas, rim e fígado dos animais (Ferreira & Matsubara, 1997).

A acção da catalase pode observar-se quando se utiliza água oxigenada (peróxido de hidrogénio) na desinfecção de uma ferida. As bolhas de gás que então se observam correspondem ao oxigénio libertado na reacção de decomposição do peróxido de hidrogénio (Reinach, 2005). Apesar das ROS estarem relacionadas com o aparecimento de certas doenças, a sua acção nem sempre é nefasta, como acontece quando intervêm na defesa contra infecções (Ferreira & Matsubara, 1997). Neste caso, o peróxido de hidrogénio pode originar radicais livres (radical hidroxilo) que matam bactérias, diminuindo o risco de infecção (Reinach, 2005) – por isso usamos água oxigenada para desinfectar feridas.

A acção da catalase também pode ser observada quando se pretende remover manchas de sangue fresco com o peróxido de hidrogénio (Reinach, 2005). Quando a catalase existente nos glóbulos vermelhos está activa, o oxigénio produzido (resultante da decomposição do peróxido de hidrogénio) ataca o ferro da hemoglobina fazendo desaparecer o vermelho da mancha (*Ibid.*). No entanto este processo não funciona em manchas de sangue envelhecido, nas quais a catalase já perdeu a actividade, pois quando esta enzima não está activa a água oxigenada não é decomposta e o oxigénio não é produzido (*Ibid.*).

Dos antioxidantes não enzimáticos fazem parte as vitaminas C, E, A, e o β -caroteno, encontrados nos legumes e frutos, e os flavonóides, existentes no chá verde e, em menores concentrações, no chá preto. Deste modo, o consumo de frutas e vegetais na alimentação relaciona-se com a diminuição do risco de desenvolvimento de doenças associadas à acumulação de ROS (Bianchi & Antunes, 1999).

Os danos induzidos nas células e tecidos, devido ao stress oxidativo, têm sido relacionados com o aparecimento de diversas doenças, como a doença de Parkinson, o acidente vascular cerebral, a doença de Alzheimer, a esclerose múltipla, a artrite reumatóide e as cataratas (Ferreira & Matsubara, 1997). As ROS também desempenham um papel importante nos processos de mutagénese e carcinogénese quando causam danos no DNA (Bianchi & Antunes, 1999).

⁴⁸ <http://www.dbio.uevora.pt/jaraujo/biocel/ordem.organitosmembranares.htm> [Acedido: 10/02/2007]

Durante anos considerou-se que a formação de radicais livres a partir do peróxido de hidrogénio poderia estar relacionada com o envelhecimento, mas não havia dados concretos que o demonstrassem (Reinach, 2005). Para testar esta ideia, um grupo de cientistas investigou os efeitos do gene da catalase humana na longevidade de mamíferos. Schriener *et al.* (2005) criaram, então, ratos transgênicos nos quais inseriram, ao nível das mitocôndrias, o gene da catalase humana – sobreexpressão do gene da catalase. Sempre que o peróxido de hidrogénio era produzido nas mitocôndrias verificava-se imediatamente a sua decomposição em oxigénio e água. Para estudar os efeitos do gene da catalase, a população de ratos transgênicos foi criada nas mesmas condições dos ratos normais (grupo controlo). Os resultados obtidos mostram que os ratos transgênicos viveram em média mais 5 a 5,5 meses do que os do grupo controlo. Por outro lado, também verificaram retardamento no desenvolvimento de patologias cardíacas e no aparecimento de cataratas.

Estes resultados mostram que as ROS formadas nas mitocôndrias são um importante factor limitante na longevidade de mamíferos (Schriener *et al.*, 2005), para além de apoiarem a teoria desenvolvida por Harman, em 1956, relativamente ao envolvimento dos radicais livres no envelhecimento (Ferreira & Matsubara, 1997). Também reforçam a importância das mitocôndrias como fonte desses radicais livres (Schriener *et al.*, 2005).

Não é interessante o facto de podermos prolongar a vida se diminuirmos as possibilidades de formação, ou a concentração, de radicais livres no nosso organismo?

Referências bibliográficas

- BIANCHI, M. L. & ANTUNES, L. M. (1999).** Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Revista Nutricional*. Campinas, Maio/Agosto, 12 (2), 123-130.
<http://www.scielo.br/pdf/rn/v12n2/v12n2a01.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- FERREIRA, A. L. & MATSUBARA, L. S. (1997).** Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Revista da Associação Médica Brasileira*, 43 (1), 61-68. <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v43n1/2075.pdf> [Acedido: 10/02/2007]
- NICHOLS, B. A. & CHOLEWIAK, L. B. (1991).** A quantitative enzyme study using simple equipment. *Tested studies for laboratory teaching*. C. A. Goldman (Eds.). Proceedings of the 12th Workshop/Conference of the Association for Biology Laboratory Education, 12, 89-99.
<http://www.zoo.utoronto.ca/able/volumes/vol-12/6-nichol/6-nichol.htm> [Acedido: 10/02/2007]
- REINACH, F. (2005).** Menos radicais livres, mais vida. *Jornal da Ciência*. JC e-mail 2810, de 13 de Julho. Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência. J. M. Filho (Eds.).
<http://www.jornaldaciencia.org.br/Detailhe.jsp?id=29760> [Acedido: 10/02/2007]
- RENZ, S. V. (2003).** *Oxidação e antioxidantes*. Seminário apresentado na disciplina de Bioquímica do Tecido Animal. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1-11.
http://www6.ufrgs.br/bioquimica/posgrad/BTA/oxid_antiox.pdf [Acedido: 10/02/2007]
- SCHRINER, S. E., LINFORD, N. J., MARTIN, G. M., TREUTING, P., OGBURN, C. E., et al. (2005).** Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria. *Science* de 24 de Junho, 308, 1909-1911.
- ZOPPI, C. C. (2003).** Radicais livres, antioxidantes, estresse oxidativo e atividade física. *Diálogos Possíveis*. Faculdade Social da Baía, Julho/Dezembro, Ano 2, 1, 185-195.
<http://www.fsba.edu.br/dialogospossiveis/artigos/3/13.pdf> [Acedido: 10/02/2007]

Questões: As mesmas da actividade “Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos”.

Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação.

1 – Analisem com atenção o seguinte texto:

“CULTURA DE TECIDOS *IN VITRO* – UMA ESTRATÉGIA PARA A MULTIPLICAÇÃO DE PLANTAS EM LARGA ESCALA”

1 – Considerações gerais.

A cultura de plantas *in vitro* constitui uma ferramenta atraente para o estudo da biologia no ensino secundário, designadamente porque permite (Fevereiro & Neves, 2001): “chamar a atenção dos alunos para conceitos fundamentais, como a teoria celular, a totipotência, o controlo dos processos de diferenciação [em plantas] superiores; desenvolver experimentação, através da elaboração e teste de hipóteses; testar aptidões técnicas, como a capacidade de manusear material biológico em condições de assepsia; utilizar um modelo não animal, manuseável sem as condicionantes éticas levantadas pela utilização de animais superiores para experimentação na sala de aula” (p.9).

O termo cultura *in vitro* compreende a cultura de células, tecidos ou órgãos, em condições de assepsia num meio de cultura de composição conhecida (e.g. água, macronutrientes, micronutrientes, vitaminas, fonte de carbono e reguladores de crescimento) (Oliveira, 2000) sob condições de luz e temperatura controladas. Nestas condições, o material vegetal é capaz de crescer e dar origem a plantas com a mesma informação genética da planta-mãe – clones.

A micropropagação é uma das áreas de aplicação da cultura *in vitro* (Oliveira, 2000) e pode realizar-se através da cultura de meristemas⁴⁹ pré-existentes em gomos axilares e apicais ou ainda a partir de meristemas formados *de novo* (origem adventícia). Estes últimos podem ter origem directa quando se formam directamente partir de fragmentos de tecido que não possuem meristemas (e.g. folhas) ou origem indirecta a partir de tecido caloso ou *callus*⁵⁰. Os meristemas, atendendo ao facto de serem zonas internas não vascularizadas estão, em geral, isentos da presença de agentes contaminantes (e.g. vírus) (Pais, 2003).

Em termos gerais, a cultura *in vitro* permite propagar plantas de qualidade superior em larga escala (milhares ou mesmo biliões) sem destruir a planta-mãe, permitindo também obter plantas fáceis de transportar para outras regiões, eliminar preocupações com a introdução de novas doenças e recuperar plantas em vias de extinção (Oliveira, 2000). Atendendo a que as plantas obtidas apresentam uniformidade genética, este processo é vantajoso, para a propagação e

⁴⁹ Células indiferenciadas com capacidade de divisão contínua que asseguram o crescimento das plantas.

⁵⁰ *Callus* no singular e *calli* no plural. Massa não organizada de células indiferenciadas e diferenciadas em divisão activa, frequentemente formadas em zonas de ferimento, ou através da cultura de tecidos na presença de reguladores de crescimento. As células dos *calli* ao sofrerem diferenciação podem originar órgãos, como raízes e rebentos, ou embriões somáticos.

manutenção de variedades de elevado interesse económico (Storr, 1985). A técnica de cultura *in vitro* é também indispensável para a obtenção de plantas transgénicas, pois de nada vale transferir um gene de interesse para células vegetais, sem contudo promover a regeneração de plantas a partir das células transformadas (Salema, 1999).

A cultura de tecidos *in vitro* apresenta muitas vantagens relativamente aos métodos tradicionais de propagação, podendo enumerar-se as seguintes: as culturas são iniciadas por explantes de reduzidas dimensões, pelo que se consegue obter elevado número de plantas em espaços reduzidos; o efeito da sazonalidade pode ser minimizado; como a micropropagação é realizada em condições de assepsia são reduzidos os riscos das plantas obtidas apresentarem contaminações por agentes patogénicos. Contrariamente, plantas propagadas vegetativamente por meio de técnicas convencionais (*e.g.* enxertia), uma vez infectadas por vírus, bactérias e fungos endógenos, transmitem esses agentes patogénicos às gerações futuras, provocando uma diminuição progressiva no rendimento das culturas.

O grau de sucesso de qualquer técnica de regeneração de células vegetais implica a escolha acertada do meio de cultura. Hoje em dia, existem dezenas de meios de cultura adequados à cultura de células com determinadas características. Há meios adequados à cultura de grande número de espécies, dos quais se destaca o meio MS (Murashige & Skoog, 1962, citados em Bhalla & Weerd, 1999, p.90), contudo, para espécies mais recalcitrantes (*e.g.* lenhosas) já foram desenvolvidos outros meios, como por exemplo o meio DKW (Driver & Kuniyuki).

Os reguladores de crescimento são os componentes do meio mais críticos (Collin & Edwards, 1998), pois têm um papel activo no desenvolvimento e crescimento das plantas, condicionando o tipo de resposta de um explante (porção de tecido vegetal que vai ser submetido a cultura) *in vitro*. Os compostos sintéticos, com actividade semelhante às hormonas vegetais, são designados por reguladores de crescimento e, muitos destes, possuem uma actividade equivalente ou superior à dos reguladores de crescimento endógenos (hormonas). As auxinas e citocininas são os grupos de reguladores de crescimento mais importantes e o balanço entre elas é, normalmente, considerado como um dos principais factores no controle da regeneração de plantas *in vitro*. As auxinas e citocininas estimulam a divisão celular e controlam a diferenciação celular (Collin & Edwards, 1998). Variações nas proporções de auxinas e citocininas no meio de cultura influenciam fortemente o tipo de diferenciação celular: quando o nível de auxinas relativamente ao de citocininas é elevado formam-se raízes, já se existir maior concentração de citocininas do que de auxinas verifica-se a indução de rebentos (Conde, 1993). Por outro lado, quando as proporções destas hormonas são equivalentes, não se verifica diferenciação celular mas assiste-se à multiplicação de células da qual resulta a formação de tecido caloso (*Ibid.*). O IAA (ácido 3-indol acético) e o IBA (ácido 3-indol butírico) são auxinas de ocorrência natural. O IAA é facilmente degradado pela luz e pela oxidação enzimática, sendo adicionado ao meio de cultura, em concentrações relativamente elevadas (1 – 30 mg/L) (Dodds & Roberts, 1985). O NAA (ácido 1-naftaleno acético) e o 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) são auxinas sintéticas, com efeitos

análogos aos das auxinas naturais, utilizados com grande frequência em cultura *in vitro* (Pierik, 1987).

A cinetina (6-furfurilaminopurina) e a BAP (6-benzilaminopurina), que são compostos sintéticos, e a zeatina, de origem natural, são as citocininas mais usadas (Dodds & Roberts, 1985). Outros tipos de reguladores de crescimento, como giberelinas e ácido abscísico não são habitualmente adicionados aos meios de cultura (Collin & Edwards, 1998), embora o ácido giberélico (GA₃) seja utilizado na cultura de meristemas apicais (Dodds & Roberts, 1985) para promover alongamento.

Os explantes podem provir de diversas partes da planta, como raízes, caules e folhas (Collin & Edwards, 1998), pelo que qualquer órgão ou porção de órgão, sobretudo se for jovem, pode utilizar-se para iniciar a cultura *in vitro* (Fevereiro & Neves, 2001). A adição de agar, que confere consistência ao meio, permite evitar a asfixia dos explantes por imersão nos meios de cultura.

A necessidade de assepsia dita largamente a organização e as técnicas utilizadas em laboratório para a cultura de tecidos *in vitro*. Todos os procedimentos que envolvem assepsia devem ser realizados na câmara de fluxo laminar, a qual deve ser previamente esterilizada, através de lâmpadas de radiação ultravioleta.

A micropropagação engloba várias fases, designadamente: 1) Selecção da planta-mãe – devem seleccionar-se plantas saudáveis, ou seja, sem sinais de deficiência nutricional ou hídrica. O estado de contaminação da planta-mãe é de crucial importância, sendo as bactérias e fungos os principais agentes patogénicos que afectam a cultura de tecidos (F. Ferreira, 2001). Assim, os explantes devem ser submetidos a um processo de desinfecção antes da inoculação no meio de cultura, uma vez que “estas contaminações, muito comuns nas plantas *in vivo*, são, normalmente, devastadoras nas culturas realizadas *in vitro*” (F. Ferreira, 2001, p.11); 2) Desinfecção do material vegetal e estabelecimento *in vitro* – corresponde à colocação do explante seleccionado e desinfectado no meio de cultura. Esta fase é determinante do sucesso ou fracasso da micropropagação; 3) Multiplicação – consiste na realização de subculturas dos rebentos em novo meio para promover o crescimento e a multiplicação; 4) Enraizamento – ocorre após a formação de rebentos a partir dos explantes e requer a sua separação e introdução num novo meio de cultura que estimule a formação de raízes; 5) Transferência para o substrato de transplante e aclimatização – corresponde à transferência e adaptação das plântulas da condição *in vitro* para *ex vitro* numa estufa. A aclimatização depende da capacidade das plântulas sobreviverem o tempo suficiente para realizarem os rearranjos anatómicos e as modificações fisiológicas fundamentais para a sobrevivência e crescimento (Williams *et al.*, 1992, citados por F. Ferreira, 2001, p.20).

2 – Espécie modelo: *Brassica oleracea* var. *botrytis* L..

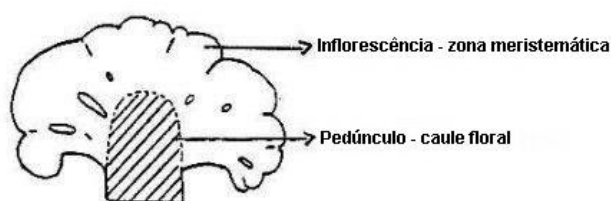


Figura 1 - Estrutura da parte floral da couve-flor.

A couve-flor, *Brassica oleracea* var. *botrytis* L., da família das *Brassicaceae*, apresenta-se sob a forma de uma inflorescência (conjunto de flores) mais ou

menos carnuda formando massas volumosas densas e muito compactas de cor branca (Coutinho, 1939) (Figura 1). A superfície externa da inflorescência corresponde a meristemas florais, os quais normalmente originam flores, mas nas condições de cultura *in vitro* podem desenvolver rebentos, sem a formação de tecido caloso (Storr, 1985). A couve-flor, planta anual que se reproduz por sementes, é importante sob o ponto de vista nutricional, pois é rica em minerais (*e.g.* potássio e cálcio), contém percentagens apreciáveis de vitamina C e baixo teor lipídico, sendo por isso recomendada numa dieta saudável.

No ensino secundário, a couve-flor é o material adequado para desenvolver trabalhos de investigação em cultura de tecidos vegetais, designadamente porque: adquire-se facilmente; é suficientemente robusta para suportar o manuseamento e resistir a desinfecções rigorosas, reduzindo-se as perdas de explantes por contaminações ou morte celular; cresce muito rapidamente (é notório após 10 dias de introdução no meio de cultura) e entre 6 a 12 semanas formam-se plântulas para a aclimatização; são necessários apenas dois tipos de meio de cultura, diferindo apenas o facto do primeiro ter reguladores de crescimento (*e.g.* citocininas ou citocininas e auxinas) relativamente ao segundo, sendo este último adequado para promover o enraizamento dos rebentos (NCBE, 1995a; Storr, 1985).

Bhalla & Weerd (1999) avaliaram a hipótese de usar diferentes tipos de explantes e diversas combinações hormonais (BAP, NAA e GA₃) para desenvolver um método eficiente de propagação de couve-flor. Testaram explantes provenientes da parte vegetativa (*e.g.* folhas, nervuras das folhas, pecíolos e caules – todos provenientes da germinação de sementes) e da parte floral (*e.g.* pedúnculo e inflorescência). Os explantes provenientes da inflorescência colocados no meio MS, com BAP (3 mg/L) e GA₃ (0,01 mg/L), evidenciaram melhores resultados (originaram maior número de rebentos). Embora isoladamente a BAP promova a formação de rebentos em explantes florais, no caso dos explantes vegetativos são necessárias conjuntamente a BAP e o NAA.

O *National Centre for Biotechnology Education* (1985) refere a utilização do meio MS e de cinetina (2,5 mg/L) para induzir a formação de rebentos a partir de explantes florais. No entanto, também sugere a adição de IAA (8 mg/L) ao meio de cultura. O efeito desta e de outras auxinas na produção de rebentos é um aspecto a ser estudado quando se pretende otimizar um meio de cultura que permita a rápida propagação de plantas. A este propósito, Kumar *et al.* (1993) referem um método rápido e simples para a regeneração completa de plantas de couve-flor. Consiste em colocar os explantes provenientes da inflorescência, em meio MS, com IAA (1 mg/L), o que permite o desenvolvimento de plantas completas em 25 dias e a sua transferência para o campo após 35 dias do início da cultura. Por outro lado, a mesma equipa verificou que o potencial de regeneração dos explantes diminui drasticamente com o aumento do tempo de armazenamento da couve-flor à temperatura ambiente, para além de oito dias após a colheita.

Referências bibliográficas

- BHALLA, P. L. & WEERD, N. (1999).** *In vitro* propagation of cauliflower, *Brassica oleracea* var. *botrytis* for hybrid seed production. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 56, 89-95.
- COLLIN, H. A. & EDWARDS, S. (1998).** *Plant cell culture*. In D. Rickwood e C. Howe (Eds.). BIOS Scientific Publishers Limited. Oxford.
- CONDE, A. P. (1993).** *Resposta de calli de girassol (Helianthus annuus L.) a radiação ultravioleta*. Estágio de Fisiologia Vegetal. Universidade de Aveiro – Departamento de Biologia. Trabalho não publicado.
- COUTINHO, A. X. (1939).** *Flora de Portugal*. R. T. Palhinha (Dirig.), 2.^a Edição. Lisboa: Bertrand, Lda.
- DODDS, J. H. & ROBERTS, L. W. (1985).** *Experiments in plant tissue culture*. Cambridge University Press, 2.^a Edição.
- FERREIRA, C. F. (2001).** *Cultura in vitro de Leucodendrum laurealum x L. patersonii cv. Sunrise: ensaios de micropropagação e análise histológica das plantas regeneradas*. Tese de mestrado (não publicada), Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade de Coimbra.
- FEVEREIRO, M. P. & NEVES, L. (2001).** *Cultura in vitro de plantas*. In H. V. Caetano, M. G. Santos (Org.). *Cadernos Didáticos de Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 1, 9-12.
http://www.ciencias-exp-no-sec.org/documentos/publicacoes_caderno_mono.pdf
[Acedido: 10/02/2007]
- KUMAR, A., KUMAR, V. A., KUMAR, J. (1993).** Rapid *in vitro* propagation of cauliflower. *Plant Science*, 90 (2), 175-178.
- NCBE (National Centre for Biotechnology Education) (1995a).** Cloned cauliflower. *Practical Biotechnology: a guide for schools and colleges*. Practical Protocols. The University of Reading, U.K.
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PRACBIOTECH/PDF/cauli.pdf>
[Acedido: 10/02/2006]
- OLIVEIRA, M. M. (2000).** Aplicações e avanços na área da biotecnologia vegetal. *Boletim de Biotecnologia*, 66, 22-27.
http://dequim.ist.utl.pt/bbio/66/pdf/Aplicacoes_e_Avancos_na%20Biotec_Vegetal.pdf
[Acedido: 22/09/2006]
- PAIS, M. S. (2003).** Biotecnologia vegetal. In N. Lima, M. Mota (Coords.). *Biotecnologia: Fundamentos e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 402-427.
- PIERIK, R. (1987).** *In vitro culture of higher plants*. Martinus Nijhoff Publishers. Dordrecht.
- SALEMA, R. (1999).** Biotecnologia vegetal: algumas técnicas e aplicações. *Boletim de Biotecnologia*, 64, 30-39. http://dequim.ist.utl.pt/bbio/64/pdf/biotecnologia_vegetal.pdf
[Acedido: 30/07/2006]
- STORR, T. (1985).** Plant tissues culture. *Experimenting with industry*, 13. Association for Science Education. National Centre for Biotechnology Education. The University of Reading, U.K.
<http://www.ncbe.reading.ac.uk/NCBE/PROTOCOLS/PDF/PTC2002.pdf>
[Acedido: 10/02/2006]

Questões: As mesmas da actividade “Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos”.

Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação.

1 – Analisem com atenção o seguinte texto:

“CONSUMO DE ALIMENTOS GENETICAMENTE MODIFICADOS E SEGURANÇA ALIMENTAR”

Actualmente, a aplicação da tecnologia do DNA recombinante às plantas para se obterem variedades transgénicas com características melhoradas constitui uma área em grande expansão (Belo *et al.*, 2001). Em 2005, 60% da produção total de rebentos de soja, 14% do milho e 28% do algodão, correspondiam a plantas geneticamente modificadas (GM) (Heldt, 2006). Por outro lado, entre 2003 e 2005, a área mundialmente atribuída para o cultivo de plantas GM aumentou 33% (*Ibid.*).

No supermercado podemos comprar diversos produtos produzidos com algum organismo geneticamente modificado (OGM): pães, doces, salgados, massas e misturas para bolos (Lajolo & Di Ciero, 2006). A utilização de enzimas produzidas por microrganismos geneticamente modificados tem aplicações na produção de queijos e leites fermentados (*e.g.* quimosina), no tratamento de carnes para as tornar mais macias (enzimas proteolíticas), no fabrico de detergentes e sabões em pó, assim como nas indústrias de papel, celulose, peles e gangas (*Ibid.*). Para segurança dos consumidores, os alimentos derivados de OGMs são submetidos a avaliações nutricionais e toxicológicas, com base em protocolos rigorosos, reconhecidos internacionalmente por instituições credíveis, como a FAO (Organização das Nações Unidas para a Agricultura e a Alimentação), OMS (Organização Mundial de Saúde), OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) e a UE (União Europeia), cujos resultados são escrutinados por especialistas (Heldt, 2006; Lajolo & Di Ciero, 2006). Nestes casos, a regulamentação é muito mais rigorosa do que a exigida na comercialização de alimentos convencionais (Heldt, 2006). Além disso, na UE é obrigatório que os ingredientes alimentares provenientes de plantas GM, se individualmente excederem o limite de 0,9%, venham descritos nos rótulos (*Ibid.*).

Segundo a OMS (2005), os alimentos derivados de OGMs, actualmente disponíveis no mercado internacional, não apresentam maiores riscos para a saúde humana do que os convencionais. Experiências com milhares de animais têm mostrado que produtos geneticamente modificados são inofensivos, não existindo evidências científicas que sustentem a diminuição da saúde ou da produtividade dos animais, após terem consumido forragem geneticamente modificada, comparativamente com a convencional equivalente (Heldt, 2006). Por outro lado, nos últimos dez anos produtos geneticamente modificados têm integrado a alimentação humana nos Estados Unidos, estimando-se que 60 a 70% dos alimentos existentes nos supermercados contenham

componentes geneticamente modificados e não rotulados (*Ibid.*). No entanto, nenhum consumidor reclamou em tribunal qualquer compensação pelos eventuais danos provocados pelo consumo de produtos geneticamente modificados, o que poderá ser encarado como mais uma evidência da eficácia dos testes efectuados e da segurança destes alimentos (*Ibid.*).

Exemplos de questões que frequentemente se colocam quando abordamos os riscos para a saúde humana do consumo de alimentos derivados de OGMs:

- Em termos de saúde humana, os efeitos do consumo de DNA transgénico serão adversos? O DNA transgénico sobreviverá ao sistema digestivo incorporando-se nas células humanas alterando a sua informação genética?
- O DNA transgénico poderá afectar a microflora intestinal e constituir um risco para a saúde humana?
- Se os animais forem alimentados com rações derivadas de OGMs, quais os riscos do consumo por humanos de produtos derivados deles?
- O consumo de alimentos derivados de OGMs aumentará os riscos de alergias?
- Qual a toxicidade de alimentos derivados de OGMs?

Todos os dias ingerimos DNA, o qual é um componente dos alimentos (por exemplo, frutas, legumes, cereais e carne) natural e inofensivo (FSANZ, 2005). A extracção de DNA proposta em manuais escolares é frequentemente exemplificada com procedimentos simples utilizando legumes (*e.g.* cebola) e frutos (*e.g.* kiwi). No entanto, dados de laboratório sugerem que se podem obter melhores resultados (*e.g.* visualização de bandas nítidas após electroforese) utilizando cereais (*e.g.* gérmen de trigo) (Gabriel, 2006, resultados não publicados). Para melhor visualização das bandas de DNA num gel de electroforese recomenda-se também a utilização de reagentes que eliminam contaminantes do DNA (*e.g.* proteínas).

A introdução de plantas GM nas cadeias alimentares reacendeu o interesse quanto ao destino do DNA no sistema digestivo (OCDE, 2003). Em média, consumimos diariamente entre 0,1-1g de DNA na alimentação, de que apenas uma parte será DNA transgénico (1/100.000-1/1.000.000) caso o alimento seja derivado de uma planta GM (Heldt, 2006). A eficiência da degradação digestiva do DNA em humanos e animais é evidenciada pela longa história do seu consumo seguro pelos mamíferos (Lajolo & Di Ciero, 2006). No sistema digestivo, a digestão do DNA transgénico não difere do DNA de alimentos convencionais (FSANZ, 2005; Heldt, 2006; Lajolo & Di Ciero, 2006). Durante a digestão, processos químicos envolvendo os sucos gástrico e intestinal, juntamente com os movimentos peristálticos, transformam compostos macromoleculares, como o DNA, nas suas subunidades estruturais, o mesmo acontecendo às proteínas expressas pelos transgenes⁵¹ (Lajolo & Di Ciero, 2006). Apesar do DNA, transgénico ou não, degradar-se no sistema digestivo, este processo pode não ser completo (Heldt, 2006). Quantidades limitadas de fragmentos de DNA provenientes de alimentos têm sido encontrados no sangue e noutras células do corpo de animais, o mesmo podendo acontecer nos seres humanos (*Ibid.*). Contudo,

⁵¹ Genes exógenos responsáveis pelas novas características (Lajolo & Di Ciero, 2006). A inserção do transgene com sucesso no genoma de uma célula vegetal confere a designação de transgénica à planta resultante (Belo *et al.*, 2001).

atendendo a que a integração do DNA de plantas no genoma animal nunca ter sido observado e que existem barreiras impeditivas desta transferência horizontal de genes⁵², estes fragmentos de DNA não têm efeitos no genoma humano (*Ibid.*). Deste modo, quando ingerimos DNA de alimentos geneticamente modificados ou proveniente de alimentos convencionais não modificamos o nosso próprio DNA (FSANZ, 2005).

Netherwood *et al.* em 2004 (citados em Lajolo & Di Ciero, 2006, p.4), avaliaram a persistência de DNA transgénico vegetal no sistema digestivo humano, tendo verificado que uma pequena porção do transgene de soja GM, assim como o DNA de soja não GM, sobrevivem à passagem do sistema digestivo superior (estômago e duodeno), sendo, no entanto, completamente degradado no intestino. Apesar de se terem encontrado evidências de transferência de genes entre a soja GM e as bactérias do intestino grosso, não há dados de que o transgene completo tenha sido transferido; por outro lado, a quantidade de bactérias que contém o transgene, ou parte dele, representa uma percentagem reduzida da população bacteriana.

Na produção de plantas transgénicas pode seleccionar-se, do conjunto maioritário de células não transformadas, aquelas em cujo genoma foi integrado um transgene (Belo *et al.*, 2001). Tal é conseguido através da inclusão junto do transgene de um gene marcador de selecção, por exemplo, um gene que confere resistência a antibióticos (Belo *et al.*, 2001; FSANZ, 2005; Heldt, 2006; Lajolo & Di Ciero, 2006). A utilização de genes marcadores tem suscitado preocupações receando-se principalmente a transferência dos genes de resistência a antibióticos para as bactérias intestinais nos humanos, e com isto, torná-las resistentes a antibióticos (*Ibid.*). Na maioria dos casos, os genes marcadores utilizados conferem resistência aos antibióticos canamicina e neomicina, os quais devido à elevada toxicidade, são pouco utilizados em medicina humana, restringindo-se ao uso externo (Heldt, 2006). Apesar de não existirem provas científicas que apoiem tal possibilidade de transferência, parecendo tratar-se de hipóteses remotas (Belo *et al.*, 2001), actualmente, com os avanços nas técnicas de transformação genética, os genes de resistência a antibióticos não aparecem nos alimentos geneticamente modificados, porque são removidos do genoma vegetal após o processo de selecção, ou porque são substituídos por outro tipo de gene marcador (FSANZ, 2005).

Diversos trabalhos científicos, recentemente publicados, referem a possibilidade do DNA transgénico ser transferido para a carne ou vísceras de diversos animais (*e.g.* porco, boi, carneiro e aves) alimentados com rações contendo OGMs (Lajolo & Di Ciero, 2006). Phipps *et al.* (2003) estudaram o destino do DNA transgénico em bezerros alimentados com rações contendo soja GM e milho resistente a insectos (Bt), tendo detectado transgenes em amostras sólidas encontradas no rúmen e no duodeno; no entanto, em amostras líquidas destes órgãos não detectaram transgenes, o que evidencia a rápida degradação do DNA nestes ambientes. Por outro lado, não

⁵² É a transferência de material genético entre células ou genomas pertencentes a espécies sem nenhum parentesco. No processo usual de reprodução são transferidos genes verticalmente de pais para seus descendentes e tal processo somente pode ocorrer entre organismos da mesma espécie ou extremamente próximos.
<http://www.ecoterra-bio.com.br> [Acedido: 10/02/2007]

detectaram transgenes nas fezes, o que, mais um vez, reforça a extensa degradação do DNA no sistema digestivo. Também não foram detectados transgenes no sangue e no leite dos animais.

Mais recentemente, Aeschbacher *et al.* em 2005 (citados em Lajolo & Di Ciero, 2006, p.5) realizaram um trabalho semelhante, mas com frangos alimentados com milho Bt, não tendo encontrado nenhum fragmento do transgene em tecidos musculares, fígado, baço, carne e ovos.

Segundo o relatório da OCDE (2003) intitulado “*Considerations for the safety assessment of animal feedstuffs derived from genetically modified plants*”, a utilização de plantas GM na alimentação de gado e aves domésticas não afecta o valor nutricional ou a segurança da carne, leite e ovos destes animais. O mesmo relatório refere que fragmentos de DNA de plantas foram detectados em tecidos animais e em diversos produtos, incluindo o leite, mas não nos ovos. Em diversos estudos foram detectados fragmentos de DNA transgénico em vários produtos animais, no entanto, até à data, nenhum transgene (ou a proteína resultante da sua expressão) foi detectado nesses produtos (*Ibid.*). De facto, a possibilidade de incorporação de DNA intacto e funcional (ou proteínas) em produtos animais é extremamente remota e não há evidências que mostrem que o DNA transgénico possua riscos diferentes do DNA de alimentos convencionais (*Ibid.*).

Sendo improvável a passagem do transgene funcional quando o homem se alimenta directamente do alimento GM, é ainda menor a probabilidade de haver riscos para a saúde humana por via da ingestão de carne, leite e outros produtos derivados de animais alimentados com rações GM (Lajolo & Di Ciero, 2006).

Estimativas sugerem que 5 a 8% das crianças e 1 a 2% dos adultos são alérgicos a determinados alimentos convencionais (Heldt, 2006), sendo as alergias mais comuns ao leite de vaca, ovos, crustáceos, amendoins, rebentos de soja e trigo (FSANZ, 2005). A produção de alimentos geneticamente modificados tem suscitado preocupações relativamente ao potencial alergénico das novas proteínas existentes nos alimentos. Num estudo realizado em Portugal (Batista *et al.*, 2005) foi testado o potencial alergénico de cinco alimentos transgénicos comercializados na UE, quatro tipos de milho e um tipo de soja. Os resultados mostram que a reacção dos indivíduos submetidos aos testes com amostras transgénicas foi semelhante ao das não transgénicas, concluindo-se que os produtos testados são seguros em termos de potencial alergénico. Mais recentemente, Heldt (2006) revela que, até à data, nenhum produto alergénico proveniente de alimentos geneticamente modificados foi introduzido no mercado, pois enquanto legalmente não são exigidos testes de alergenicidade nos alimentos provenientes de variedades convencionais, os alimentos geneticamente modificados são submetidos a testes rigorosos.

Diferentes toxinas são encontradas naturalmente em diversos alimentos, no entanto, a maioria encontra-se em concentrações muito menores que as prejudiciais aos consumidores (FSANZ, 2005). Nos alimentos geneticamente modificados fazem-se testes às novas proteínas para avaliar a sua toxicidade antes da comercialização (*Ibid.*).

O milho convencional é frequentemente infectado pelo fungo *Fusarium moniliforme* produtor de uma toxina designada fumosina (Heldt, 2006). Durante mais de um século a “doença do milho

bolorento” constituiu perigo para cavalos, porcos e outros animais, dizimando-os após o respectivo consumo. Há 16 anos identificou-se a fumosina como a causa de morte dos animais, sendo também conhecida, por provocar cancro no fígado de ratos. A fumosina sobrevive ao processamento dos alimentos, podendo ser encontrada em flocos de milho, constituindo a sua estabilidade um sério problema. Em Setembro de 2003, no Reino Unido, analisaram-se 30 amostras de produtos com milho, tendo 10 sido retirados do mercado devido aos elevados níveis de fumosina. No entanto, os alimentos contaminados apresentavam um rótulo de produtos biológicos (*Ibid.*). Diversos estudos mostram que, dado o fungo proliferar nas espigas feridas pelas picadas de insectos em produções convencionais, a presença de fumosina é menor no milho GM resistente a insectos (Heldt, 2006). Como no milho GM os danos causados pelos insectos são menores, produz-se menos fumosina, sugerindo que alimentos provenientes de milho GM sejam mais saudáveis para humanos do que variedades convencionais (*Ibid.*).

Recentemente um grupo de cientistas franceses, através de um estudo independente, revela toxicidade perigosa para a saúde humana de uma variedade de milho transgénico (MON 836), em circulação na União Europeia. Este estudo divulgado pela Revista *Perspectiva* (Laranjeira, 2007), sob o título “*Milho transgénico para consumo humano declarado tóxico*”, refere que ratos alimentados durante três meses com este milho transgénico sofreram danos renais e hepáticos, assim como alterações no crescimento. Mundialmente o potencial perigo do consumo desta variedade de milho tem sido divulgado pela *Greenpeace*, e em Portugal, pela *Plataforma Transgénicos Fora*⁵³, que pede a retirada imediata do mercado de todos os produtos derivados do milho MON 836, assim como a reavaliação das restantes variedades de transgénicos autorizadas na EU (*Ibid.*).

Referências bibliográficas

- BATISTA, R., NUNES, B., CARMO, M., CARDOSO, C., JOSÉ, H. S. et al. (2005).** Lack of detectable allergenicity of transgenic maize and soya samples. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 116(2), 403-410.
- BELO, J. A., VIEIRA, P., SOTTOMAYOR, M. (2001).** Organismos (eucariotas) geneticamente modificados. In A. Videira (Coord.). *Engenharia Genética – Princípios e Aplicações*. Lisboa: Lidel – Edições Técnicas, Lda, 115-154.
- FSANZ (Food Standards Australia New Zealand) (2005).** *GM foods - safety assessment of genetically modified foods*. Food Standards Australia New Zealand.
http://www.foodstandards.gov.au/srcfiles/GM%20Foods_text_pp_final.pdf
[Acedido: 10/02/2007]
- HELDT, HANS-WALTER (Coord.) (2006).** *Are there health hazards for the consumer from eating genetically modified food?*. Union of the German Academies of Science and Humanities. Commission Green Biotechnology. InterAcademy Panel Initiative on Genetically Modified Organisms. Group of the International Workshop Berlin 2006.
<http://www.interacademies.net/Object.File/Master/6/749/GMGeneFood.pdf>
[Acedido: 10/02/2007]
- LAJOLO, F. M. & DI CIERO, L. (2006).** Segurança alimentar de produtos alimentícios derivados de animais alimentados com OGMs. *International Life Sciences Institute Brasil – Notícias*, Ano 14, 1, Janeiro a Março, 3-6.

⁵³ <http://stopogm.net/> [Acedido: 10/02/2007]

- LARANJEIRA, P. (2007).** Milho transgénico para consumo humano declarado tóxico. Revista *Perspectiva*. Distribuição gratuita com o jornal *Público* de 31 de Março, 1, Abril, p.8.
- OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Económico) (2003).** *Considerations for the safety assessment of animal feedstuffs derived from genetically modified plants*. OCDE Environmental Health and Safety Publications. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, 9, ENV/JM/MONO(2003)10.
[http://www.oalis.oecd.org/oalis/2003doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono\(2003\)10](http://www.oalis.oecd.org/oalis/2003doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono(2003)10)
[Acedido: 10/02/2007]
- OMS (Organização Mundial de Saúde) (2005).** *Modern food biotechnology, human health and development: an evidence-based study*. Department of Food Safety, Zoonoses and Foodborne Diseases. http://www.who.int/foodsafety/publications/biotech/biotech_en.pdf
[Acedido: 10/02/2007]
- PHIPPS, R. H., DEAVILLE, E. R., MADDISON, B. C. (2003).** Detection of transgenic and endogenous plant DNA in rumen fluid, duodenal digesta, milk, blood, and feces of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86(12), 4070-4078.

Questões: As mesmas da actividade “Bactérias do solo: produção e resistência a antibióticos”.

Actividade 4 – Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.

Questão de investigação:

Introdução:

O trabalho prático, designadamente com componentes laboratoriais e/ou experimentais, a desenvolver na procura de resposta(s) à questão de investigação previamente formulada/seleccionada, deverá permitir conhecer melhor algumas características das bactérias do solo, sobretudo no que diz respeito à capacidade de algumas produzirem substâncias antimicrobianas – antibióticos. Nesta actividade, apresentam-se questões para reflexão (também adequadas a percursos investigativos a desenvolver por alunos) que, certamente, ajudarão a definir o(s) procedimento(s) a realizar em percursos investigativos a desenvolver utilizando bactérias do solo.

Questões:

1 – Todos os microrganismos, principalmente aqueles que desconhecemos, devem ser tratados como potencialmente patogénicos, pelo que se devem tomar precauções durante o seu manuseamento. Deste modo, devem utilizar-se técnicas que permitam evitar quaisquer contaminações microbianas não desejadas, quer pessoais, quer do ambiente de trabalho e do material utilizado, assim como das culturas de microrganismos que pretendemos estudar. Identifiquem a técnica.

2 – A partir da técnica anteriormente referida, indiquem alguns cuidados a ter no laboratório (e.g. bancada de trabalho, materiais a utilizar).

- 3 – Indiquem como devem realizar os procedimentos apresentados na figura 1 de modo a não contaminar os meios de cultura com microrganismos indesejáveis.



Figura 1

- 4 – Tendo em consideração a elevada abundância de microrganismos por grama de solo, qual o procedimento a adoptar para, em meio de cultura sólido, obterem colónias isoladas? Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Centrifugação da amostra de solo.
- Diluições sucessivas da amostra de solo.
- Precipitação da amostra de solo.

- 5 – Quando se pretende saber se as bactérias de uma colónia são, ou não, produtoras de antibióticos, utilizam-se microrganismos indicadores (e.g. *Micrococcus luteus*). Qual deve ser o grau de sensibilidade/resistência aos antibióticos destes microrganismos indicadores? Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Sensível a diversos antibióticos.
- Resistente a diversos antibióticos.

- 6 – Na figura 2 estão representadas a preto duas estirpes de bactérias isoladas de um solo, em que apenas uma é produtora de antibióticos. Tendo em consideração a resposta à questão anterior, esquematizem o resultado que esperaríamos obter após a incubação.

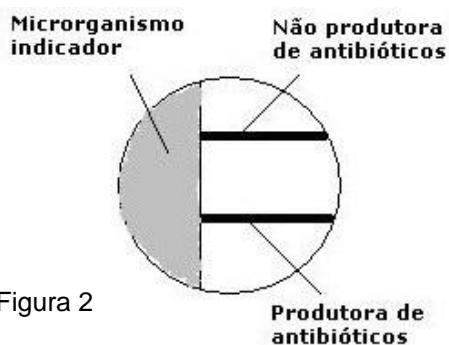


Figura 2

Produtora de antibióticos

Actividade 4 – Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.

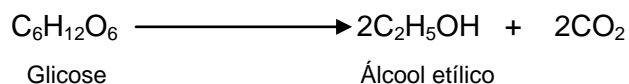
Questão de investigação:

Introdução:

O trabalho prático, designadamente com componentes laboratoriais e/ou experimentais, a desenvolver na procura de resposta(s) à questão de investigação previamente formulada/seleccionada, deverá permitir conhecer melhor o processo de fermentação alcoólica, sobretudo os factores que afectam a rapidez da reacção de fermentação. Nesta actividade, apresentam-se questões para reflexão (também adequadas a percursos investigativos a desenvolver por alunos) que, certamente, ajudarão a definir o(s) procedimento(s) a realizar em percursos investigativos a desenvolver utilizando leveduras (e.g. *Saccharomyces cerevisiae*).

Questões:

1 – A enzima zimase produzida pelas leveduras catalisa a fermentação alcoólica de acordo com a seguinte equação:



Indiquem que parâmetros medir para avaliar quantitativamente a rapidez da fermentação?

2 – Indiquem processos de identificação dos produtos de reacção da fermentação alcoólica.

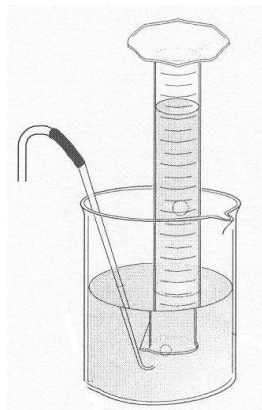
3 – Indiquem como identificar a presença de dióxido de carbono.

4 – A montagem do sistema para fermentação alcoólica deve fazer-se de modo que o processo ocorra em:

- Aerobiose.
- Anaerobiose.

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

5 – Na figura a seguir representa-se uma montagem para quantificar o volume de dióxido de carbono produzido durante a fermentação alcoólica.



5.1 – Para minimizar os erros de quantificação do volume, o dióxido de carbono produzido durante a fermentação alcoólica deve fluir, no estado gasoso, através da solução aquosa existente na proveta invertida. Para tal, a composição desta solução deve ser tal que dificulte interações entre moléculas daquele produto gasoso e moléculas de água. Com base nestes pressupostos, identifiquem o tipo de solução.

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Solução diluída de um dado soluto.
- Solução saturada de um dado soluto.

5.2 – Que soluto, acessível e barato, preencherá os requisitos pretendidos? Porquê?

5.3 – O que pensam acontecer à solução existente no interior da proveta invertida durante a fermentação alcoólica? Justifiquem a resposta.

Actividade 4 – Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.

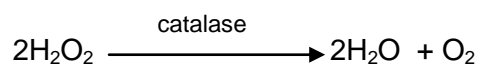
Questão de investigação:

Introdução:

O trabalho prático, designadamente com componentes laboratoriais e/ou experimentais, a desenvolver na procura de resposta(s) à questão de investigação previamente formulada/seleccionada, deverá permitir conhecer factores que influenciam a actividade da catalase e a importância desta enzima. Nesta actividade, apresentam-se questões para reflexão (também adequadas a percursos investigativos a desenvolver por alunos) que, certamente, ajudarão a definir o(s) procedimento(s) a realizar em percursos investigativos a desenvolver com esta enzima.

Questões:

1 – A catalase é responsável pela decomposição do peróxido de hidrogénio, que se forma nas células durante o metabolismo celular, de acordo com a seguinte equação:



Qual a função desempenhada pelo peróxido de hidrogénio?

2 – Que processos físicos poderão ser utilizados para extrair catalase de um tecido?

Assinalem a resposta colocando X nas opções correctas.

- Maceração.
- Filtração.
- Precipitação.

3 – Qual o procedimento adequado para preservar a catalase durante o processo de extracção? Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Adicionar um inibidor enzimático.
- Adicionar gelo.
- Adicionar um ácido.
- Adicionar uma base.

- 4 – Na figura a seguir representa-se um disco de papel de filtro que foi mergulhado numa solução de catalase e em seguida colocado no fundo de um tubo de ensaio com peróxido de hidrogénio.

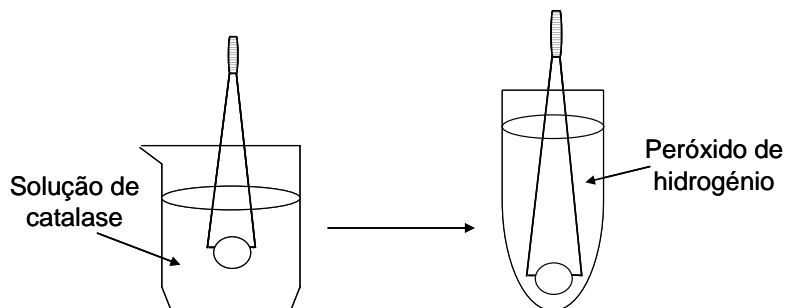


Figura 1

O que acontecerá ao disco de papel de filtro? Justifiquem a resposta.

- 5 – Para determinar a actividade da catalase calcula-se a velocidade da reacção. Como variará a velocidade da reacção em função do tempo?

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- A velocidade da reacção é directamente proporcional ao tempo.
 A velocidade da reacção é inversamente proporcional ao tempo.
 O tempo não interfere na velocidade da reacção.

Actividade 4 – Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.

Questão de investigação:

Introdução:

O trabalho prático, designadamente com componentes laboratoriais e/ou experimentais, a desenvolver na procura de resposta(s) à questão de investigação previamente formulada/seleccionada, deverá permitir conhecer melhor a técnica da cultura de tecidos *in vitro*, sobretudo no que diz respeito ao papel dos reguladores de crescimento – auxinas e citocininas. Nesta actividade, apresentam-se questões para reflexão (também adequadas a percursos investigativos a desenvolver por alunos) que, certamente, ajudarão a definir o(s) procedimento(s) a realizar em percursos investigativos a desenvolver quando se pretende otimizar um meio de cultura adequado à rápida propagação de plantas.

Questões:

1 – A necessidade de assepsia dita largamente a organização e as técnicas utilizadas em laboratório para cultura de tecidos. Indiquem os cuidados a ter no laboratório relativamente aos materiais a utilizar, bem como durante o manuseamento na câmara de assepsia.

2 – Os explantes na condição *in vitro* passam de uma condição autotrófica para heterotrófica, sendo necessário adicionar aos meios de cultura uma fonte de carbono. Indiquem uma dessas fontes que possa adicionar-se ao meio de cultura.

3 – O meio de cultura deve encontrar-se em condições de assepsia. Indiquem o procedimento a adoptar após a adição de todos os componentes necessários.

4 – Na selecção do material vegetal para preparar explantes, qual será a parte da couve-flor mais indicada para este efeito? Justifiquem.

5 – O material vegetal deve ser desinfectado (para matar/remover bactérias e fungos) antes de ser introduzido no meio de cultura. Indiquem alguns exemplos de desinfectantes de uso doméstico que possam para tal utilizar-se.

6 – A utilização de desinfectantes requer posteriores lavagens dos explantes com água. Refiram características que a água de lavagem deve apresentar.

Actividade 4 – Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.

Questão de investigação:

Introdução:

O trabalho prático, designadamente com componentes laboratoriais e/ou experimentais, a desenvolver na procura de resposta(s) à questão de investigação previamente formulada/seleccionada, deverá permitir conhecer processos e/ou reagentes necessários à extracção de DNA. Nesta actividade, apresentam-se questões para reflexão (também adequadas a percursos investigativos a desenvolver por alunos) que, certamente, ajudarão a definir o(s) procedimento(s) a realizar em percursos investigativos a desenvolver utilizando DNA.

Questões:

1 – Observem com atenção as células eucarióticas representadas na figura 1.

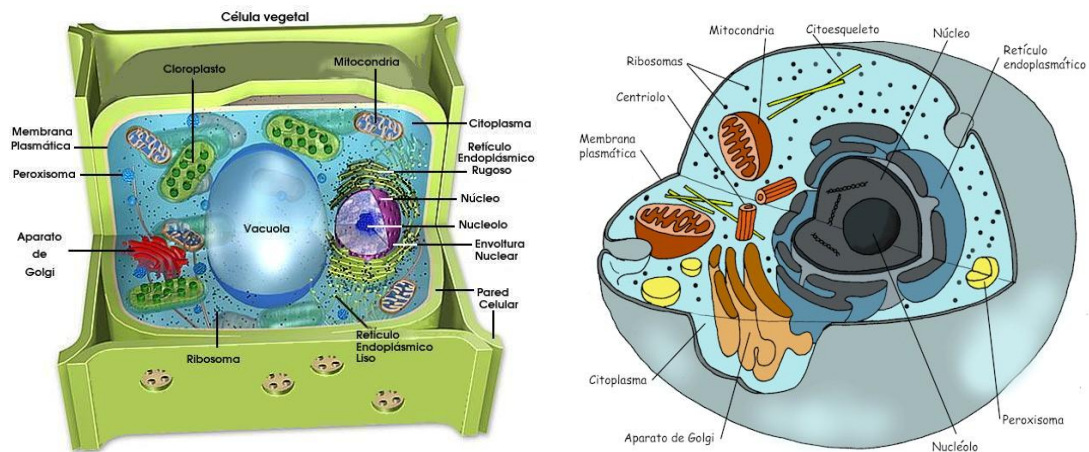


Figura 1

1.1 – Tendo em consideração a estrutura das células eucarióticas indiquem as barreiras físicas que devem destruir-se para libertar o DNA do núcleo.

1.2 – Para destruir as barreiras físicas anteriormente referidas, indiquem o(s) processo(s) a utilizar.

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Acção química.
- Acção mecânica.
- Acção química e mecânica.

2 – A figura 2 representa a desagregação da membrana celular nos seus componentes estruturais através da adição do reagente X.

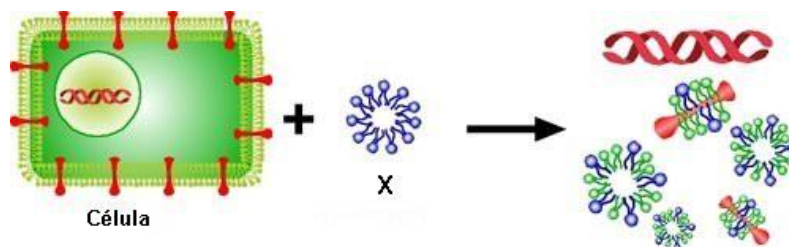


Figura 2

Tendo em consideração a natureza química das membranas celulares e relacionando a referida desagregação com processos utilizados no dia-a-dia para remoção de gordura (e.g. lavagens de louça ou roupa), identifiquem o reagente X.

3 – Na solução de extracção de DNA, para além da utilização do reagente referido na questão anterior, adiciona-se sal de cozinha (NaCl). Tendo em conta a carga eléctrica negativa do DNA (devido à ionização dos grupos fosfato existentes no esqueleto pentose-fosfato), qual será a função do sal?

4 – O DNA pode degradar-se pela acção de enzimas (Desoxirribonucleases – DNAses) presentes nas células. Baseando-se nos factores que afectam a actividade enzimática refiram um que, inactivando ou desnaturando estas enzimas, impeça a degradação do DNA.

5 – Na solução que contém o DNA, que processo consideram adequado para separar os restos (celulares) do extracto celular?

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Maceração.
- Precipitação.
- Filtração.
- Outro. Qual? _____

6 – Para que o DNA extraído seja o mais puro possível, devem remover-se proteínas contaminantes, adicionando enzimas. Indiquem que tipo de enzimas devem adicionar-se à solução de DNA.

7 – Após a libertação do DNA das células, como pensam poder separá-lo da mistura de extracção relativamente aos restantes componentes celulares?

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Adicionar um líquido onde o DNA é solúvel.
- Adicionar um líquido onde o DNA é insolúvel.

8 – Após o procedimento anterior, qual o processo adequado para recolher o DNA, para o utilizar em trabalhos posteriores?

Assinalem a resposta colocando X na opção correcta.

- Centrifugação.
- Precipitação.
- Filtração.
- Outro. Qual? _____

9 – Numa extracção de DNA bem sucedida, o que esperam observar num gel de electroforese, após a aplicação de um campo eléctrico à amostra introduzida num dos poços do gel?

Actividade 5 – Planificação de actividades práticas pelos professores-formandos, tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.

Questão de investigação:

1 – Preencham a seguinte tabela referente aos materiais, equipamentos e reagentes necessários ao desenvolvimento da actividade prática.

Material de laboratório	Equipamentos
Reagentes	Material biológico

- 2** – Escolham as variáveis a seleccionar, durante a realização do(s) procedimento(s), recorrendo, se necessário, a informação disponível no documento:

PEDROSA, M. A. & MENDES, P. (2006). Formação contínua de professores de ciências, construção de conhecimento científico e educação para a sustentabilidade. *XIX CONGRESSO ENCIGA (Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia)*. Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro. <http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 10/02/2007]

Sintetizem as decisões que tomarem escrevendo-as na tabela:

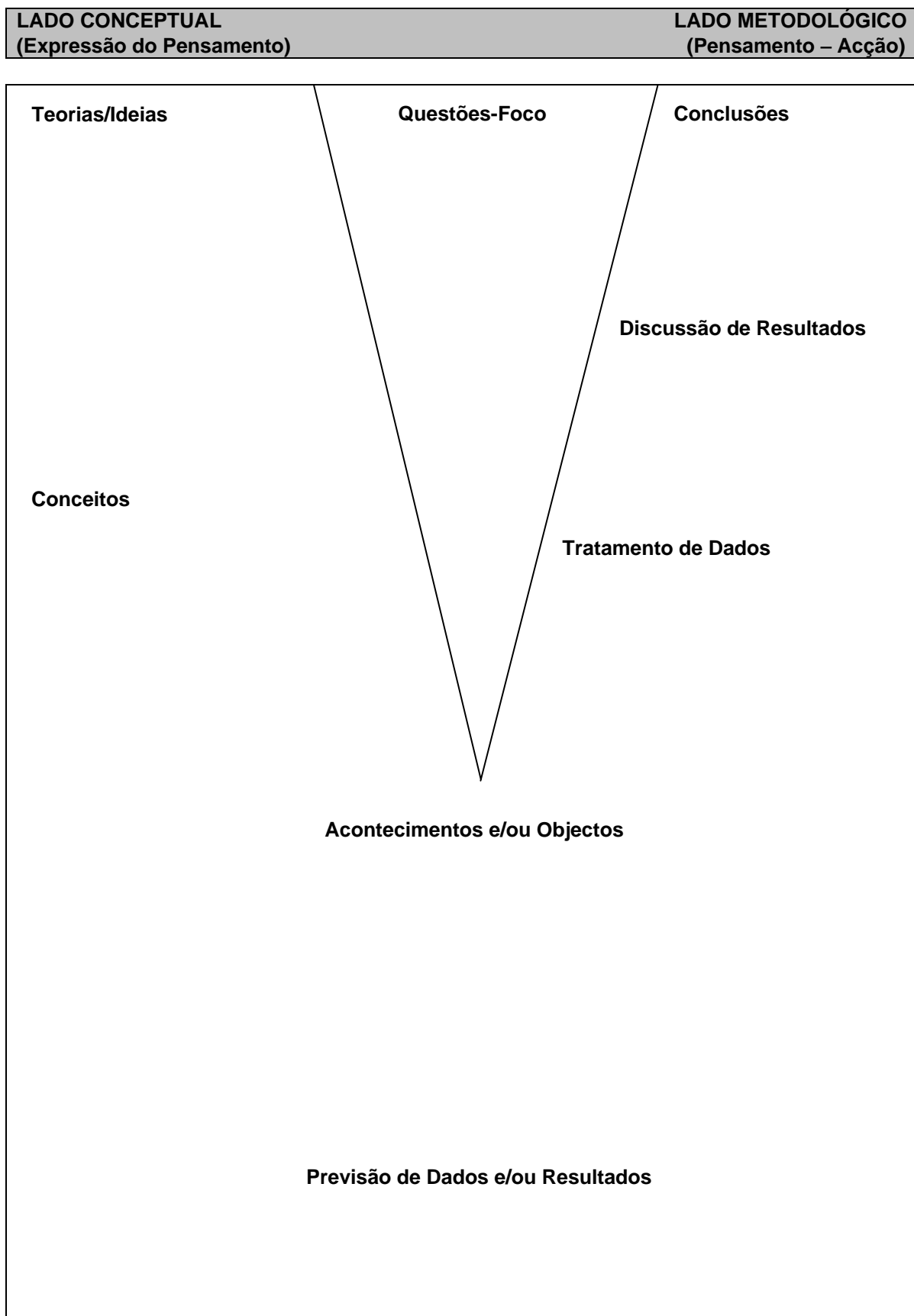
Variável independente – o que vou fazer variar:	Variável dependente – o que vou medir/observar:
Variáveis de controlo – o que vou manter constante:	

- 3** – Indiquem cuidados a ter na realização do(s) procedimento(s) que considerem particularmente importantes.

- 4** – Quais os registos e observações a fazer no caderno de laboratório durante e/ou após a realização do(s) procedimento(s)?

5 – Apresentem o(s) procedimento(s) a realizar e/ou referências bibliográficas onde se possam encontrar:

VÊ DE GOWIN



Documento de Apoio – Guião de percursos investigativos.

Para auxiliar a realização de percursos investigativos, apresenta-se um guião que sintetiza as orientações a ter em consideração na planificação e desenvolvimento dos trabalhos, no formato de Vê de Gowin (também designado Vê heurístico ou Vê do conhecimento). Assim, apresentam-se os principais aspectos, considerados úteis no planeamento de investigações, com os quais também se pretende estimular a discussão sobre significados, interesse e valor dos percursos investigativos a desenvolver. Uma vez realizadas as actividades laboratoriais e experimentais, os aspectos referidos no quadro que se segue devem integrar-se no Vê de Gowin, para que possa constituir uma peça central do relatório do percurso investigativo desenvolvido.

Guião para planificar percursos investigativos⁵⁴

Zona do Vê de Gowin	Aspectos a desenvolver na planificação de percursos investigativos	
Questões-foco	O problema	Qual o problema ou a questão a investigar que está subjacente à actividade a realizar? Devem centrar aqui cuidado e esforço máximos.
Teorias/Ideias	Conhecimentos Hipóteses	É importante compreender que existem fundamentos teóricos que operam na explicação dos acontecimentos e na previsão de resultados. Neste parâmetro concentra-se o conhecimento científico necessário à formulação de hipóteses/previsões, planificação de actividades práticas e interpretação de resultados. Os conhecimentos devem ser apresentados de forma clara, sucinta, com frases simples, rigorosas e usando palavras-chave. Zona de registo para formulação de hipóteses. As hipóteses são afirmações que se tentam provar ou negar.
Conceitos	Conceitos prévios	Refere-se à lista de termos dos quais é necessário saber os significados para compreender o problema e os conhecimentos em que se baseia a investigação.

⁵⁴ Durante o desenvolvimento de percursos investigativos, podem ser redefinidas e reformuladas as etapas que considerarem imprescindíveis ou importantes, de que decorrerão outros planos de investigação e sua execução, se necessário (Pedrosa, 2000).

		Os conceitos deverão organizar-se em mapas de conceitos e apresentar-se em documento anexo ao Vê de Gowin.
Acontecimentos e/ou Objectos	Procedimentos Controlo de variáveis	Descrição dos acontecimentos e/ou objectos a serem estudados, de modo a responder à questão-foco. Que actividades laboratoriais e experimentais prevêem necessárias para darem resposta ao problema formulado? Que factores vão fazer variar nos ensaios? Que factores vão manter constantes nos ensaios? Os materiais e equipamentos, assim como os procedimentos a realizar, deverão apresentar-se em documento anexo ao Vê de Gowin.
Previsão de Dados e/ou Resultados	Pressupostos	Quais são os pressupostos em que se baseiam os ensaios que se propõem realizar? Que previsões poderão formular relativamente aos dados a recolher e/ou resultados a obter?
Tratamento de Dados	Observações e dados recolhidos. Transformações dos dados.	O registo das observações e dados recolhidos em bruto, sem ainda serem trabalhados, devem efectuar-se no caderno de laboratório. Explicitação de dados na forma de tabelas, gráficos ou outras formas de organização e tratamento dos registos efectuados.
Discussão de Resultados	Interpretação de resultados e comparação destes com as previsões.	Discussão dos resultados, sua interpretação e confronto entre as previsões formuladas e os resultados obtidos.
Conclusões	Análise crítica dos procedimentos seguidos e das metodologias adoptadas. Conclusão e discussão da investigação.	Qual a resposta, ou respostas, à questão-foco? Quais os pontos fracos e fortes do trabalho desenvolvido? Que outras formas de investigação sugerem para o mesmo problema? Que outras questões-foco poderão então formular-se?

(Baseado em Oliveira & Pinheiro, 2002)

RESUMO DAS SESSÕES DE FORMAÇÃO

Resumo da 1ª sessão de formação.

Sessão: 1ª	Data: 05/03/2007	Duração: 2 horas
ASSUNTO: Apresentação.		
OBJECTIVOS:		
<ul style="list-style-type: none"> • Apresentação do programa da OF relativamente aos seguintes aspectos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ objectivos; ⇒ conteúdos; ⇒ tipos de sessões previstas; ⇒ metodologias preconizadas; ⇒ regime de avaliação dos professores-formandos; ⇒ calendarização das sessões. • Recolher dados dos professores-formandos através do preenchimento de documentos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ <i>Fichas Individuais dos Professores-Formandos</i> para caracterização pessoal e profissional. • Assinatura da <i>Declaração de Aceitação de Colaboração na Investigação</i>. 		
RESUMO DA SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> • Apresentação da investigadora-formadora e dos professores-formandos. • Apresentação do trabalho a desenvolver durante a OF. • Preenchimento de documentos. • Apresentação pela investigadora-formadora (em <i>PowerPoint®</i>) – “<i>Enquadramento da Oficina de Formação no âmbito dos actuais currícula do ensino secundário</i>”. 		
MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> ⇒ <i>Fichas Individuais dos Professores-Formandos</i>. ⇒ <i>Declaração de Aceitação de Colaboração na Investigação</i>. 		

Resumo da 2ª sessão de formação.

Sessão: 2ª	Data: 08/03/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Questionário de Diagnóstico.		
OBJECTIVOS:		
<ul style="list-style-type: none"> • Recolher dados dos professores-formandos sobre o seu modo de pensar e agir no que se refere à implementação de trabalho prático através do preenchimento de um questionário. • Construção de grupos de trabalho. 		
RESUMO DA SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> • Preenchimento do <i>Questionário de Diagnóstico</i>. 		
MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> ⇒ <i>Questionário de Diagnóstico</i>. 		

Resumo da 3ª sessão de formação.

Sessão: 3ª	Data: 12/03/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Actividades 1A e 1B – Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos, acerca de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo) – clarificação de significados.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Promover a reflexão sobre as práticas dos professores-formandos acerca de trabalho prático e ao papel e significados que deve assumir nas suas práticas lectivas e nas aprendizagens dos alunos. • Conhecer os significados atribuídos a trabalho prático, experimental, laboratorial e de campo. RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividades 1A e 1B. • Partilha e discussão, moderada pela investigadora-formadora, das respostas decorrentes do envolvimento dos grupos de trabalho nas Actividades 1A e 1B. MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Folhas da Actividade 1A e 1B. ⇒ Documentos: <ul style="list-style-type: none"> ALMEIDA, A. M. (2001). Educação em ciências e trabalho experimental: emergência de uma nova concepção. <i>In</i> A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.). <i>(Re)Pensar o Ensino das Ciências</i>. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 51-73. 		

Resumo da 4ª sessão de formação.

Sessão: 4ª	Data: 15/03/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Actividade 2 – Crenças, convicções e práticas dos professores-formandos, acerca de trabalho prático (experimental, laboratorial e de campo) – clarificação de significados (continuação).		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Promover a clarificação de significados de trabalho prático, trabalho experimental, trabalho laboratorial e trabalho de campo. • Selecção de temáticas em biotecnologia para desenvolvimento de percursos investigativos. RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividade 2. • Partilha e discussão, moderada pela investigadora-formadora, do trabalho realizado pelos grupos de trabalho na Actividade 2. • Apresentação pela investigadora-formadora (em <i>PowerPoint</i>[®]) – “<i>Trabalho prático: abordagens tradicionais versus orientações inovadoras</i>”. 		

MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:

⇒ Folha da Actividade 2.

⇒ Documentos:

DOURADO, L. (2001a). Trabalho prático, trabalho laboratorial, trabalho de campo e trabalho experimental no ensino das ciências – contributo para uma clarificação de termos. *In* A. Veríssimo, A. Pedrosa, R. Ribeiro (Coords.) *(Re)Pensar o Ensino das Ciências*. Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 13-18.

LEITE, L. (2001). Contributos para uma utilização mais fundamentada do trabalho laboratorial no ensino das ciências. *In* H. V. Caetano, M. G. Santos (Org.). *Cadernos Didácticos de Ciências*, 1, Lisboa: Ministério da Educação – Departamento do Ensino Secundário, 79-97.

Resumo da 5ª sessão de formação.

Sessão: 5ª	Data: 12/04/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Caracterizar os contextos problemáticos. • Perspectivar inter-relações CTS nos contextos problemáticos. • Formular questões de investigação. • Seleccionar questões de investigação para desenvolvimento de percursos investigativos. • Especificar o enquadramento curricular das questões de investigação seleccionadas. • Prever o interesse que as questões de investigação despertariam nos alunos. 		
RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividade 3. 		
MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO: ⇒ Folhas da Actividade 3.		

Resumo da 6ª sessão de formação.

Sessão: 6ª	Data: 16/04/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Actividade 3 – Reflexão sobre temáticas científicas actuais socialmente relevantes e formulação de questões de investigação (continuação).		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Os mesmos referidos para a sessão 5. 		
RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividade 3. • Partilha e discussão, moderada pela investigadora-formadora, das respostas decorrentes do envolvimento dos grupos de trabalho na Actividade 3. 		

MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:

⇒ Lista de bibliografia pré-seleccionada de sítios da internet a consultar pelos grupos de trabalho, com exemplos de procedimentos aplicáveis em contextos escolares, relacionados com as temáticas de biotecnologia apresentadas nos contextos problemáticos.

Resumo da 7ª sessão de formação.

Sessão: 7ª	Data: 19/04/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO:		
Actividade 4: Questões para auxiliar na definição dos procedimentos a realizar no trabalho prático (laboratorial e/ou experimental), tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada.		
OBJECTIVOS:		
<ul style="list-style-type: none"> • Promover a reflexão a partir de questionamento para auxiliar a definir os procedimentos sobre o <i>que fazer, como fazer e porque fazer.</i> • Consolidar e articular conhecimento teórico-conceptual e prático-processual. 		
RESUMO DA SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividade 4. 		
MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:		
⇒ Folhas da Actividade 4.		

Resumo da 8ª sessão de formação.

Sessão: 8ª	Data: 23/04/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO:		
Actividade 5 – Planificação de actividades práticas pelos professores-formandos, tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada (início).		
OBJECTIVOS:		
<ul style="list-style-type: none"> • Planificar actividades laboratoriais e experimentais relativamente aos seguintes aspectos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ materiais, equipamentos e reagentes; ⇒ variáveis a seleccionar (independentes, dependentes e de controlo); ⇒ cuidados a ter; ⇒ registos e observações a fazer; ⇒ procedimentos a realizar. 		
RESUMO DA SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividade 5. 		
MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:		
⇒ Folhas da Actividade 5.		

⇒ Documentos:

PEDROSA, M. A., MENDES, P. (2006). *Formação contínua de professores de ciências, construção de conhecimento científico e educação para a sustentabilidade*. XIX CONGRESSO ENCIGA (Asociación dos Ensinantes de Ciencias de Galicia). Escola Secundária Eça de Queirós (Póvoa de Varzim, Portugal), 23, 24 e 25 de Novembro.
<http://www.enciga.org/congreso/2006/index.htm> [Acedido: 10/02/2007]

Resumo da 9ª sessão de formação.

Sessão: 9ª	Data: 26/04/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Actividade 5 – Planificação de actividades práticas pelos professores-formandos, tendo em vista elaborar resposta(s) para a questão de investigação formulada/seleccionada (continuação).		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Os mesmos referidos para a sessão 8. RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Actividade 5. • Preparação de soluções e selecção de materiais para a realização de procedimentos. 		

Resumo da 10ª sessão de formação.

Sessão: 10ª	Data: 30/04/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Vê de Gowin: questões-foco; teorias/ideias; conceitos (mapas de conceitos); acontecimentos e/ou objectos; previsão de dados e/ou resultados. Realização de procedimentos pelos grupos de trabalho.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Construção de recursos heurísticos – Vês de Gowin e mapas de conceitos – para articulação de conhecimento teórico-conceptual e prático-processual. • Construção da parte central do Vê de Gowin – questões-foco; acontecimentos e/ou objectos; previsão de dados e/ou resultados. • Construção do lado conceptual do Vê de Gowin: teorias/ideias; conceitos (mapas de conceitos). • Realização de procedimentos. RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Vê de Gowin. • Realização de procedimentos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Isolamento de bactérias do solo por sucessivas diluições da amostra (amostra 1 – solo argiloso). ⇒ Produção de bioetanol através da fermentação alcoólica de diferentes matérias-primas: maçã, cana-de-açúcar e sêmola de milho (início). 		

MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO:

- ⇒ Folha do Vê de Gowin.
- ⇒ Documento de apoio – “*Guião de percursos investigativos*”.
- ⇒ Documentos impressos, com exemplos de percursos investigativos, dos quais fazem parte Vês de Gowin e mapas de conceitos, através dos seguintes sítios da internet:
 - http://eec.dgidc.min-edu.pt/documentos/materiais_biologia_Deolinda.doc [Acedido: 10/02/2007]
 - http://eec.dgidc.min-edu.pt/documentos/materiais_biologia_HelenaEduardo.doc [Acedido: 10/02/2007]
 - http://eec.dgidc.min-edu.pt/documentos/materiais_biologia_PGrilo.doc [Acedido: 10/02/2007]
 - http://eec.dgidc.min-edu.pt/documentos/publicacoes_deolinda_silva.pdf [Acedido: 10/02/2007]

Resumo da 11ª sessão de formação.

Sessão: 11ª	Data: 03/05/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO:		
Vê de Gowin: questões-foco; teorias/ideias; conceitos (mapas de conceitos); acontecimentos e/ou objectos; previsão de dados e/ou resultados.		
Realização de procedimentos pelos grupos de trabalho.		
OBJECTIVOS:		
<ul style="list-style-type: none"> • Os mesmos referidos para a sessão 10. 		
RESUMO DA SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Vê de Gowin. • Realização de procedimentos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Desinfecção do material vegetal e inoculação no meio de cultura de explantes de couve-flor (início). ⇒ Extração de DNA de gérmen de trigo com diferentes soluções de extração. 		

Resumo da 12ª sessão de formação.

Sessão: 12ª	Data: 07/05/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO:		
Realização de procedimentos pelos grupos de trabalho.		
OBJECTIVOS:		
<ul style="list-style-type: none"> • Realização de procedimentos. 		
RESUMO DA SESSÃO:		
<ul style="list-style-type: none"> • Realização de procedimentos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Desinfecção do material vegetal e inoculação no meio de cultura de explantes de couve-flor (continuação). ⇒ Isolamento de bactérias do solo por sucessivas diluições da amostra (amostra 2 – solo rico em matéria orgânica). ⇒ Produção de bioetanol através da fermentação alcoólica de diferentes matérias-primas: maçã, cana-de-açúcar e sêmola de milho (continuação). 		

Resumo da 13ª sessão de formação.

Sessão: 13ª	Data: 10/05/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Vê de Gowin: tratamento de dados; discussão de resultados; conclusões. Realização de procedimentos pelos grupos de trabalho.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Construção do lado metodológico do Vê de Gowin: tratamento de dados; discussão de resultados; conclusões. • Realização de procedimentos. 		
RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Vê de Gowin. • Realização de procedimentos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Electroforese em gel de agarose do DNA extraído. ⇒ Selecção de colónias isoladas para novas placas de Petri para a posterior identificação de bactérias produtoras de antibióticos. 		

Resumo da 14ª sessão de formação.

Sessão: 14ª	Data: 14/05/2007	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Vê de Gowin: tratamento de dados; discussão de resultados; conclusões. Realização de procedimentos pelos grupos de trabalho.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Os mesmos referidos para a sessão 13. 		
RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Trabalho em pequenos grupos – Vê de Gowin. • Realização de procedimentos: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ Identificação de bactérias produtoras de antibióticos através da técnica de riscado com a estirpe <i>Micrococcus luteus</i>. 		

Resumo da 15ª sessão de formação.

Sessão: 15ª	Data: 17/05/07	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Vê de Gowin: tratamento de dados; discussão de resultados; conclusões. Realização de procedimentos pelos pequenos grupos.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Os mesmos referidos para a sessão 13. 		

RESUMO DA SESSÃO:

- Trabalho em pequenos grupos – Vê de Gowin.
- Realização de procedimentos:
 - ⇒ Identificação de bactérias produtoras de antibióticos através da técnica de sobrecamada com a estirpe *Micrococcus luteus*.

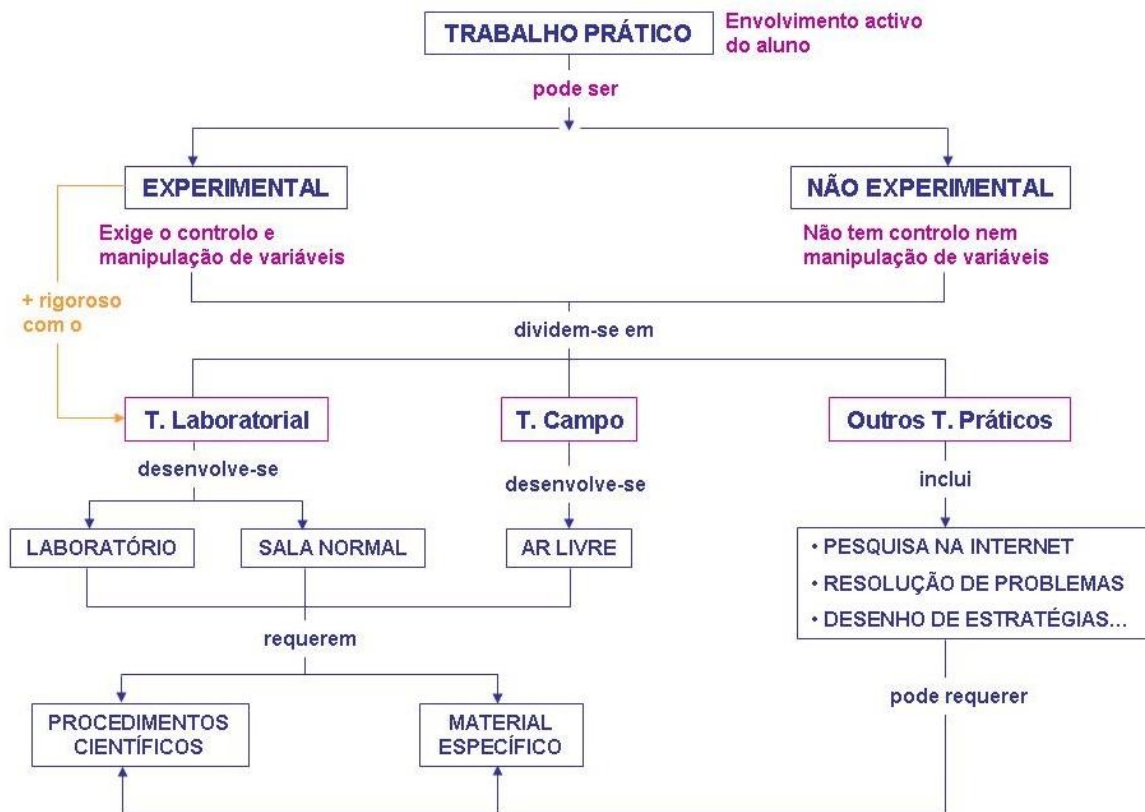
Resumo da 16ª sessão de formação.

Sessão: 16ª	Data: 21/05/07	Duração: 3 horas
ASSUNTO: Apresentação das comunicações (em <i>PowerPoint</i> ®) pelos grupos de trabalho relativamente aos percursos investigativos desenvolvidos na OF.		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Apresentação das comunicações pelos grupos de trabalho. 		
RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • Apresentação e discussão dos percursos investigativos desenvolvidos por cada grupo. • Comentários relativos ao trabalho desenvolvido ao longo da OF e perspectivas para o futuro. 		

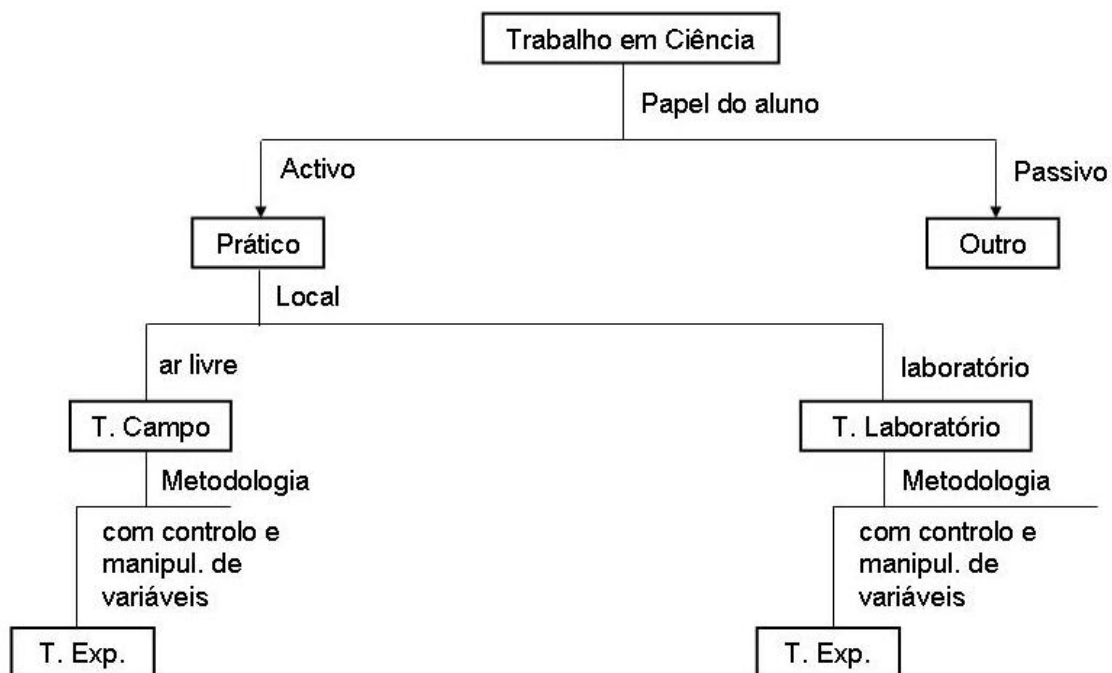
Resumo da 17ª sessão de formação.

Sessão: 17ª	Data: 24/05/07	Duração: 3 horas
ASSUNTO: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Questionário de Avaliação da OF.</i> • <i>Avaliação final do trabalho desenvolvido ao longo da OF.</i> 		
OBJECTIVOS: <ul style="list-style-type: none"> • Recolher a opinião dos professores-formandos acerca da OF através do preenchimento de um questionário. • Mostrar os tópicos de reflexão referentes ao <i>Relatório Crítico</i>. 		
RESUMO DA SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> • <i>Questionário de Avaliação da OF.</i> • Encerramento. 		
MATERIAIS DISTRIBUÍDOS DURANTE A SESSÃO: <ul style="list-style-type: none"> ⇒ <i>Questionário de Avaliação da OF.</i> ⇒ <i>Estrutura do Relatório Crítico.</i> 		

Mapa de Conceitos do Grupo 1



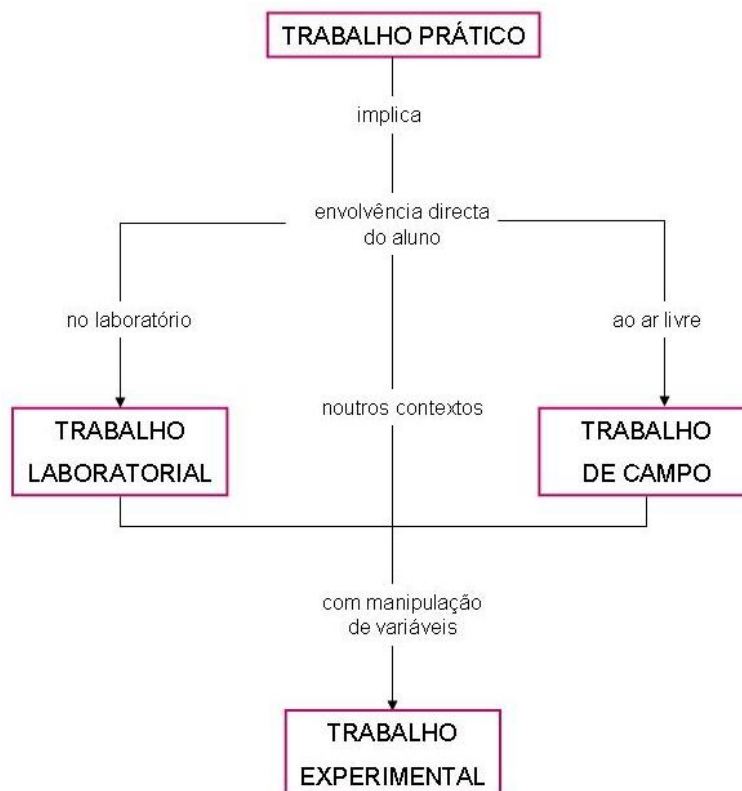
Mapa de Conceitos do Grupo 2



Mapa de Conceitos do Grupo 3



Mapa de Conceitos do Grupo 4



ACTIVIDADE 4 – RESPOSTAS DOS GRUPOS DE TRABALHO

No que diz respeito ao **Grupo 1**, as questões da actividade 4 centraram-se nas técnicas a utilizar quando se realizam trabalhos práticos (laboratoriais e/ou experimentais) com bactérias do solo. As questões apresentadas permitiram a elaboração de respostas com vista ao desenvolvimento dos seguintes aspectos:

- Identificar a “*técnica de assepsia*” para evitar contaminações microbianas não desejadas, quer pessoais, quer do ambiente de trabalho e do material utilizado, assim como, das culturas de microrganismos que se pretendem estudar. O grupo referiu no âmbito desta técnica a “*desinfecção da bancada de trabalho com lixívia; desinfecção das mãos com álcool; esterilização de materiais no autoclave e/ou à chama; exposição dos meios de cultura ao ar durante o menor tempo possível e a necessidade de trabalhar junto à chama*”;
- Relacionar a obtenção de colónias de bactérias do solo isoladas com a realização de “*diluições sucessivas da amostra de solo*”;
- Verificar que para se saber se uma bactéria é, ou não, produtora de antibióticos é necessário utilizar uma estirpe indicadora “*sensível a diversos antibióticos*”;
- Relacionar a formação de “*halos de inibição*” com a capacidade de bactérias do solo produzirem antibióticos.

Esta actividade permitiu aos professores-formandos conhecer uma forma de identificar bactérias do solo produtoras de antibióticos, pelo que se aperceberam que a questão de investigação formulada/seleccionada, “**Como identificar as estirpes produtoras de antibióticos?**”, precisava de reformulação. A questão após reformulação passou a ser: “**Será que as bactérias do solo são produtoras de antibióticos?**”. A questão apesar de alterada enquadrou-se no âmbito daquelas em que se conhece logo à partida a resposta, pelo que mais tarde voltou novamente a ser modificada.

Relativamente ao **Grupo 2**, as questões da actividade 4 centraram-se nos procedimentos a utilizar quando se realizam trabalhos práticos (laboratoriais e/ou experimentais) para conhecer melhor o processo da fermentação alcoólica, sobretudo os factores que afectam a rapidez da reacção de fermentação. As questões apresentadas permitiram a elaboração de respostas com vista ao desenvolvimento dos seguintes aspectos:

- Identificar parâmetros a medir para avaliar quantitativamente a rapidez da fermentação, sendo referido pelo grupo a “*quantidade de glicose consumida, quantidade de álcool etílico produzido e quantidade dióxido de carbono produzido*”;
- Referir processos de identificação dos produtos da reacção de fermentação, como o “*álcool etílico através do cheiro e o dióxido de carbono através do uso de água de cal e/ou através da libertação de bolhas de ar*”;

- Relacionar a montagem do sistema para a fermentação alcoólica com o processo de “*anaerobiose*” em que ocorre;
- Relacionar a necessidade de uma “*solução saturada de um dado soluto*” para minimizar os erros de quantificação do volume de dióxido de carbono produzido durante a fermentação alcoólica. Na escolha do soluto, o grupo dividiu-se entre a utilização de sal de cozinha e a sacarose, atendendo ao facto de serem ambos acessíveis e económicos, no entanto, optaram pelo sal uma vez que a sacarose constitui uma das matérias-primas da fermentação alcoólica. Em relação ao que pensam acontecer à solução existente no interior da proveta invertida durante a fermentação alcoólica, inicialmente tiveram alguma dificuldade em perceberem que o dióxido de carbono libertado ocupava espaço no interior da proveta, mas após a consciencialização deste aspecto, referiram que “*a solução descerá na proveta uma vez que o dióxido de carbono produzido irá ocupar espaço, fazendo com que a solução abandone a proveta e se desloque para o copo de precipitação*”.

Em relação ao **Grupo 3**, as questões da actividade 4 centraram-se nos procedimentos a utilizar quando se realizam trabalhos práticos (laboratoriais e/ou experimentais) para conhecer a técnica da cultura de tecidos *in vitro*, sobretudo no que diz respeito ao papel dos reguladores de crescimento – auxinas e citocininas. As questões apresentadas permitiram a elaboração de respostas com vista ao desenvolvimento dos seguintes aspectos:

- Referir os cuidados a ter no laboratório relativamente aos materiais a utilizar, bem como durante o manuseamento na câmara de assepsia, sendo mencionado pelo grupo: “*uso de bata, luvas descartáveis e máscara; desinfecção da bancada com lixívia; esterilização no autoclave do material de vidro e de dissecação – pinças e bisturis; uso da câmara estéril; sempre que a pinça tocar em qualquer objecto, deve ser esterilizada novamente; esterilizar o meio de cultura, desinfectar o material biológico*”;
- Identificar uma fonte de carbono para adicionar ao meio de cultura, atendendo ao facto dos explantes na condição *in vitro* passarem de uma condição autotrófica para heterotrófica, sendo referida a “*sacarose*” como resposta;
- Reconhecer a necessidade de esterilização do meio, sendo referido o seguinte: “*autoclavar o meio 5 minutos para cozer o agar, em seguida dividir o meio pelos frascos, perfazendo cerca de 2 cm de altura em cada um; autoclavar os frascos durante 15 minutos a 121°C*”;
- Identificar a parte da couve-flor mais indicada para preparar explantes. Inicialmente referiram a pretensão de isolar meristemas, atendendo ao facto de serem zonas internas não vascularizadas e, em geral, isentas da presença de agentes patogénicos, no entanto, após o esclarecimento da dificuldade da técnica de os isolar, referiram a “*parte branca da couve-flor onde estão meristemas florais, que são constituído por células indiferenciadas com rápida capacidade de divisão*”;

- Identificar os desinfetantes de uso doméstico que podem ser utilizados para matar/remover bactérias e fungos do material vegetal, antes de ser introduzido no meio de cultura, tendo sido referidos, como exemplo, a “lixívia”, no entanto, após a sugestão de mais exemplos, também mencionaram o “álcool etílico”;
- Caracterizar a água de lavagem a utilizar na remoção de desinfetantes dos explantes, sendo mencionado pelo grupo: “água destilada e esterilizada”.

Por último, no que diz respeito ao **Grupo 4**, as questões da actividade 4 centraram-se nos procedimentos a utilizar quando se realizam trabalhos práticos (laboratoriais e/ou experimentais) para conhecer processos e/ou reagentes necessários à extracção de DNA. As questões apresentadas permitiram a elaboração de respostas com vista ao desenvolvimento dos seguintes aspectos:

- Relacionar a estrutura das células eucarióticas com barreiras físicas que devem ser destruídas para a libertação do DNA nuclear, sendo mencionado pelo grupo “*parede celular, membrana celular e membrana nuclear*”. Como processos de destruição destas barreiras físicas mencionaram a “*acção química e mecânica*”;
- Identificar um reagente que permite a desagregação das membranas celulares nos seus componentes estruturais, tendo em consideração a sua natureza química, e relacionando essa desagregação com processos utilizados no dia-a-dia na remoção de gordura (e.g. lavagens de louça ou roupa). O grupo identificou o reagente como sendo um “*detergente*”;
- Conhecer a função do sal de cozinha adicionado à solução de extracção de DNA, tendo em conta a carga eléctrica negativa do DNA (devido à ionização dos grupos fosfato existentes no esqueleto pentose-fosfato), tendo sido referido que o “*NaCl ao fornecer iões de carga positiva permite neutralizar a carga negativa das moléculas de DNA, sendo possível que estas condensem-se numa massa gelatinosa quando em contacto com uma solução alcoólica*”;
- Conhecer factores que inactivam ou desnaturam enzimas presentes nas células (Desoxirribonucleases – DNAses) que podem degradar o DNA, tendo sido referida a “*temperatura*” como resposta;
- Identificar o processo adequado para separar os restos celulares do extracto celular, sendo assinalada a “*filtração*” como resposta;
- Identificar o tipo de enzimas que devem adicionar-se à solução de DNA, de modo a remover proteínas contaminantes, para que o DNA extraído seja o mais puro possível, sendo mencionadas “*proteases*”;
- Identificar o processo que permite separar o DNA da mistura de extracção, relativamente aos restantes componentes celulares, sendo assinalada como resposta “*adicionar um líquido onde o DNA é insolúvel*”;

- Identificar o processo adequado para recolher o DNA, caso se pretenda utilizá-lo em trabalhos posteriores, sendo assinalada a “*centrifugação*” como resposta;
- Verificar o que esperam observar num gel de electroforese, após a aplicação de um campo eléctrico à amostra introduzida num dos poços do gel, caso a extracção de DNA fosse bem sucedida. O grupo respondeu “*aparecimento de uma banda única correspondente ao DNA não fragmentado*”. Esta questão levantou algumas dúvidas sobre o que supostamente se verificaria caso a amostra de DNA tivesse sido sujeita a acção de DNAses. Nesta situação, a formadora esclareceu que a degradação do DNA levaria à formação de pequenos fragmentos, que em virtude da sua pequena massa molecular, não seriam observados sob a forma de bandas no gel de electroforese, podendo eventualmente verificar-se um rasto (DNA degradado) na parte final do gel, ao contrário do que se verificaria se o DNA fosse submetido a digestão por enzimas de restrição. Neste último caso, atendendo a que as enzimas de restrição cortam a dupla hélice da molécula de DNA em zonas específicas, obtêm-se fragmentos de DNA de diversas massas moleculares, sendo os maiores visíveis sob a forma de bandas individualizadas.

PERCURSO INVESTIGATIVO PLANEADO E IMPLEMENTADO PELO GRUPO 1

Este grupo de trabalho isolou bactérias do solo a partir de duas amostras recolhidas junto à escola (amostra 1 – solo argiloso e amostra 2 – solo rico em matéria orgânica). Procederam à cultura das bactérias, a partir de diluições sucessivas das amostras de solo (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4}), por espalhamento em meio de cultura TSA. Após o isolamento de colónias, procederam à verificação da sua capacidade de produção de antibióticos através da utilização da estirpe indicadora (*Micrococcus luteus*), com recursos às técnicas de sobrecamada directa, sobrecamada em colónias isoladas e riscado. Identificaram as estirpes produtoras de antibióticos pela presença de um halo de inibição do crescimento da estirpe indicadora em volta das colónias produtoras.

A **questão de investigação**, que após a primeira alteração passou a designar-se “**Será que as bactérias do solo são produtoras de antibióticos?**”, foi de novo reformulada, durante a elaboração do Vê de Gowin, sobretudo após a previsão de dados e/ou resultados. Assim, a questão final passou a: “**Existirão bactérias produtoras de antibióticos nas amostras de solo recolhidas na escola?**”.

Em relação à **hipótese** formulada referiram que “*atendendo à abundância de bactérias produtoras de antibióticos no solo, é provável encontrá-las nas amostras de solo recolhidas na escola*”. Em função desta hipótese, no âmbito da **previsão de dados e/ou resultados**, previram que “*no resultado, se verifique, em torno das colónias de bactérias, um halo de inibição de crescimento da estirpe indicadora, caso as bactérias sejam produtoras de antibióticos*”, tal como exemplifica o esquema por eles apresentado na Figura 1.

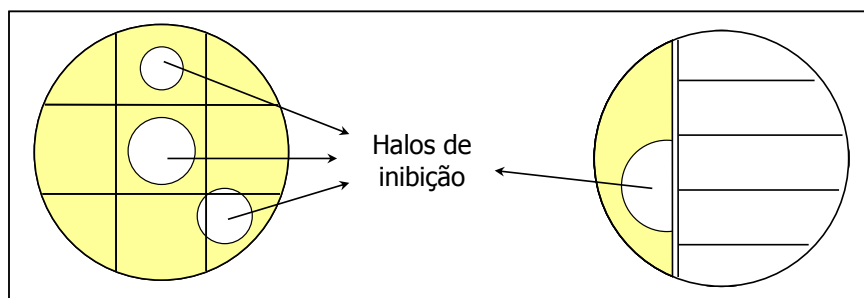


Figura 1 – Esquema apresentado pelo grupo 1, relativamente aos halos de inibição do crescimento da estirpe indicadora, a observar, caso existam bactérias produtoras de antibióticos nas amostras de solo estudadas.

No **tratamento de dados** o grupo de trabalho apresentou os resultados do crescimento das bactérias a partir das diluições das duas amostras de solo, além dos resultados com a técnica de riscado e de sobrecamada, em que destacaram o número de colónias produtoras de antibióticos entre o total de colónias testadas (Tabelas 1, 2 e 3). Na Figura 2 apresentam-se os resultados obtidos por este grupo de trabalho.

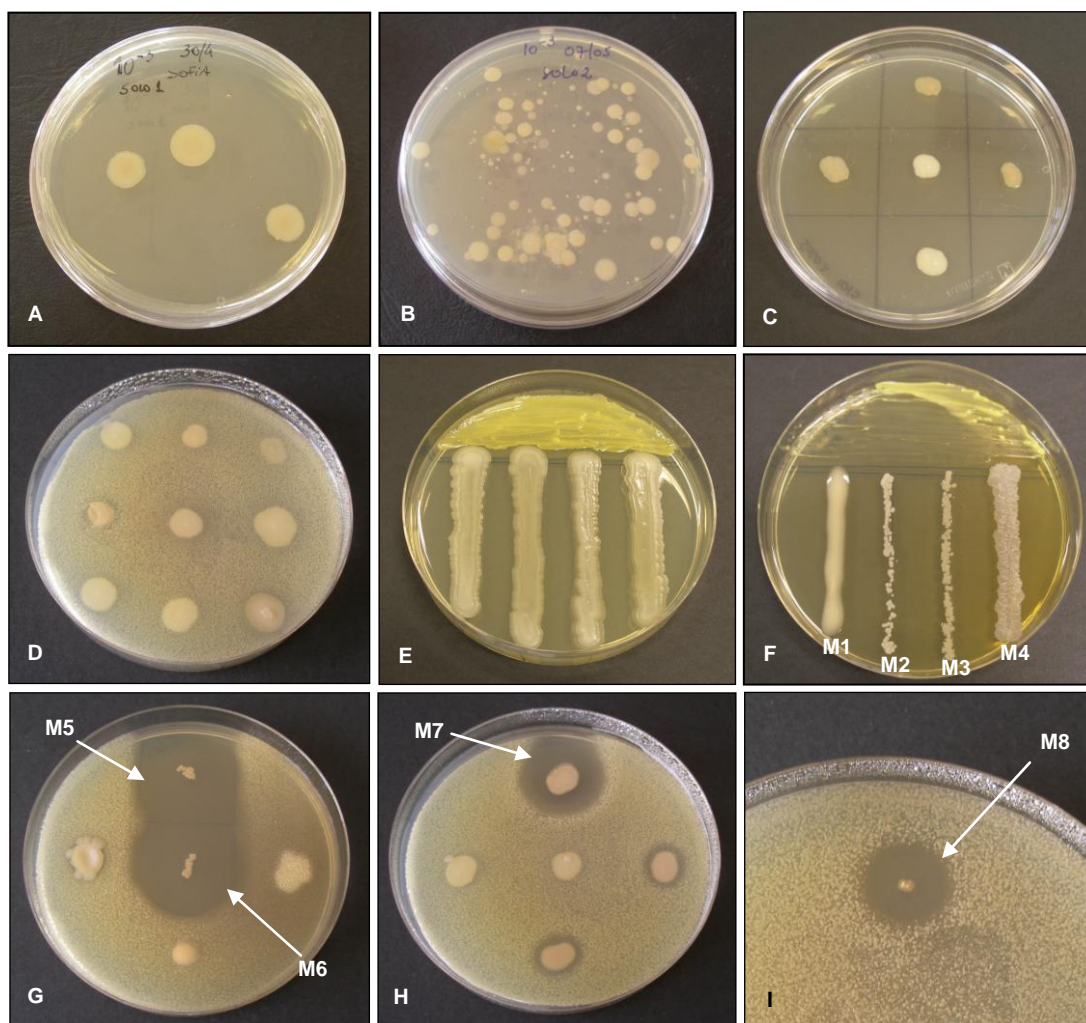


Figura 2 – Resultados obtidos pelo grupo de trabalho 1 nos procedimentos realizados com bactérias do solo. (A) colónias isoladas do solo 1 na diluição 10^{-3} ; (B) colónias isoladas do solo 2 na diluição 10^{-3} ; (C) colónias isoladas com palitos estéreis; (D) técnica de sobrecamada com a estirpe indicadora (*Micrococcus luteus*), em colónias isoladas, onde não se observam bactérias produtoras de antibióticos; (E) técnica de riscado para a detecção da actividade antibiótica – a cor amarela corresponde à estirpe indicadora e, as quatro riscas brancas a microrganismos teste, não produtores de antibióticos; (F) técnica de riscado para a detecção da actividade antibiótica – inibição do crescimento da estirpe indicadora devido à produção de antibióticos pelos microrganismos M1, M2 e M3; (G), (H) e (I) técnica de sobrecamada para a detecção da actividade antibiótica – presença de um halo de inibição do crescimento da estirpe indicadora em volta dos microrganismos M5, M6, M7 e M8 produtores de antibióticos.

Tabela 1 – Resultados das diluições.

Resultados	Diluição	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	Taxa de crescimento
Solo 1 (argiloso)	Nº de caixas inoculadas	2	5	5	2	50%
	Nº de caixas com colónias	2	2	3	0	
Solo 2 (matéria orgânica)	Nº de caixas inoculadas	2	3	4	1	90%
	Nº de caixas com colónias	2	3	4	0	

Tabela 2 – Resultados da técnica de riscado.

Técnica de riscado	Nº de caixas de Petri riscadas	Nº de riscas inoculadas	Nº de colónias produtoras
Solo 1	2	8	3
Solo 2	12	48	2

Tabela 3 – Resultados da técnica de sobrecamada.

Técnica de sobrecamada	Nº de caixas de Petri testadas	Nº de colónias inoculadas	Nº de colónias produtoras
Solo 1	7	19	3
Solo 2	6	38	5

Na **discussão de resultados** referiram os seguintes aspectos:

- “Nas diluições 10^{-1} e 10^{-4} , utilizou-se um menor número de caixas de petri, uma vez que os resultados seriam provavelmente mais desfavoráveis à obtenção de colónias isoladas, na primeira diluição, e à existência de colónias, na última”;
- “A melhor diluição para a obtenção de colónias isoladas foi de 10^{-3} ”;
- “Nas várias diluições e ao longo das diferentes técnicas utilizadas, não houve contaminações por fungos”;
- “A observação dos halos de inibição foi mais evidente nas técnicas de sobrecamada”;
- “Em termos relativos, o solo 1 apresentou maior percentagem de colónias produtoras, o que poderá estar relacionado com o tempo de secagem utilizado”;
- “Os halos apresentados pelas bactérias produtoras tiveram diferentes tamanhos, o que pode indicar diferenças nas quantidades de antibiótico produzido e/ou diferente sensibilidade do *Micrococcus luteus* aos antibióticos”;
- “Não se verificou qualquer relação entre o tamanho das colónias e do halo de inibição obtido em cada uma”.

Nas **conclusões** referiram que “em ambos os solos recolhidos na nossa escola foram encontradas bactérias produtoras de antibióticos”, como resposta à questão de investigação formulada, confirmando-se as previsões apresentadas. Também mencionam que, de entre as técnicas utilizadas, caso se pretendesse efectuar trabalhos posteriores com as bactérias produtoras de antibióticos, sugeriram a técnica de riscado, atendendo à maior facilidade de recolha de alíquotas. No âmbito da avaliação do trabalho desenvolvido foram assinalados:

- **Pontos fortes:**

- “Boas condições de assepsia”; “boa concepção das técnicas de isolamento”; “as técnicas são de fácil execução”; “obtenção de halos de inibição bem visíveis e nítidos”; “fácil interpretação de resultados”.

- **Pontos fracos:**

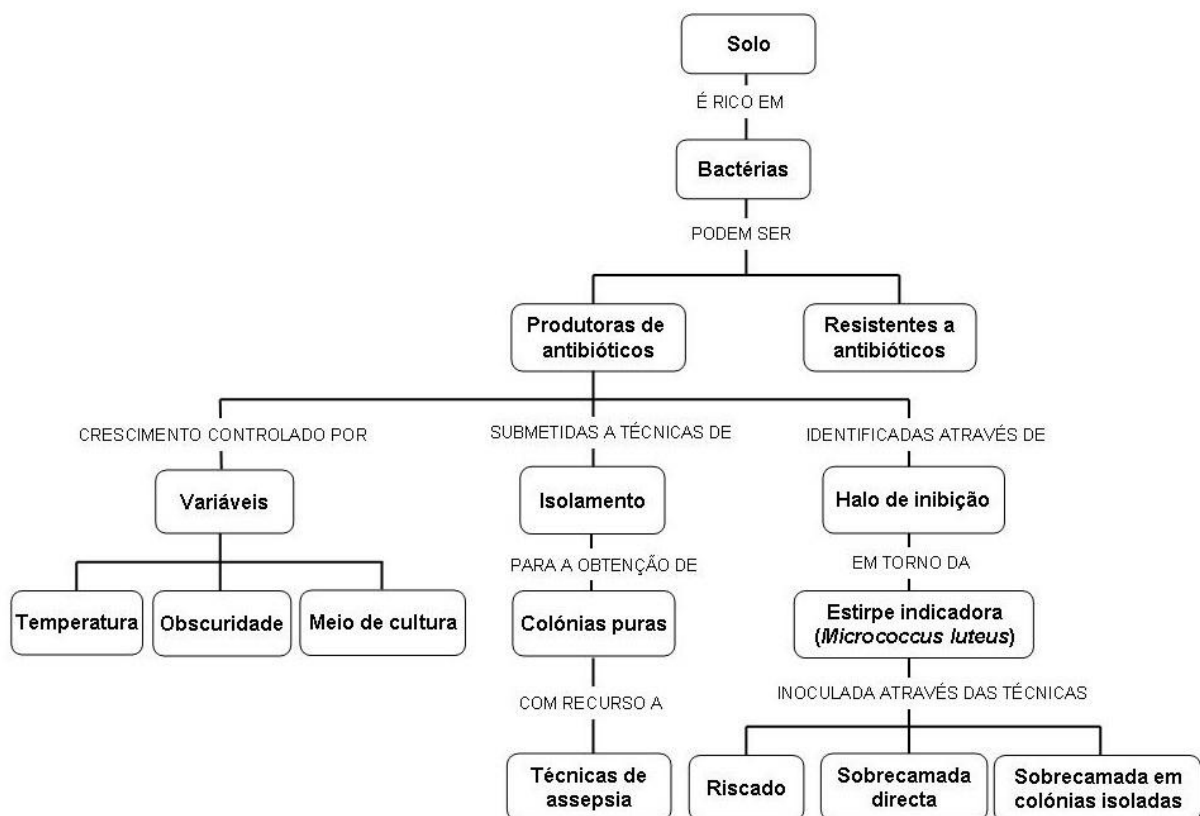
- “Não foi cumprido o tempo de secagem da amostra do solo 2”; “processo moroso devido à utilização de diversas técnicas que obedecem a tempos de espera definidos, o que dificulta a sua realização dentro do horário escolar dos alunos, podendo comprometer os

resultados”; “a temperatura ideal do meio TSA, aquando da incorporação do *Micrococcus luteus*, é determinada de modo impreciso, podendo destruir a estirpe indicadora”.

• **Outras questões-foco:**

- “As bactérias produtoras serão resistentes ou sensíveis aos antibióticos utilizados no tratamento de infeções em humanos?”;
- “As estirpes produtoras serão sensíveis a substâncias desinfectantes e/ou antissépticos de uso comum?”;
- “As bactérias produtoras que foram isoladas serão dos géneros *Streptomyces* ou *Bacillus*?”;
- “Qual(ais) o(s) antibiótico(s) produzido(s) pelas bactérias produtoras?”.

Mapa de conceitos construído pelo grupo 1 no planeamento do percurso investigativo relativo à questão de investigação: “**Existirão bactérias produtoras de antibióticos nas amostras de solo recolhidas na escola?**”



PERCURSO INVESTIGATIVO PLANEADO E IMPLEMENTADO PELO GRUPO 2

Este grupo de trabalho utilizou diferentes matérias-primas para verificar a que assegurava maior rendimento fermentativo. Nesse sentido, montaram dispositivos para a realização da fermentação alcoólica, aos quais adicionaram suspensões de leveduras, obtidas a partir de *Saccharomyces cerevisiae* (fermento comercial de padeiro) e diferentes matérias-primas (maçã, cana-de-açúcar e sêmola de milho). Efectuaram o controlo através da adição de água destilada à suspensão de leveduras num dos dispositivos montados. Avaliaram o rendimento fermentativo, a partir da quantificação do volume de dióxido de carbono produzido em cada um dos dispositivos experimentais, observado em intervalos de tempo regulares.

Foi efectuado um pequeno reajuste à **questão de investigação** inicial (“**Qual a matéria-prima que assegura maior rentabilidade?**”), no sentido de esclarecer a que rendimento se refere o projecto em estudo, passando a: “**Qual a matéria-prima que assegura maior rendimento fermentativo?**”.

Em relação à **hipótese** formulada referiram que “*utilizando diferentes compostos como matéria-prima iremos obter diferentes quantidades de produtos da reacção*”. Em função desta hipótese, no âmbito da **previsão de dados e/ou resultados**, previram que “*a matéria-prima que apresentará maior rentabilidade fermentativa será a sêmola de milho, pois sendo a sêmola muito rica em polissacarídeos a sua hidrólise originará uma enorme riqueza em açúcares fermentáveis*”. Para além deste aspecto, também referiram que “*durante este processo deverão libertar-se, nos balões onde ocorrer fermentação, bolhas de dióxido de carbono que provocarão a descida da solução na proveta; os balões de erlenmeyer onde ocorrer fermentação apresentarão um forte odor a álcool*”.

No **tratamento de dados** o grupo de trabalho apresentou um gráfico do rendimento fermentativo, durante 75 minutos, para as diversas matérias-primas testadas (Figura 1). No caso da maçã e da cana-de-açúcar, o final do traçado representado no gráfico, entre os 35 e os 45 minutos, corresponde ao momento em que a solução das provetas desceu abaixo do nível que permitia efectuar leituras, no entanto, o processo fermentativo ainda não estava concluído. A análise deste gráfico torna evidente o maior rendimento fermentativo obtido a partir da maçã e da cana-de-açúcar, sobretudo após decorridos os primeiros quinze minutos, aspecto salientado pelo grupo na discussão de resultados. Além deste resultado também referiram os seguintes aspectos:

- “*Libertaram-se bolhas de dióxido de carbono em todos os balões, à excepção do controlo*”;
- “*A solução desceu nas provetas, à excepção da proveta que se encontrava ligada ao controlo*”;
- “*Ao destapar-se os balões verificou-se cheiro característico a álcool, mais intenso na maçã e cana-de-açúcar, menos intenso na sêmola de milho e ausente no amido e no balão de controlo*”.

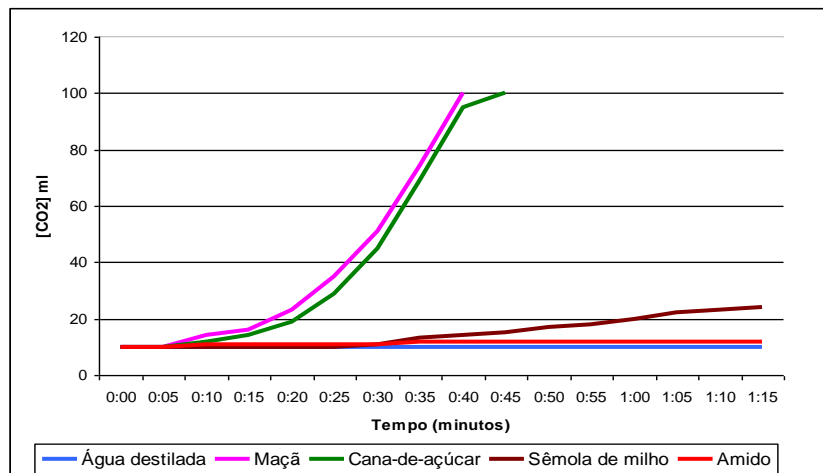


Figura 1 – Rendimento fermentativo de diferentes matérias-primas durante setenta e cinco minutos.

Na **discussão de resultados** referiram os seguintes aspectos:

- “Inicialmente começámos a efectuar leituras de quinze em quinze minutos, no entanto, dado o facto do processo fermentativo em estudo decorrer de forma relativamente rápida optou-se por repetir o procedimento de modo a efectuar leituras de cinco em cinco minutos, pois só desse modo se conseguiram dados suficientes para a elaboração de um gráfico esclarecedor do processo”;
- “Ao contrário daquilo que prevíamos, a sêmola de milho não se revelou a matéria-prima mais rentável. Tal se deve ao facto da levedura *Saccharomyces cerevisiae* não possuir enzimas capazes de sacarificar o amido (hidrato de carbono mais abundante neste cereal), ou seja, transformá-lo em açúcares mais simples, directamente fermentáveis”;
- “Ainda assim, a sêmola de milho foi, ao longo do tempo, fermentada. Daqui depreendemos que, para além de amido, esta deverá possuir uma pequena quantidade de mono ou dissacarídeos”;
- “A maçã e a cana-de-açúcar revelaram elevada e idêntica rentabilidade fermentativa. Com efeito trata-se de material biológico rico em mono e dissacarídeos, açúcares simples facilmente fermentáveis por *Saccharomyces cerevisiae*”;
- “Pela análise dos resultados obtidos, no caso da maçã e da cana-de-açúcar, verifica-se que a partir dos 15 minutos existe um notório incremento da taxa fermentativa. Esta situação poder-se-á explicar pelo facto das leveduras, na presença de alimento em abundância, aumentarem a sua taxa reprodutiva e, conseqüentemente degradarem maior quantidade de matéria orgânica”;
- “Inicialmente não prevíamos utilizar o amido (solúvel) como matéria-prima. No balão em que juntámos amido e leveduras verificou-se, ainda que em reduzida quantidade, a libertação de dióxido de carbono, o que revela, por parte da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, dificuldade de utilização deste polissacarídeo”.

Nas **conclusões** referiram que “*das matérias-primas testadas a maçã e a cana-de-açúcar são as que revelam maior rentabilidade fermentativa*” e que “*a estirpe *Saccharomyces cerevisiae* utilizada manifesta nítida dificuldade em fermentar o amido*”. No âmbito da avaliação do trabalho desenvolvido foram assinalados:

- **Pontos fortes:**

- “*Procedimento exequível num curto espaço de tempo*”; “*obtenção quase imediata de resultados*”; “*utilização de materiais relativamente simples, económicos e de fácil manipulação*”; “*enquadramento curricular, quer no 10º, quer no 12º ano*”.

- **Pontos fracos:**

- “*A não quantificação da quantidade de etanol produzido durante o processo*”; “*a grande quantidade de material necessário para a realização da actividade por vários grupos de trabalho*”.

- **Outras questões-foco:**

- “*Qual a possibilidade da produção de bioetanol a partir de resíduos ricos em celulose?*”.

Mapa de conceitos construído pelo grupo 2 no planeamento do percurso investigativo relativo à questão de investigação: “**Qual a matéria-prima que assegura maior rendimento fermentativo?**”.



PERCURSO INVESTIGATIVO PLANEADO E IMPLEMENTADO PELO GRUPO 3

Este grupo de trabalho realizou a micropropagação de couve-flor⁵⁵ (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.), através da selecção de explantes provenientes da inflorescência, seguindo-se a desinfecção e posterior inoculação no meio MS. Utilizaram quatro meios MS aos quais foram adicionados os seguintes reguladores de crescimento: 1 – citocininas (2,5 mg/mL de cinetina); 2 – auxinas (8 mg/mL de IAA); 3 – citocininas e auxinas (2,5 mg/mL de cinetina e 8 mg/mL de IAA) e 4 – sem reguladores de crescimento (controlo).

A **questão de investigação** foi reformulada durante a construção do Vê de Gowin, na previsão de dados e/ou resultados, quando referiram o efeito de diferentes reguladores de crescimento na formação de tecidos e órgãos a partir dos explantes de couve-flor. Assim, a questão inicial (“**Qual o melhor meio de cultura que permite a propagação mais rápida da couve-flor (citocininas e/ou auxinas)? Em que concentrações?**”) passou a: “**Qual a influência da concentração dos factores de crescimento (auxinas e citocininas) na produção de tecidos/órgãos da couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)?**”.

Em relação à **hipótese** formulada referiram que “*as diferentes concentrações de factores de crescimento (fito-hormonas) influenciam o desenvolvimento de diferentes tecidos da couve-flor*”. Em função desta hipótese, no âmbito da **previsão de dados e/ou resultados**, previram o seguinte:

- “*A presença de auxinas (IAA) induz o desenvolvimento de raízes*”;
- “*A presença de citocininas (cinetina) induz a produção de rebentos*”;
- “*Quando a concentração de auxina é superior à de citocinina é induzida a formação de raízes*”;
- “*Na ausência de factores de crescimento, o desenvolvimento de rebentos e/ou raízes ocorrerá muito mais lentamente, pelo que para o mesmo período de tempo, não serão de esperar alterações significativas*”.

No **tratamento de dados**, em primeiro lugar, analisaram os explantes inoculados e identificaram os que apresentavam infecções ou que se encontravam mortos. Após quinze dias do início da cultura (Figura 1), o material biológico que sobreviveu, apresentava as seguintes características: “*intumescimento e abertura dos explantes*”, “*desenvolvimento de alguns pequenos rebentos*” e a presença de “*tonalidade esverdeada, revelando presença de clorofila*”. O efeito dos reguladores de crescimento só foi visível após mês e meio⁵⁶ do início da cultura, registando o

⁵⁵ A câmara de assepsia utilizada na OF foi construída com material lavável, sob a forma de uma caixa aberta num dos lados, com as seguintes dimensões: altura = 65 cm; comprimento = 85 cm e largura = 60 cm. Esta caixa foi electrificada com uma lâmpada fluorescente e no lado aberto foi fixado um plástico grosso de cor preta para tapar a entrada de ar durante a esterilização (efectuada através de uma lâmpada de radiação ultravioleta portátil).

⁵⁶ As descrições que o grupo de trabalho efectuou no final de mês e meio de cultura foram baseadas em explantes de couve-flor em cultura *in vitro* disponibilizados pela investigadora-formadora, uma vez que devido a alguns atrasos no início dos trabalhos no laboratório e, face à proximidade do final da OF, não seria possível observar os resultados e concluir o percurso investigativo iniciado.

grupo de trabalho que “o factor de crescimento mais adequado à formação de rebentos foi a cinetina”, “para a formação de raízes, o mais eficaz foi o meio de cultura sem factores de crescimento (meio de controlo)” e que “não se verificou diferença significativa de resultados nos frascos onde se adicionou só cinetina e cinetina mais IAA”. A Tabela 1 apresenta de forma sucinta os resultados deste grupo de trabalho.

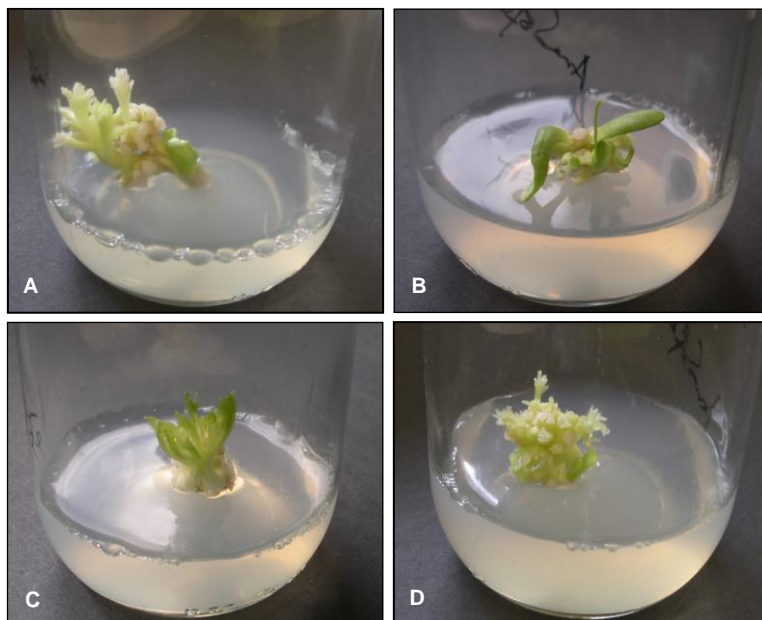


Figura 1 – Resultados obtidos pelo grupo 3 após quinze dias da inoculação dos explantes no meio de cultura. (A) explante no meio de cultura MS sem reguladores de crescimento (controlo); (B) explante no meio de cultura MS com cinetina; (C) explante no meio de cultura MS com cinetina e IAA; (D) explante no meio de cultura com IAA. É evidente a formação de rebentos, com notório desenvolvimento de folhas, nos explantes dos meios com cinetina e cinetina juntamente com IAA.

Tabela 1 – Resultados apresentados pelo grupo 3 relativamente ao efeito dos reguladores de crescimento no desenvolvimento de rebentos e raízes nos explantes inoculados.

	Cinetina (2,5 mg/mL)	IAA (8 mg/mL)	Cinetina + IAA (2,5 mg/mL de cinetina e 8 mg/mL de IAA)	Controlo (sem reguladores de crescimento)
Rebentos	++++	+	+++	++
Raízes	++	+	+	+++

Legenda:

++++ – muito desenvolvidos
 +++ – mediamente desenvolvidos
 ++ – algo desenvolvidos
 + – pouco desenvolvidos

Na **discussão de resultados** referiram os seguintes aspectos:

- “Para a obtenção de rebentos (caules e folhas), em vez de adicionar cinetina e IAA, bastará adicionar cinetina, tornando-se um processo de mais baixo custo, já que não se verificou diferença significativa de resultados nos frascos onde se adicionou cinetina ou ambas as hormonas”;

- *“Relativamente aos frascos contendo cinetina, os resultados foram concordantes com o esperado, ou seja, verificou-se o desenvolvimento de rebentos”;*
- *“No caso do enraizamento, poderá usar-se um meio com IAA ou sem qualquer adição de factores de crescimento. Os melhores resultados obtidos nos meios sem adição de qualquer factor de crescimento e o baixo custo do meio de cultura fundamentam esta última sugestão”;*
- *“A presença de IAA ou das duas hormonas em simultâneo (IAA e cinetina) não se revelou muito eficaz para o desenvolvimento de raízes, contrariamente ao que era esperado”;*
- *“Na ausência de hormonas, o explante cresceu consideravelmente e enraizou, ao contrário do que estava previsto ocorrer no mesmo intervalo de tempo”.*

Nas **conclusões** referiram que para realizar a micropropagação da couve-flor “numa primeira fase, bastará adicionar cinetina para promover o crescimento do explante e a formação de rebentos”, e que, “numa segunda fase, para promover o enraizamento, poderá adicionar-se apenas o meio de cultura (sem qualquer factor de crescimento)”. O desenvolvimento de raízes no meio sem reguladores de crescimento foi justificado considerando que “provavelmente os explantes terão hormonas endógenas que serão responsáveis pelo desenvolvimento daqueles órgãos”. No âmbito da avaliação do trabalho desenvolvido foram assinalados:

- **Pontos fortes:**

- *“A obtenção e manuseamento do material biológico é fácil e este apresenta uma rápida resposta (...) mostra-se muito resistente às situações de garantia de assepsia”; “este material biológico mostra-se ideal para ser utilizado nas escolas, já que os alunos conseguem observar uma boa resposta”.*

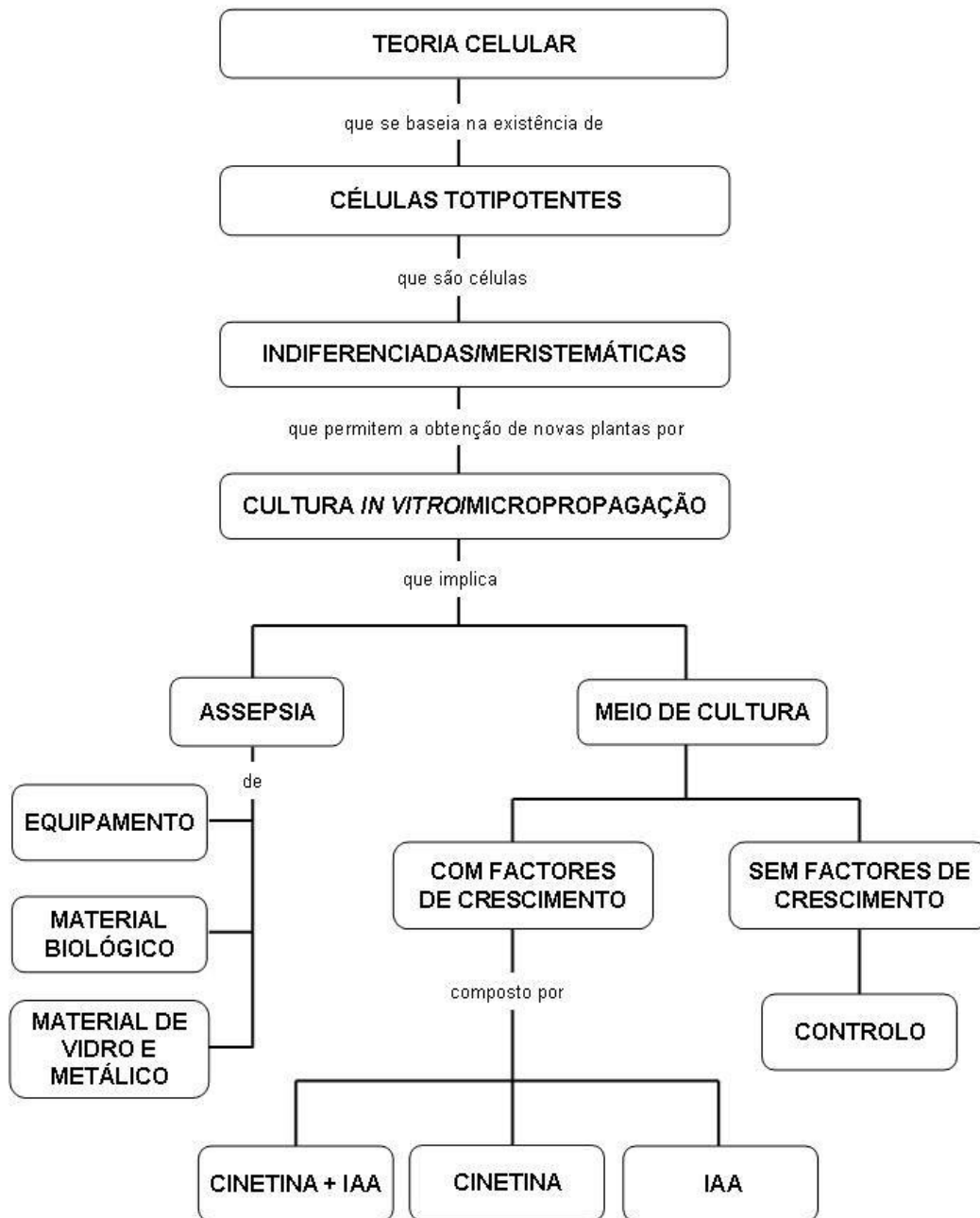
- **Pontos fracos:**

- *“Verificou-se alguma morosidade e minuciosidade no processo de desinfecção do material, para evitar a contaminação dos explantes”.*

- **Outras questões-foco:**

- *“Qual a taxa de sucesso do enraizamento?”*
- *“Qual a taxa de sucesso após a aclimatização?”*

Mapa de conceitos construído pelo grupo 3 no planeamento do percurso investigativo relativo à questão de investigação: **“Qual a influência da concentração dos factores de crescimento (auxinas e citocininas) na produção de tecidos/órgãos da couve-flor (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)?”**.



PERCURSO INVESTIGATIVO PLANEADO E IMPLEMENTADO PELO GRUPO 4

Este grupo de trabalho extraiu DNA de germen de trigo, com três soluções de extracção diferentes, de modo a simular o processo digestivo no estômago e intestino, para relacionar a eventual degradação do DNA (transgénico ou não transgénico) com a digestão dos alimentos. Para esse efeito, prepararam as seguintes soluções de extracção: solução 1 (controlo, sem digestão), solução 2 (simulação da digestão estomacal com adição de suco gástrico artificial) e solução 3 (simulação da digestão intestinal com adição da solução de pancreatina). Após a extracção procederam à realização da electroforese em gel de agarose de forma a verificar os resultados obtidos. A presença de DNA intacto foi identificada no gel de agarose, pela presença de uma banda única, enquanto que a sua degradação evidenciou-se pela sua ausência.

A **questão de investigação** foi reformulada durante a elaboração do lado metodológico do Vê de Gowin, sobretudo quando discutiram os resultados e formularam as conclusões. Assim, a questão inicial (“**Que alterações se verificam no DNA transgénico ao longo do processo digestivo?**”) passou a: “**Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal?**”.

Em relação à **hipótese** formulada referiram que “o DNA, transgénico ou não transgénico, é degradado durante o processo digestivo”. Em função desta hipótese, no âmbito da **previsão de dados e/ou resultados**, previram a presença de uma “banda única e definida, que significa que a molécula de DNA não foi degradada (resultado esperado no controlo e na amostra 2, onde se pretende simular a digestão estomacal)” e que a “ausência desta banda significa que ocorreu degradação do DNA, da qual resulta a sua fragmentação. Este resultado deverá ser observado na amostra 3, onde se pretende simular a digestão intestinal”.

No **tratamento de dados** apresentado na Tabela 1, mostram-se as condições experimentais referentes às soluções de extracção testadas, valor de pH e o número de réplicas⁵⁷ de cada amostra. Além destes dados, apresenta-se na Figura 1 o sedimento (*pellet*) com DNA obtido a partir de cada uma das soluções de extracção, após a centrifugação das amostras, e a Figura 2 mostra os resultados observados na electroforese, após a coloração do gel de agarose.

Tabela 1 – Condições experimentais testadas.

Condições experimentais testadas	37°C durante 90 minutos								
	1 (controlo, sem digestão)			2 (adição de suco gástrico artificial)			3 (adição da solução de pancreatina)		
Solução de extracção + germen de trigo									
pH da solução de extracção	6,33			1			6,10		
Tubos de ensaio/réplicas	1	1'	1"	2	2'	2"	3	3'	3"

⁵⁷ O grupo procedeu à realização de três réplicas (1, 1' e 1"... de cada amostra (1, 2 e 3), com o objectivo de poder substituir alguma, que eventualmente pudessem perder durante o processo de extracção. Deste modo, asseguraram a obtenção de duas amostras a partir de cada solução de extracção para a electroforese.

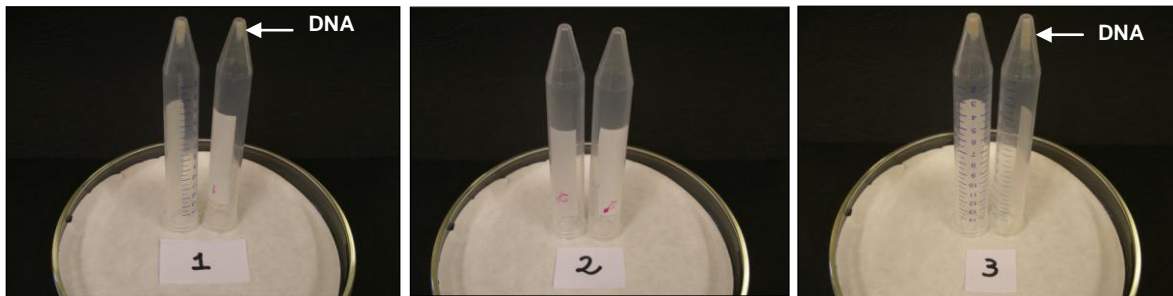


Figura 1 – Resultados obtidos pelo grupo 3 relativos à extracção de DNA de gérmen de trigo em três amostras, após a centrifugação. Salienta-se a presença de sedimento (*pellet*) com DNA nas amostras um e três e a sua ausência na amostra dois. 1 – controlo (sem digestão); 2 – adição de suco gástrico artificial e 3 – adição da solução de pancreatina.

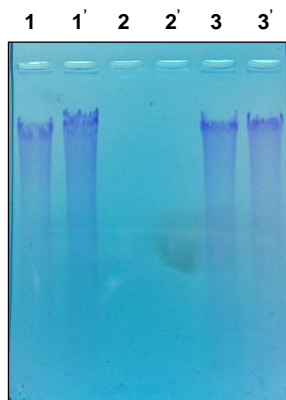


Figura 2 – Resultados obtidos após a electroforese em gel de agarose. Verifica-se a presença de DNA sob a forma de uma banda única nas amostras 1, 1' (controlo, sem digestão) e 3, 3' (simulação da digestão intestinal com adição da solução de pancreatina). Os poços com as amostras 2 e 2' (simulação da digestão estomacal com adição de suco gástrico artificial) caracterizam-se pela ausência da banda de DNA.

Na **discussão de resultados** o grupo de trabalho referiu os seguintes aspectos:

- “Verifica-se a existência de uma banda bem definida nas amostras 1 (referente ao controlo, sem digestão) e 3 (relativa à digestão intestinal pela acção da pancreatina). O resultado obtido na amostra 1 coincide com a previsão inicial, uma vez que não foi sujeita a qualquer processo digestivo. No entanto, a amostra 3, contrariamente ao previsto, apresenta uma banda de DNA definida que significa que não houve uma degradação eficiente do DNA. Nesta amostra esperava-se que as nucleases presentes no suco pancreático degradassem o DNA, o que justificaria a ausência de banda. Uma vez que se verifica a sua existência deduz-se que ou as condições não foram as ideais para a actuação enzimática, ou a pancreatina utilizada não possui nucleases”;
- “Na amostra 2 não se observou a existência de qualquer banda, o que significa que as condições simuladas para a digestão estomacal estiveram na origem da fragmentação do DNA. Salienta-se que o suco gástrico não possui nucleases na sua constituição, contudo apresenta um pH extremamente ácido que poderá ser a causa provável para esta fragmentação, a qual não tinha sido prevista inicialmente”.

Nas **conclusões** referiram que “o DNA apresenta-se degradado após a simulação da digestão estomacal, não apresentando degradação quando sujeito à acção da pancreatina, incluída na digestão intestinal” e que “a degradação do DNA verificada (na amostra 2), (...), parece ter ocorrido, sobretudo, devido à acção química (pH extremamente ácido) e não à acção enzimática (nucleases), sendo portanto o pH o principal factor das alterações verificadas”. No entanto, o grupo de trabalho considerou as conclusões retiradas dos resultados observados “pouco fiáveis tendo em conta a discrepância entre as condições experimentais simuladas e as condições fisiológicas do processo digestivo humano”, que se reflectiram na avaliação do trabalho desenvolvido, relativamente aos seguintes aspectos:

- “Uma das variáveis que não foi aferida ao valor real foi o pH”. Exemplificaram este aspecto em relação ao pH estomacal e intestinal, referindo que “nas condições simuladas o pH do estômago era de 1, valor ainda mais baixo que o valor fisiológico (pH de aproximadamente 2)” e que o “pH do suco pancreático oscila entre os 8,5 e 9, valores estes bastante díspares do valor de 6,10 usado nesta experiência”;
- “Desconhecimento da composição específica da pancreatina utilizada, nomeadamente a inclusão ou não de nucleases, essenciais para a degradação do DNA. A possível ausência de nucleases neste reagente poderá também justificar os resultados na amostra 3”;
- “As quantidades e concentrações de pancreatina e suco gástrico artificial podem não ter reproduzido fielmente as condições fisiológicas. Novas pesquisas poderiam ser efectuadas testando outras quantidades e concentrações dos sucos referidos”.

Em função dos aspectos anteriormente referidos este grupo sugeriu para futuros trabalhos as seguintes recomendações:

- Em relação ao pH estomacal referiram que “seria pertinente utilizar um valor de pH idêntico ao pH real do estômago para assim poderem ser retiradas conclusões mais idóneas”;
- No que diz respeito ao pH intestinal salientaram que “investigações posteriores deverão incluir uma correcção do valor de pH, através da adição de uma base, sendo talvez mais indicado o uso do bicarbonato de sódio por ser um dos constituintes naturais do suco pancreático”, justificando esta medida, “uma vez que o pH é um factor condicionante da actividade enzimática, nestas condições a actuação das enzimas poderá ter ficado limitada (ou por inibição ou, eventualmente, por desnaturação)”, referindo-se concretamente à acção de nucleases supostamente existentes na pancreatina.

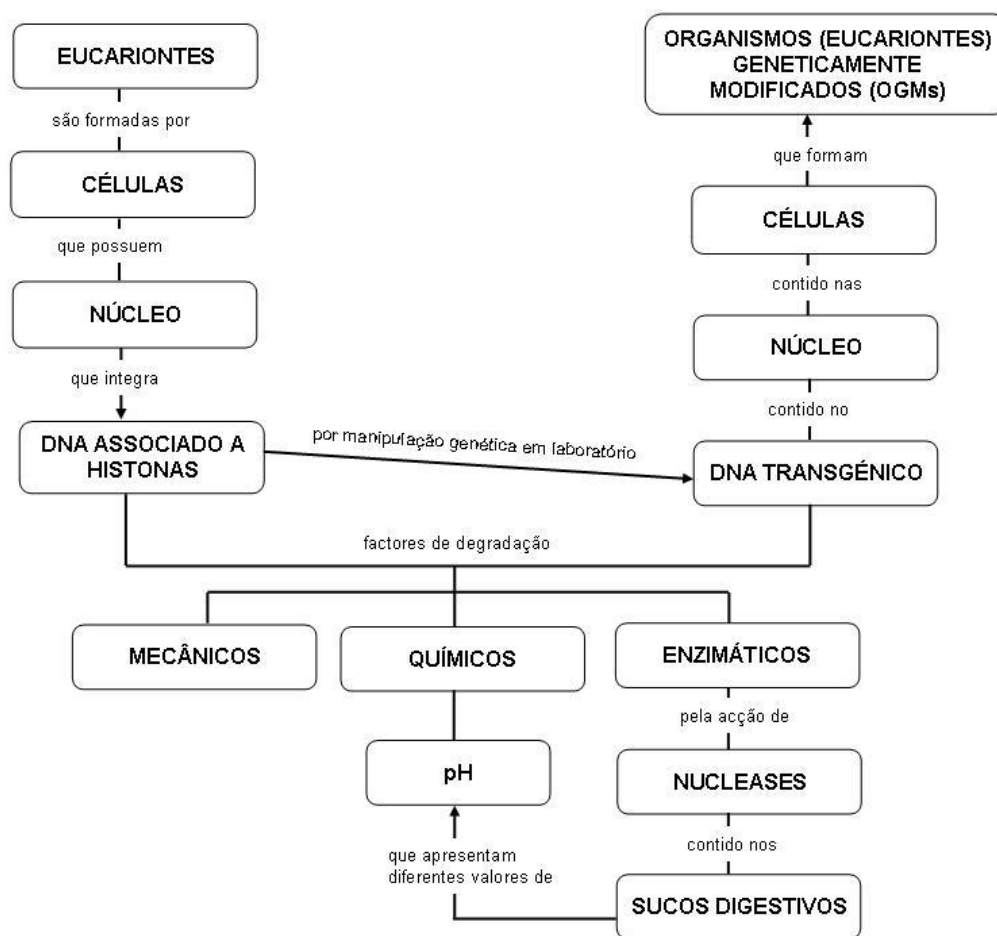
Outras questões-foco:

“Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose...”

- após digestão estomacal, com o pH aferido ao valor real?
- após digestão intestinal com o pH fisiológico?
- após a digestão intestinal com a acção do suco pancreático e intestinal natural?

- após o processo digestivo completo (boca, estômago e intestino)?
- após digestão estomacal e intestinal de um alimento cozido?”

Mapa de conceitos construído pelo grupo 4 no planeamento do percurso investigativo relativo à questão de investigação: “**Como se apresenta o DNA transgénico, num gel de agarose, após digestão estomacal e intestinal?**”.



ASSIDUIDADE DOS PROFESSORES-FORMANDOS NAS SESSÕES DE FORMAÇÃO

	Meses	Março					Abril					Maio					Faltas (nº de horas)	
		05	08	12	15	16	19	23	26	30	03	07	10	14	17	21		24
	Dias	2	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	Nº de horas																	
1	Ana Luísa Bernardo	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
2	Ana Sílvia Malhado	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
3	Ana Sofia Costa	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
4	Carla Manuela Dias	Inscreveu-se, mas não frequentou a Acção de Formação																
5	Cláudio Santos	F	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	F	P	P	8
6	David José Figueiredo	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
7	Isabel Maria Paixão	Inscreveu-se, mas não frequentou a Acção de Formação																
8	Isabel Rute Alves	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	F	P	P	6
9	José Manuel Nogueira	P	F	F	F	P	F	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	12
10	Licinia Gomes da Silva	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
11	Luís Filipe da Silva	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
12	Luísa Margarida Fonseca	Inscreveu-se, mas não frequentou a Acção de Formação																
13	Paula Cristina Castelhana	Inscreveu-se, mas não frequentou a Acção de Formação																
14	Rui Fernando Charneca	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	F	P	P	6
15	Sandrina Silva Martins	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	0
16	Sónia Filipa Lourenço	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	F	3
17	Susana Margarida Andrade	P	P	F	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	F	6