

Uma aula espinhosa!



Francisco J. Viana

Escola Superior Agrária de Santarém
Instituto Politécnico de Santarém

fjviana@interacesso.pt

Muitas vezes, ao falarmos de fertilização e desenvolvimento embrionário, existe a dificuldade de fazer os alunos visualizarem esses acontecimentos, uma vez que o material didáctico clássico pouco mais apresenta que umas quantas figuras ou esquemas para ilustrar a mensagem que se pretende fazer passar. Ora, nesta era em que a imagem está quase glorificada, na verdade custa bem pouco apresentar uma aula entusiasmante, que ilustre em directo, e ao vivo, estes excitantes momentos que determinam a formação de um novo ser.

Como fazer isto? Na realidade pegando num dos mais intensivamente estudados modelos de desenvolvimento embrionário de sempre: o ouriço do mar. Estes simpáticos animais abundam na costa portuguesa nas zonas intertidais de base rochosa, e podem ser utilizados para este fim, pelo menos entre Maio e Agosto. As espécies mais frequentes na nossa costa são *Paracentrotus lividus*, *Psammechinus miliaris*, e *Sphaerechinus granularis*.

Aqui se apresenta uma orientação simplificada de como conseguir gâmetas, executar a fertilização e observar os primeiros estádios de desenvolvimento destes equinodermes. Para uma informação e planificação mais completa sobre este tema, recomenda-se a visita ao site <http://www.stanford.edu/group/Urchin/contents.html>, de onde, de resto, foram tiradas as imagens deste artigo.

Caso não se disponha de um aquário de água salgada, a recolha dos animais deve ser feita na véspera ou, preferencialmente, no próprio dia da experiência e é tão simples como recolher os animais num balde com água do mar, tendo a preocupação de manter as temperatura desta por volta do 15°C. Como é muitas vezes difícil verificar se cada animal é macho ou fêmea antes de induzir a expulsão dos gâmetas, deve trazer-se um número razoável de animais a fim de garantir a existência de pelo menos um maduro de cada sexo.

Para recolher os gâmetas, é necessário retirar, tanto quanto possível, a água da superfície dorsal dos ouriços, após o que se injecta aproximadamente 0,5 ml de KCl 0,5 M na cavidade celomática, fazendo uso de uma seringa com agulha hipodérmica (fig 1). Após a injeção, animal deve ser agitado com gentileza para assegurar que a solução banhará as cinco gónadas.

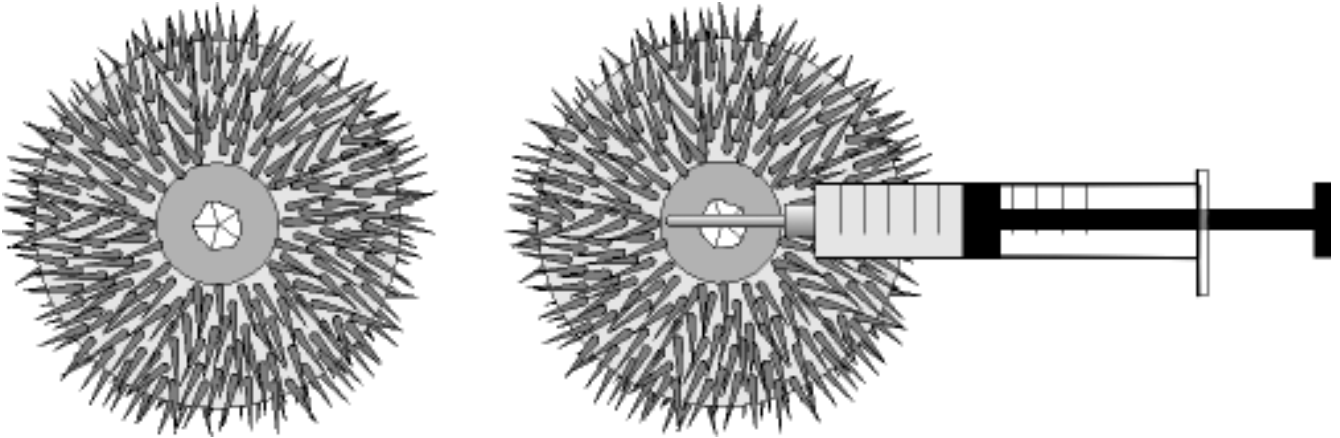


Fig. 1

Se os animais estiverem maduros, as gónadas contrair-se-ão e os gâmetas (óvulos ou esperma) deverão ser expulsos através dos cinco orifício localizados no centro da zona aboral — oposta à boca (pontinhos negros na fig. 2).

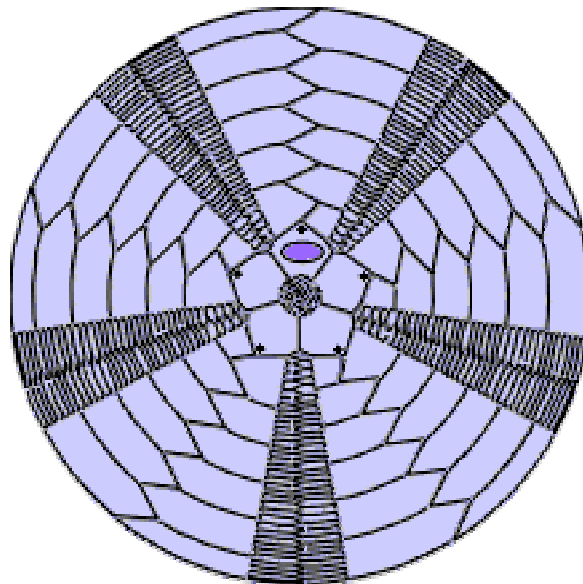


Fig. 2

Nesta altura não deverá haver qualquer dúvida sobre o sexo do animal, uma vez que o esperma tem um aspecto leitoso e os ovos uma coloração próxima do laranja (castanho ou amarelo, dependendo das espécies). Em todo o caso pode sempre fazer-se uma verificação com um microscópio.

O esperma deve ser recolhido “seco” com uma pipeta de pasteur (o contacto com água do mar activa os espermatozoides) e pode ser guardado no frigorífico até dois dias. Para recolha dos ovos deve inverter-se a fêmea e colocá-la sobre um copo, de dimensões mais pequenas que o seu diâmetro, cheio até cima de água do mar. Os ovos assentarão no fundo deste naturalmente. Após se ter retirado o excesso de água do mar, colocar o ovos numa proveta de 100 ml e ajustar o volume a 100 para calcular a percentagem de ovos. Como o espaço ocupado pelos ovos aumenta para cerca do dobro devido à água absorvida pela geleia dos ovos, deve considerar-se que a concentração obtida é metade do que se consegue ver na proveta. Os ovos devem agora ser diluídos a uma concentração de 0.1%.

Para evitar a polispermia, o esperma deve também ser diluído. Assim, uma pequena gota (digamos cerca de 2 mm no tubo da pipeta de pasteur) é diluída em 100 ml de água do mar e é esta a solução stock de fertilização.

Para observar a formação das membranas de fertilização, devem misturar-se numa lâmina duas pequenas gotas das suspensões de ovos e esperma e após a colocação da lamela fazer a observação ao microscópio. Mais tarde ver-se-á o núcleo do embrião centrar-se no ovo.

Se se pretender ir mais além na observação dos primeiros passos de desenvolvimento embrionário (divisão celular) então ter-se-á que esperar de 1 a 2 horas para a primeira divisão (dependendo das espécies e da temperatura de incubação), 24 horas para blástula, 48 horas para gástrula e 5 dias para o estado de pluteus. Tudo isto é possível de se observar se ovos em concentração inferior a 1% forem fertilizados com a correspondente quantidade de esperma e mantidos numa tina em que a água do mar não exceda a altura de 1 cm, para facilitar as trocas gasosas.

Se os ouriços não estiverem maduros, ainda é possível fazer uma boa experiência dissecando os animais e retirando com uma pipeta de pasteur os gâmetas directamente das suas gónadas.

Este artigo tem apenas por objectivo servir de guia inicial na planificação de uma aula diferente que porá, sem qualquer dúvida, muitas bocas abertas de espanto, e mostrar como é simples efectuar estas experiências. Não tem, portanto, o valor de um protocolo, apesar de

não ser necessário muito mais do que alguns detalhes para levar a bom termo esta aula sobre fertilização e desenvolvimento embrionário. Assim, informação detalhada sobre estes procedimentos pode ser encontrada com toda a facilidade em <http://www.stanford.edu/group/Urchin/contents.html>. Aqui todas, ou quase todas as dúvidas podem ser esclarecidas.

Espero ter contribuído para que alunos das ciências da vida tenham acesso a uma visão “por dentro” do que é, provavelmente, o mais belo fenómeno da natureza. Toda a gente deveria ter este privilégio.

Agradeço o convite que a Ordem dos Biólogos me endereçou e também ao Dr. João Gago pelas informações que me deu sobre as espécies portuguesas de ouriços do mar.