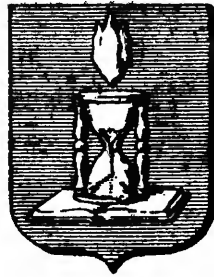


UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

BOLETINS DA FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS

XL

Biologia Geral Nº 5.



1944

Os Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, são editados pelos Departamentos das suas diversas secções.

Toda correspondência deverá ser dirigida para o Departamento respectivo da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras - Caixa Postal 105-B, S. Paulo, Brasil.

The "Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de S. Paulo" are edited by the different departments of the Faculty.

All correspondent should be addressed to the Department concerned, Caixa Postal 105-B, São Paulo, Brasil.

## UNIVERSIDADE DE S. PAULO

Reitor:

*Prof. Dr. Jorge Americano*

Diretor da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras:

*Prof. Dr. André Dreyfus*

Secretário:

*Luiz Pinto e Silva*

---

## DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL

Diretor:

*Prof. Dr. André Dreyfus*

1.º assistente:

*Dra. Rosina de Barros*

2.º assistente:

*Crodovaldo Pavan*

**Este Boletim foi impresso em  
papel doado pela Exma. Senhora  
Cícero da Silva Prado.**



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
BOLETINS DA FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS

XL

# BIOLOGIA GERAL N.º 5

ANDRÉ DREYFUS E MARTA ERPS BREUER

O SEXO NOS HIMENÓPTEROS ARRENÓTICOS

BIOLOGIA, DETERMINAÇÃO DO SEXO E CICLO CROMOSSOMICO  
DO MICROHIMENÓPTERO PARASITO *TELENOMUS FARIAI* LIMA.



S. Paulo — Brasil

1944



# O SEXO NOS HIMENÓPTEROS ARRENÓTICOS

BIOLOGIA, DETERMINAÇÃO DO SEXO E CICLO CROMOSSÔMICO  
DO MICROHIMENÓPTERO PARASITO *TELENOMUS FARIAI* LIMA.

ANDRÉ DREYFUS E MARTA ERPS BREUER

## I — DETERMINAÇÃO DO SEXO NOS HIMENÓPTEROS ARRENÓTICOS

	<i>Pág.</i>
1 — Introdução .....	7
2 — A teoria de Dzierzon .....	8
3 — Contrôlo do sexo pela fêmea .....	12
4 — Ciclo cromossômico nos himenópteros .....	13
a) espermatogênese .....	13
b) ovogênese .....	22
c) cromossomas nas células somáticas e sexuais .....	23
5 — Algumas considerações sobre a origem do tipo de espermatogênese e outros problemas da biologia dos himenópteros arrenóticos .....	27
6 — Novas idéias sobre a determinação do sexo nos himenópteros arrenóticos .....	32
a) generalidades .....	32
b) balanço gênico .....	33
c) história do <i>Habrobracon</i> .....	35
d) prova genética da diploidia dos machos .....	35
e) hipótese dos fatores complementares .....	36
f) hipótese da fecundação seletiva .....	37
g) hipótese da inversão sexual .....	41
h) hipótese dos fatores múltiplos .....	41
i) hipótese dos alelos múltiplos .....	42
j) o caso de <i>Pteromalus puparum</i> .....	44

## II — HISTÓRIA DA VESPA “TELENOMUS FARIAI”

1 — Introdução .....	44
2 — Material e técnica .....	52
3 — Unicidade ou dualidade dos machos e alguns aspectos da biologia de <i>T. fariai</i> .....	54
4 — Desenvolvimento de <i>T. fariai</i> .....	65
5 — Ciclo cromossômico de <i>T. fariai</i> .....	67
a) espermatogênese .....	67
b) ovogênese .....	72
c) fertilização .....	73
d) células somáticas .....	74
6 — Determinação do sexo em <i>T. fariai</i> .....	74
Sumário .....	77
Summary .....	86
Bibliografia .....	92
Legenda das figuras .....	99





# I — DETERMINAÇÃO DO SEXO NOS HIMENÓPTEROS

## ARRENÓTICOS

Faculdade de Filosofia  
Ciências e Letras  
Biblioteca Central

### 1 — Introdução

O interesse pelos himenópteros data da mais remota antiguidade. Aristóteles já havia suspeitado a partenogênese da abelha. Todo o capítulo IX, do livro III, do *Tratado da Geração dos Animais* é dedicado à reprodução das abelhas. Este capítulo começa da seguinte maneira: “É, portanto, difícil compreender a geração das abelhas. Se há algumas espécies de peixes que produzem seus descendentes sem cópula, tal parece também ser a maneira pela qual as abelhas se reproduzem”. O resto do capítulo mostra que Aristóteles não conseguiu destrinçar convenientemente o assunto, pois a origem das três categorias de indivíduos presentes na colmeia, a que chamou reis, abelhas e zangões, não fica satisfatoriamente explicada. Discute, para rejeitá-las, várias teorias sobre o assunto e conclue que as abelhas são, a um tempo, dotadas de atributos masculinos e femininos.

Segundo Aristóteles, as abelhas se multiplicariam através de um ciclo evolutivo complicado, pois os reis dariam, sem ter copulado, reis e abelhas; estas últimas dariam zangões e dêstes nada proviria.

Aristóteles já observára que, na ausência de reis, certas abelhas (isto é, as nossas operárias) se tornam férteis, pondo ovos dos quais derivam apenas machos.

Foi, no entanto, necessário esperar dois mil anos para esclarecer satisfatoriamente o problema da partenogênese. Deixemos de lado as observações ou experiências pouco rigorosas de Goedart (1667), de Saint-Blanchard (1696) e de J. P. Albrecht (1706) que haviam assinalado o desenvolvimento de ovos de borboletas, sem cópula prévia da fêmea (*Lucina sine concubitus*).

Réaumur, no tomo III das *Memórias* (1737) suspeitou que os pulgões se reproduzissem sem cópula. Foi, porém, seu discípulo, Charles Bonnet, que, em 1740, estabeleceu nos pulgões a realidade da partenogênese, seguindo um projeto de experiência imaginado por Réaumur. Consistiu simplesmente no isolamento de uma fêmea, desde seu nascimento, e na verificação da existência de descendentes provenientes desse animal isolado. Chegou a criar 10 gerações sucessivas de animais partenogenéticos, para responder à crítica de Trembley que acreditava na possibilidade de ser uma fecundação válida para várias gerações.

Esses resultados foram confirmados por Bazin, Lyonet e Trembley e pelo próprio Réaumur (tomo VI das Memórias — 1742).

Quanto à abelha, a descoberta de sua partenogênese foi, de fato, feita pelo abade Dzierzon, padre de Carlsmarkt, na Silésia. Sua teoria veio exposta num pequeno periódico de apicultura, o *Bienenzeitung* (vol. 1, 1845) e, em seguida, desenvolvida na obra de 1848: "Theorie und Praxis des neuen Bienenfreundes oder neue Art der Bienenzucht mit dem günstigsten Erfolge angewendet und dargestellt von Dzierzon". A teoria de Dzierzon foi, mais tarde, divulgada por von Sieboldt e por Leuckart. Von Sieboldt deu, então, uma definição de partenogênese que ainda hoje pode ser aceita: "fêmeas verdadeiras, isto é, indivíduos de órgãos sexuais femininos completamente desenvolvidos, dão ovos que, sem terem sido fecundados, são capazes de se desenvolver".

## 2 — A teoria de Dzierzon

Vejamos, rapidamente, em que consiste a teoria de Dzierzon. Todos os óvulos postos por uma abelha mestra, ou rainha, são semelhantes, ao saírem do ovário. Se forem fecundados, darão uma rainha ou uma operária; se não o forem, desenvolver-se-ão por partenogênese, dando um macho (zangão).

Sabe-se, hoje, que a diferença entre operária e rainha se deve apenas ao alimento fornecido à larva. A futura rainha é alimentada com "geleia real" que não é fornecida às futuras operárias. Estas são, pois, fêmeas, cujo desenvolvimento genital foi incompleto, verdadeiras castradas alimentares, com ovários muito reduzidos e receptáculo seminal completamente atrofiado. Quando a rainha é retirada da colmeia, então aparecem, em algumas raças, operárias férteis que chegam a pôr ovos, dos quais só provêm machos, fato, como vimos, já assinalado por Aristóteles. Jurine, em 1814, mostrou que as operárias são fêmeas com órgãos genitais atrofiados e, por isso, não podem copular. Em resumo, geneticamente falando, há, na colmeia, apenas duas classes de indivíduos, a saber: machos, ou zangões, e fêmeas que podem ser capazes (rainhas) ou incapazes (operárias) de copular.

Dzierzon teve ótimas razões para defender sua teoria. A verificação, por exemplo, de que a rainha virgem, seja por lhe termos cortado as asas, impedindo, assim, o "vôo nupcial", seja por ter asas mal conformadas que impedem esse vôo, põe ovos dos quais só nascem machos; ou, ainda, o nascimento somente de machos, quando a rainha é demasiadamente

velha, tendo-se-lhe, então, esgotado as reservas de espermatozóides; ou, finalmente, e como já dissemos, o fato das operárias, tornadas férteis, só darem machos, são argumentos a favor de Dzierzon.

A prova direta da teoria de Dzierzon só foi dada, no entanto, mais tarde. Von Sieboldt (1856) e, principalmente, Leuckart (1858) acreditavam ter visto espermatozóides móveis e vivos nos ovos destinados a dar operárias (que são postos nas menores células da colmeia) e não os encontraram nos que deviam dar machos (que provêm de células maiores que as das operárias, embora menores que as da rainha). E' pouco provável que tais observações tenham sido corretas, pois von Sieboldt fala de espermatozóides móveis em ovos postos há 12 e, mesmo, 15 horas, quando sabemos, hoje, que a transformação do espermatozóide em pronúcleo macho é, na abelha, muito rápida. Lembremos que Nachtsheim (1913) nunca viu espermatozóides não transformados dentro do ovo da abelha. Os autores que se seguiram a Leuckart e von Sieboldt, mostraram, porém, de modo inequívoco, a veracidade da teoria de Dzierzon. Assim, Paulcke (1899) viu 8 vezes, em 12, o espermatozóide nos ovos destinados a dar operárias e nunca em ovos (800) para machos, bem como em ovos provenientes de operárias. Petrunkevitch (1901) encontrou o espermatozóide em 90 ovos, dos 111 destinados a dar fêmeas, e uma única vez em 375 destinados a produzir machos. Kulagin (1901), em 100 ovos para machos, nunca viu espermatozóides. Nachtsheim (1913), num trabalho cuidadoso, viu o pronúcleo macho nos ovos destinados a dar operárias e nunca o viu nos ovos para zangões (examinou 200 ovos).

A teoria de Dzierzon foi o objeto de alguns ataques, não só quando de seu aparecimento, mas ainda mesmo mais tarde. Tais foram as ideias de Kipping e, sobretudo, de Dickel (apud Vandel) que acreditavam numa determinação epigâmica (isto é, após a fecundação) do sexo da abelha, em oposição à teoria de Dzierzon que, como vimos, é singâmica (o sexo está marcado no momento da fecundação). Pensaram êsses Autores, que todos os ovos seriam fecundados e que as três castas dependeriam das operárias (fosse do alimento, fosse de uma secreção especial das glândulas salivares), como é aceito por Dzierzon para a distribuição entre as duas castas femininas. Tais concepções foram refutadas, entre outros, por Buttell-Reepen, Bresslau, Nachtsheim, etc., e não apresentam hoje, maior interesse. Lembremos, no entanto, algumas belas provas indiretas da teoria de Dzierzon. Tais são as baseadas,

seja no estudo dos descendentes híbridos, seja nos ginandromorfos.

E' claro que os machos, sendo partenogenéticos, só podem herdar caracteres maternos, ao passo que as fêmeas, sendo biparentais, terão uma herança paterna e materna. Conhecem-se várias observações deste gênero, bastando lembrar as de Newell (1915) que fez cruzamentos recíprocos entre as raças italiana amarela e carniola cinzenta. Na primeira geração, as operárias são híbridas, ao passo que os machos são puros e de tipo exclusivamente materno. As fêmeas híbridas dão, a seguir, e como era de se esperar, 50 % de machos amarelos e 50 % de machos cinzentos. Mikailoff (1931) referiu uma mutação recessiva para olhos brancos. Rainhas heterozigotas de olhos pretos produziram igual número de zangões com olhos pretos e com olhos brancos.

Nesta altura, convém referir, entretanto, que o próprio Dzierzon cruzára uma fêmea alemã com um macho italiano, obtendo entre os machos, alguns com uma coloração amarela muito nítida, semelhante à do pai. Por isso, êle próprio duvidára de sua teoria. Fatos semelhantes foram observados, a seguir, por vários pesquisadores, especialmente por Lowe (1867), J. Pérèz (1878) e, mais recentemente, por Lucien Cuénot (1909). Vejamos os fatos referidos por Pérèz. Cruzando uma fêmea italiana com um macho francês, obteve fêmeas híbridas e vários tipos de machos. Assim, em 300 machos, encontrou 151 de tipo italiano, 66 de tipo mestiço, em vários graus, e 83 de tipo francês. Objetou-se a Pérèz, que a fêmea por êle utilizada não era pura, o que poderia explicar a existência de machos de tipo italiano e francês, porém, não os de tipo mestiço. Pérèz, aliás, defendeu-se dessa acusação. Quanto a Cuénot, cruzou uma abelha preta de tipo comum com um macho da raça americana *golden-bee*. A abelha *golden-bee* proviria, segundo Buttel-Reepen, da abelha italiana que difere da abelha comum, pela coloração amarelo-alaranjada dos dois primeiros segmentos abdominais e da base do terceiro, bem como por sua vilosidade menos sombria. Esta "raça" italiana proviria, por sua vez, do cruzamento entre uma raça egípcia e a abelha europeia. A abelha italiana seria, então, muito variável, o tipo *golden-bee* sendo um derivado americano dela. Dêsse cruzamento, obteve, Cuénot, operárias híbridas e machos de tipo materno. Havia, porém, 2 dêsses machos (num total de 300) que eram excepcionais, por terem o caráter paterno: faixas amarelas, e cerca de 12, também, com caracteres paternos, embora menos nítidos.

Discutiremos, adiante, o problema da haploidia e diploi-

dia dos machos dos himenópteros, especialmente à luz dos dados obtidos em *Habrobracon*. Veremos, então, que é perfeitamente possível que, de vez em quando, ocorram machos biparentais na abelha. Isto explicaria cabalmente êsses resultados em aparente contradição com a teoria de Dzierzon, a qual é, em primeira aproximação, perfeitamente correta, pois os machos diplóides, nos himenópteros, são animais excepcionais.

O estudo das abelhas ginandromorfas traz outra confirmação da teoria de Dzierzon. Os mais famosos dêsses ginandromorfos, isto é, animais apresentando regiões femininas alternando com outras masculinas, são os de Engster, apicultor de Constância, e que foram estudados por vários pesquisadores: von Sieboldt (1864), Boveri (1888, 1915), Mehling (1915) e Morgan (1916). Boveri já havia admitido (1888), que os ginandromorfos derivassem de uma fecundação parcial (atrasada), de sorte que o espermatozóide não se fundiria com o pronúcleo feminino, mas, sim, com um dos dois primeiros núcleos dele derivados. Teríamos, assim, um blastômero diplóide e outro, exclusivamente materno, haplóide. O primeiro daria as partes femininas; o segundo, as masculinas. Boveri e Mehling verificaram que as partes masculinas nos ginandromorfos de Engster, são do tipo italiano puro (materno), enquanto que as partes femininas apresentam caracteres híbridos. Temos, portanto, aqui, uma nova confirmação da teoria de Dzierzon.

A partenogênese da abelha é, portanto, facultativa, isto porque o óvulo se desenvolve quer tenha, quer não tenha sido fecundado, e arrenótoca (Leuckart, 1858), pois, dêsses ovos partenogenéticos só derivam machos. No presente trabalho, só serão levados em conta os himenópteros arrenótocos, ficando, portanto, de lado, os cinipídeos (cinipídeos galícolas) que apresentam partenogênese cíclica e certos fitófagos, grupo de himenópteros primitivos que, ao lado de partenogênese arrenótoca, também nos mostram partenogênese telítoca e deuterótoca. Por outro lado, conhecem-se hoje muitos *Terebrantes* que, em vez da habitual partenogênese arrenótoca, exibem uma partenogênese telítoca. Em alguns poucos aculetas também foi vista esta última forma de partenogênese, onde é, no entanto, ainda discutida. A partenogênese telítoca facultativa ocorre também em muitos ortópteros. Viu-se, tanto pela genética (usando fêmeas virgens heterozigotas para vários gens), como pela citologia, que os *Tettigidae* são haplóides. Nas células embrionárias há desde 7 até 14 cromossomas (número diplóide). Agora, os cromossomas dos

haplóides são, em corte transversal, duas vezes mais grossos do que os dos indivíduos  $2n$ . Por isso, pensou-se em regeneração por fissuração longitudinal. Robertson (1930) e Nabours (1930) acham que a condição diplóide é restaurada pela supressão da segunda divisão de maturação do óvulo e que os cromossomas grossos são díades persistentes nas células embrionárias, depois de uma partenogênese diplóide.

De todos os himenópteros, o mais estudado foi a abelha, sobre a qual há enorme bibliografia que, no presente trabalho, é deixada de lado. Os interessados consultarão E. F. Phillips (1903), Della Torre (1910) e Buttel-Reepen (1915). O tipo de partenogênese arrenótoca foi também observado em muitos outros himenópteros já desde muito tempo, como se pode ver, consultando os trabalhos de von Sieboldt (1871) relativos aos *Polistes*, e de Marchal (1896) sobre *Vespa*. Justifica-se, assim, a designação que lhe deu R. Hertwig (apud Vandel) de “partenogênese de tipo himenóptero”.

### 3 — Contrôlo do sexo pela fêmea

Interessante problema relativo à determinação do sexo dos himenópteros e, especialmente da abelha, deve ainda ser referido. Se os óvulos postos por uma rainha, tiverem seu sexo dependente do fato de terem ou não terem sido fertilizados, fica bem claro que, em última instância, o sexo vai depender dessa rainha. Se um espermatozóide puder passar da espermateca para o oviduto e fertilizar o óvulo, teremos uma fêmea; caso contrário, um macho, e é perfeitamente possível que esta passagem do espermatozóide da espermateca para o oviduto possa ser controlada pela fêmea. Já vimos que, na abelha, há 3 tipos de alvéolos e que a rainha põe, dentro de cada alvéolo, o óvulo que convém. Então, o sexo seria determinado pela “vontade” da fêmea.

Estudos cuidadosos foram feitos sobre o receptáculo seminal e o trato genital feminino de vários himenópteros. Há casos nos quais o receptáculo seminal é apenas uma evaginação da vagina. É o que se pode ver nos Tentredinídeos que são considerados como himenópteros primitivos (Boulangé — 1924).

É provável que, aqui, depois que a fêmea copulou, todos os ovulos sejam fertilizados. Só haverá ovos partenogenéticos, portanto, antes da cópula ou depois que a provisão dos espermatozóides tenha sido esgotada.

Nos demais himenópteros, o receptáculo seminal é, geralmente, um dispositivo muito complicado. Von Sieboldt (1843)

já mostrára que êste dispositivo pode ser dividido em 3 partes: 1) ductus seminalis; 2) capsula seminalis e 3) glandula appendicularis.

Os principais trabalhos sôbre a matéria são os de Leuckart (1858), Chershire (1885-86), Marchal (1896), Bresslau (1905) e, principalmente, a excelente monografia de Adam (1912).

Não faremos, aquí, uma descrição completa do assunto, mesmo porque o número de tipos encontrados é muito grande e pretendemos, mais tarde, tratar dele em particular, estudando-o, bem como a armadura genital da fêmea de *T. fariai*. Nas fêmeas dos apídeos, vespídeos e formicídeos é notável a existência de uma bomba espermática, mais ou menos complicada, que assegura, depois da cópula, o transporte dos espermatozóides para a bolsa espermática (receptáculo seminal), bem como o fornecimento de pequenos pacotes de espermatozóides, bem medidos, destinados à fecundação.

As vespas são um bom material, por mostrarem tipos de transição desde formas simples até complicadas.

#### 4 — Ciclo cromossômico nos himenópteros

Faculdade de Filo-  
Ciências e Let-  
Biblioteca, Cer

Uma vez admitido, como acabámos de ver, que os machos de abelhas, formigas e vespas derivam de óvulos partenogénéticos semelhantes aos que devam dar fêmeas, após terem sido fertilizados, decorre que o ciclo cromossômico desses animais deve compreender, salvo a hipótese pouco provável de uma regulação cromossômica nos ovos partenogénéticos, machos haplóides e fêmeas diplóides. Daí a mais interessante particularidade desse ciclo cromossômico, particularidade já assinalada por nós: machos haplóides deverão apresentar uma espermatogênese aberrante, afim de conservar esse número haplóide em seus espermatozóides. Estudaremos, por isso, mais detidamente a espermatogênese do que o resto do ciclo.

a) Espermatogênese — Sendo os machos dos himenópteros oriundos de ovos partenogénéticos e, por isso, provavelmente haplóides, era natural que o estudo de sua espermatogênese despertasse interesse; a meiose já era previsível, a priori, como muito especial.

Realmente, machos haplóides deverão produzir espermatozóides também haplóides, os quais, unidos a óvulos haplóides, darão fêmeas diplóides. Eis, porque, já em 1903-04 procurou Meves desvendar a espermatogênese da abelha. Foi, porém, em 1907, que esta questão poudeser por êle bem es-

clarecida. As observações de Meves, hoje clássicas, são bem conhecidas. Meves verificou que as duas divisões de maturação são ambas observadas, porém, diferem do tipo normal. Na primeira divisão, forma-se um fuso anormal que acaba sendo unipolar. A membrana nuclear não desaparece e um fragmento citoplasmático, que Meves comparou a um glóbulo polar (mas, que difere de um verdadeiro glóbulo polar por não ter núcleo), se destaca. Temos, assim, que o espermátócito de 1.<sup>a</sup> ordem se divide em um pequeno brôto que degenera, e uma célula que fica com toda a cromatina do espermátócito I e que merece o nome de espermátócito de 2.<sup>a</sup> ordem. Segue-se a segunda divisão que é uma mitose normal, quanto à cromatina, pois cada cromossoma se divide longitudinalmente em dois. É, porém, muito especial, quanto ao citoplasma, pois um dos núcleos filhos fica com todo ou quase todo o citoplasma (espermátide); o outro, que Meves compara, com razão, a um segundo glóbulo polar, acaba degenerando. Meves diz o seguinte: “Die erste Knospe ist eine stark rudimentäre Spermatocyte 2. Ordnung, die zweite eine abortive Spermátide”. Temos, assim, que, de um espermátócito de 1.<sup>a</sup> ordem deriva uma única espermátide e, portanto, um único espermatozóide, em vez de quatro, como acontece geralmente e exatamente, como é a regra, na ovogênese. Isso foi bem evidenciado por Meves que começa seu trabalho de 1903, da seguinte maneira: “Für die Vergleichung der Ei- und Samenreifung ist es nun von grösstem Interesse, dass, wie ich gefunden habe, im Hoden der Honigbiene und der Hummel die Reifungsteilungen auch äusserlich nach Art der Richtungskörperbildung verlaufen. Die Spermatocyten 1. Ordnung bei den genannten Hymenopteren stossen ebenso wie sonst die Eier bzw. Ovocyten 1. Ordnung nach einander zwei “Richtungskörper” aus, von diesen besitzt jedoch nur der zweite einen Kern, während der erste ausschliesslich von Cytoplasma gebildet wird”.

Fica bem claro que o fato mais importante é a existência de uma primeira divisão abortada, e, por isso, a conservação, nas células maduras, do número ~~diploide~~ (16, segundo Meves) de cromossomas existente nas espermatogônias.

Chamaremos **tipo abelha** a essa espermatogênese (fig. 72), da qual resulta um único espermatozóide, a partir de um cito de 1.<sup>a</sup> ordem.

Em alguns outros himenópteros, foi também observada uma espermatogênese semelhante, em seus traços gerais, à da abelha. Tais são **Bombus**, estudado por Meves (1904); **Xylocopa violacea**, estudada por Granata (1909, 1913) e,



muito provavelmente, *Osmia cornuta*, estudada por Armbruster 1913b). Emquanto que Granata confirma integralmente, nos seguintes termos, a descrição de Meves: “La maturazione delle cellule seminale maschile di *Xylocopa violacea* L. si compie in modo analogo a quello descritto da Meves per l’ape”, Armbruster mostra que, em *Osmia*, a segunda divisão dá origem, como na abelha, a duas células desiguais: “Die Teilstücke sind ungleich durch ausserordentlich verschiedenen Plasmagehalt”, mas não haveria expulsão do broto citoplasmático anucleado: “Die Abschnürung einer kernlosen Protoplasmaknospe (“1 Richtungskörper”) ist hier nicht sicher, eher unwahrscheinlich”. Os interessantes achados de Meves, na abelha, foram confirmados e completados por Doncaster (1906, 1907b), Mark e Copeland (1906) e Nachtsheim (1913). Em princípio, concordam todos com Meves, havendo, porém, pequenas divergências, além de novas particularidades observadas. Entre as primeiras, citaremos o fato de Doncaster nem sempre ter visto a eliminação do broto anucleado (tal como Armbruster, em *Osmia*!). Diz êle: “but in some of my preparations I have failed to find this bud, and I am inclined to believe that it is not always formed”.

A importância do conhecimento da espermatogênese nos himenópteros deu origem a muitos outros trabalhos. Viu-se, então, que um segundo tipo pode ser encontrado, provavelmente menos diferenciado que o tipo abelha, acima descrito. Podemos chamá-lo tipo vespa (fig. 73), e é mais frequente do que o primeiro. Caracteriza-se por ter a segunda divisão de maturação de tipo normal, conduzindo à formação de duas espermátides iguais e, portanto, a dois espermatozóides funcionais. A primeira divisão dá-se como na abelha, isto é, há expulsão de um broto citoplasmático anucleado. É, portanto, claro, haver aqui, também, ausência de meiose. O número haplóide de cromossomas da espermatogônia é conservado e é o encontrado nos espermatozóides. A única divisão aqui observada é, como no tipo abelha, uma mitose do tipo somático, conduzindo, porém, a dois espermatozóides iguais. O citoplasma também é igualmente repartido, emquanto que no tipo abelha fica quasi completamente concentrado em torno de um dos núcleos. Pertencem a este tipo os seguintes himenópteros: *Vespa germanica* (Meves, 1904), *Vespa maculata* (Mark e Copeland, 1907), *Vespa crabro* (Meves e Duesberg, 1908), *Camponotus herculeanus* (Lams, 1908), *Paracopidosomopsis floridanus* (Patterson e Porter, 1917; Patterson e Hawlett, 1925) e *Habrobracon juglandis* (P. W. Whiting, 1918, A. R. Whiting, 1927; Torvik-Greb, 1935). Meves assim descre-

veu o que se vê na vespa: “Die erste Reifungsteilung verläuft hier ähnlich wie bei der Biene und Hummel als ein Knospungsprozess, durch welcher die Abtrennung eines Cytoplasmaballens bewirkt wird; die zweite Reifungsteilung dagegen führt zur Bildung zweier gleichgrosser und gleichbeschaffener Tochterzellen, die sich beide zu Spermien umwandeln”.

A-pesar-de, no presente trabalho, não nos preocuparmos com o complicado problema do ciclo cromossômico e determinação do sexo nos cinipídeos, lembraremos que Doncaster (1910, 1911, 1916) em *Neuroterus lenticularis* e Wieman (1915) em *Dryophanta erinacei* viram que a primeira divisão maturativa é também substituída pela emissão de um brôto citoplasmático anucleado, ao passo que a segunda divisão é normal, conduzindo a dois espermatozóides por cada cito de 2.<sup>a</sup> ordem. E' interessante que Wieman tenha chegado à conclusão de que tanto os machos, como as fêmeas de geração bissexuada são haplóides: “However the facts at hand do suggest that the males and females of the bisexual generation of *Dryophanta* develop from eggs whose chromosomes have undergone reduction in maturation”. Quanto ao assunto que nos interessa, escreve Wieman: “A true primary spermacyte division does not occur. Instead, a small mass of cytoplasm free of chromatin is constricted off, forming the so-called polar body”.

Seja-nos ainda permitido recordar que, em alguns hime-nópteros primitivos (*Phytophaga*), a espermatogênese, a-pesar dos trabalhos de Doncaster (1907a, 1909) e de Peacock (1925), permanece ainda obscura. Segundo Doncaster, há em *Pteronidea* (*Nematus*) duas divisões de maturação do tipo comum. A primeira sendo reducional, as espermatogônias teriam 8 cromossomas e as células reduzidas, apenas 4. São dele as seguintes palavras: “In the spermatogenesis there are eight chromosomes in spermatogonial divisions; four “gemi-ni” appear at the beginning of the meiotic phase, and by heterotype and homotype mitoses distribute four chromosomes to each spermatid”. Peacock aceita que se deem duas divisões; seriam, porém, ambas equacionais. Os 8 cromossomas persistiriam durante toda a espermatogênese. Tal número, para Peacock, seria o número haplóide, ao contrário do que pensa Doncaster que, tendo visto 8 cromossomas na fêmea, julga ser êsse o número diplóide. Doncaster viu, ainda, que certos óvulos conservam seus 8 cromossomas (por duas divisões equacionais), ao passo que outros, possivelmente destinados a serem fecundados, reduzem êsse número pa-

ra 4. Peacock concorda em que as duas divisões dos citos sejam regulares: "No abnormal methods of cell division such as described in the spermatogenesis of the hive bee and hornet by Meves and others have been discovered". Considera, porém, 8 como número haplóide de *Nematus ribesii* e o observa em todos os machos, qualquer que seja sua origem. Vê-se, pois, que a única conclusão provisória que se pode apresentar, relativamente à origem do estranho tipo de espermatogênese observado nos himenópteros, é ser ela possivelmente originada de uma espermatogênese normal, em um animal provavelmente haplóide. Ambas as divisões ter-se-iam, então, tornado equacionais (Peacock). Mais tarde, **tipo vespa**, a primeira divisão foi substituída por uma meiose abortada, a segunda, sendo normal, para finalmente chegarmos no **tipo abelha**, ao aborto, também, de uma das células derivadas da segunda divisão, por falta de citoplasma em torno de um dos núcleos. Quanto às outras modificações observadas durante essas duas divisões, os autores estão geralmente de acordo, embora divergindo, como vimos, em pequenos detalhes no que toca à expulsão do brôto (Doncaster, Armbruster).

Quasi todos os autores admitem que o mesmo número de cromossomas observado nas espermatogônias, seja mantido nos espermatozóides que seriam, portanto, haplóides como as gônias. Precedendo ou acompanhando a expulsão do broto citoplasmático, equivalente à primeira divisão de maturação, são descritos fenômenos para o lado da cromatina, indicando uma organização desse material em cromossomas, em número haplóide. Ao mesmo tempo, são observados fenômenos indicadores de uma meiose abortada, como, por exemplo, o aparecimento de um semi-fuso no citoplasma, semi-fuso cujo centríolo está no polo oposto àquele em que se dá a expulsão do broto citoplasmático. A membrana nuclear não desaparece durante essa expulsão. Outras vezes, fusos intranucleares são descritos. Quanto à segunda divisão, é considerada como equacional, tanto no **tipo abelha**, como no **tipo vespa**, ocorrendo em ambos (quanto aos fenômenos nucleares) da mesma maneira. Dá-se imediatamente depois da mitose abortiva, ou após um pequeno repouso (diferindo, segundo os animais estudados). Essa segunda divisão pode ocorrer sem que haja a dissolução da membrana nuclear que, no entanto, habitualmente desaparece. Finalmente, nos vários himenópteros encontram-se descrições relativas à persistência de restos dos fusos "Spindelrestekörper" das várias divisões, desde as divisões das gônias, unindo

as células umas às outras e em cuja formação o condrioma parece ter um papel saliente.

Sobre o número e o comportamento dos cromossomas na espermatogênese dos himenópteros, bem como sobre os assuntos que acabámos de expôr, há extensa bibliografia, da qual nos permitiremos transcrever algumas opiniões.

Doncaster que inicialmente (1906) descrevera, na abelha, 8 cromossomas na anafase do cito I, reconheceu em **Correction** (1907) que há, realmente, 16 cromossomas, o que concorda com Meves e Mark e Copeland. Acha que os 8 cromossomas descritos por Petrunkewitsch (1901 e 1903) na ovogênese da abelha e que, segundo este Autor, se “dividiriam” em 16, já eram 16.

Meves e Duesberg (1908) em *Vespa crabro* descrevem a formação dos cromossomas a partir do nucléolo, nos seguintes termos: “Das Herannahen der ersten Reifungsteilung macht sich dadurch bemerkbar, dass im Kern in der Umgebung des grösseren Nukleolus immer mehr Chromatinkörner auftreten. Der Nukleolus selbst wird dabei immer kleiner. Man gewinnt den Eindruck, dass seine Substanz in diejenige der Chromatinkörper übergeht”.

Lams (1908), na formiga, estudou especialmente o período de crescimento e as duas divisões de maturação. As células são agrupadas em cistos, na extremidade dos tubos seminiais. O núcleo é sempre periférico e as extremidades afiladas do citoplasma olham para o centro do cisto. “Spindelrestekörper” coráveis em roxo pelo Benda (condrioma), ligam até tarde, essas células umas às outras. Durante o período de crescimento, surgem os cromossomas. Surgem ainda os centríolos e, presos a êles, pequenas vesículas que também se vêem na abelha e na vespa, vesículas que se salientam para fóra da célula. Por uma constrição se dá o destacamento da extremidade afilada, sem que se vejam aí os grânulos que Meves e Duesberg descreveram na vespa. O broto citoplasmático desaparece muito rapidamente. Na vespa, forma-se um semi-fuso muito nítido e os cromossomas ficam espalhados entre os fios do semi-fuso. Na formiga, as transformações do núcleo são menos complicadas. Não foi observado um semi-fuso que regredisse depois, durante o brotamento.

Em *Xylocopa violacea*, segundo Granata (1909), as espermatogônias são células pequenas, fusiformes, com uma parte afilada que converge para o centro do cisto. As gônias apresentam divisões e, depois, um período de repouso, durante o qual adquirem forma arredondada, embora permaneçam unidas por restos de fuso. Surgem muitos centríolos

com vesículas extra-celulares. Assistimos, agora, à maturação, pois dois dos três centríolos (os principais) ficam em polos opostos da célula e, o terceiro centríolo, numa posição intermediária. Dos centríolos partem fios que se continuam com os do citoplasma. A cromatina é, agora, constituída por fios duplos, isto é, por cromossomas. A célula se alonga na zona de um dos centríolos, e o núcleo se desloca para o centríolo do polo oposto.

Em resumo, temos um semi-fuso que parte do primeiro centríolo e cromossomas nítidos dentro do núcleo. O núcleo conserva sua membrana e se torna oval. Enquanto isso, os cromossomas se dirigem para o equador do núcleo. Há, então, eliminação de um glóbulo de citoplasma. Esse glóbulo leva consigo um centríolo principal, vários secundários e o corpo cromatóide. O glóbulo tem um tamanho sensivelmente constante. Os cromossomas que estavam reunidos no equador do núcleo, sofrem, agora, uma espécie de esfarelamento e a cromatina é deslocada para o centríolo principal, sempre bem evidente. Desaparece, então, a membrana nuclear. Ao começar a segunda divisão, os cromossomas readquirem a irradiação, vão novamente para o equador e um novo fuso se forma, cujos filamentos, ao contrário do que viu Meves na abelha, são unidos nas duas extremidades a dois centríolos. A divisão começa normal, mas na anafase o fuso se alonga. Forma-se uma saliência, em relação à qual o citoplasma se desloca e se separa da célula para dar o segundo glóbulo polar. Voltando ao repouso, o centríolo da célula-mãe volta à periferia e readquire uma vesícula, enquanto que a cromatina do glóbulo forma uma massa irregular. O número de cromossomas das espermatogônias, 16, passa sem redução para os citos e para a espermátide.

Doncaster (1910-11-16), no já citado cinípideo *Neuroterus*, descreveu minuciosamente os fenômenos relativos às divisões de maturação, especialmente quanto ao comportamento bastante complicado dos 10 cromossomas. Conclui, em resumo, haver aqui, o equivalente de uma "intranuclear karyokinesis", que compara à descrita por Kostanecki (1904) no ovo partenogênético de *Mactra*.

Armbruster (1913), na espermatogênese de *Osmia*, viu 16 cromossomas, durante o período de crescimento. Esses cromossomas, a princípio em forma de bastonete, tomam, depois, a forma de grânulos e 8 deles vão para o glóbulo, 8 para a espermátide. Haveria, pois, uma redução de 16 cromossomas do cito I, para 8 da espermátide. Mas, em seguida, analogamente ao que foi visto por Petrunkevitch na ovogênese,

êsses 8 passariam novamente a 16. Assim se exprimiu Armbruster (1913) sôbre o assunto:

“Es treten ungefähr 16 Chromosomen in die Teilung, ungefähr 16 weisen auch die Tochterplatten auf”.

“Eine Gruppierung zu je von 2 vor dem Auseinanderücken ist in den meisten Fällen zu konstatieren.

Von den 16 Chromosomen rücken bei der Kernteilung je 8 auseinander in die Teilstücke.

Die Teilstücke sind ungleich durch ausserordentlich verschiedenen Plasmagehalt”.

“Die Abschnürung einer kernlosen Protoplasmaknospe (“Richtungskörper”) ist hier nicht sicher eher unwahrscheinlich”.

“Die bisherigen Angaben über die Natur der Kernteilung bei der Samenreife von Apis, Camponotus, Xylocopa sind zu ergänzen bzw. zu revidieren”.

“Wenn man bei der Eireifung und Befruchtung gleiche Verhältnisse wie bei A. mellifica voraussetzt, ist die Reduktion der schon reduzierten Chromosomenzahl bei der Samenreife zu verstehen”.

Essa opinião de Armbruster-Petrunkewitsch é geralmente contestada. Assim, Granata (1913), em *Xylocopa*, admite que a cromatina forma uma espécie de espirema, provavelmente descontínuo, que se resolve em cromossomas, nos quais se vê, desde logo, uma fenda. Mais tarde, os cromossomas se condensam e a fenda desaparece, para reaparecer na metafase. Conta, então, 16 cromossomas, número também observado na gônia. Concorda, pois, com o que viram Meves, Nachtsheim, e ainda Mark e Copeland e Doncaster na abelha, bem como Lams, na formiga. Como as díades se podem aproximar muito e simular tétrades, se explicariam os erros de Petrunkewitsch na ovogênese da abelha e de Armbruster na espermatogênese de *Osmia*.

Segundo Nachtsheim (1913), na abelha o número haplóide de cromossomas é 16. Concorda com Meves, admitindo que as espermatogônias têm 16 cromossomas. Um pouco antes da 1.<sup>a</sup> divisão de maturação, os 16 cromossomas do espermátócito se dividem, dando 16 díades, ou, às vezes, 8 tétrades. Na segunda divisão de maturação, estas 16 díades se separam, dando 16 cromossomas simples para cada lado. Veremos que, na ovogênese, as cousas, segundo Nachtsheim, se complicam, por causa dos cromossomas compostos “Sammelchromosomen” que aquí não existem: “Da in den männlichen Geschlechtszellen keine Sammelchromosomen gebildet werden, weisen die Spermatogonienteilungen ebenfalls 16 Chro-

mosomen auf”, e ainda: “Übrigens zeigen auch die Chromosomen der männlichen Geschlechtszellen vielfach die Tendenz, im Laufe der Spermatocytenteilung paarweise sich zu vereinigen. In der Anaphase der zweiten Spermatocytenteilung zählt man häufig nur acht Chromosomen in jeder Polplatte, bei den meisten zeigt jedoch eine genauere Untersuchung, dass sie aus je zwei Chromosomen zusammengesetzt sind”.

Patterson e Porter (1917), em **Paracopidosomopsis**, admitem um período de crescimento, antes da primeira divisão de maturação, caracterizado pela presença de um nucléolo conspícuo e excêntrico e, também, por inclusões citoplasmáticas hematoxilínófilas que depois desaparecem. Viram, ainda, conexões entre as células, os “interzonal body”, já descritos por outros autores, os quais podem permanecer, em algumas células, durante todo o crescimento, ou desaparecer, em outras células. A seguir, as células mostram um prolongamento como o que foi visto por Meves, na abelha. Sua formação seria devida à presença de um centríolo “Hauptzentrionen”, originado da divisão do centrossoma da célula. Este prolongamento retorna à célula e, então, um dos muitos centríolos secundários “Nebenzentrionen”, derivados da divisão do centríolo primário, participa na formação da figura mitótica responsável pela formação do “polar-body”. A eliminação desse broto citoplasmático se dá, então, do lado da célula, por onde teve ela sua última conexão. No núcleo formam-se cromossomas, derivados do nucléolo, como foi visto por Meves e Duesberg, em **V. crabro**. No entanto, em **Paracopidosomopsis**, o nucléolo desaparece à proporção que os cromossomas se formam, não havendo o pequeno corpo que, entretanto, permanece na vespa. Forma-se um fuso intranuclear e os cromossomas tendem a ir para o equador. Segue-se a divisão abortiva com 2 centríolos, e um broto citoplasmático é eliminado. Nada de comparável com sinapsis de cromossomas, foi observado. Durante a evolução que acabámos de descrever, é observável um fuso intranuclear incompleto, com conservação da membrana nuclear que depois desaparece, bem como as fibras radiadas do broto. Ao contrário, o aster que ficou no citoplasma, persiste e se divide, provavelmente para dar 2 centríolos. Há um período de repouso bem definido, entre as duas divisões, durante o qual os cromossomas se aglomeram. Nisso se parecem com **Neuroterus** e diferem da abelha e da vespa. Vemos, então, um conspícuo fuso de maturação e os cromossomas, reorganizados, são levados para

o equador. As duas espermatídes ficam, durante algum tempo, ligadas por fibras interzonais.

Para Torvik-Greb (1935), as gônias formam rosetas, algumas pequenas, outras maiores. Há período de crescimento e as células <sup>que vão</sup> ~~que vão~~ apresentar mitose abortiva, tem a forma de pera. Os cromossomas surgem como fios, perto da membrana nuclear, e depois se condensam como se preparassem para a divisão: "The chromatin bodies, no doubt condensing chromatine threads, develop into chromosomes which first appear near the nuclear wall, and then condense as if in preparation for the division. Meanwhile, a small bud has been cut off at the narrow end of the pearshaped cell. This bud, which is purely cytoplasmic soon degenerates.

The chromosomes then lengthen into threads but soon condense again and travel to the center of the nuclear mass. The nuclear membran has now desappeared and the chromosomes remain at the center of the cell where they immediately become aligned on a metaphase plate for the second meiotic division.

In the second spermatocyte division the cytoplasm divides equally and each chromosome divides".

Em resumo, há acordo entre os autores em reconhecer dois tipos principais de espermatogênese nos himenópteros arrenótocos: o **tipo abelha** (fig. 72), dando origem a um espermatozóide por espermatócito I, e o **tipo vespa** (fig. 73) que dá origem a dois espermatozóides. Tais tipos diferem do tipo comum, onde se formam 4 espermatozóides por espermatócito I (fig. 71). Em qualquer dos dois casos, o número haplóide de cromossomas, observado na gônia, é preservado no espermatozóide.

**b) Ovogênese** — Já em 1889, Blochmann havia verificado a emissão de dois glóbulos polares na abelha. Em seguida, muitos autores estudaram a ovogênese nos himenópteros arrenótocos (em *Lasius*, Henking, 1892; em *Apis*, Petrunkevitch, 1901 e Phillips, 1903; em *Litomastix*, Silvestri, 1906a; em *Encyrtus*, Silvestri, 1906b, 1909, 1915; em *Formica*, Schleip, 1908; em *Oophthora*, Silvestri, 1909; em *Apis*, Nachtsheim, 1913; em *Copidosoma*, Silvestri, 1914; em *Encyrtus*, Martim, 1914; em *Anaphoidea*, Silvestri, 1915; em *Encarsia*, Silvestri, 1915; em *Platygaster*, Silvestri, 1916; em *Paracopidosomopsis*, Patterson, 1917, 1921; em *Copidosoma*, Leiby, 1922; em *Platygaster*, Leiby e Hill, 1923, 1924). Viram que ela se dá de modo absolutamente normal: a ovogônia apresenta número diplóide de cromossomas e após as duas divisões de maturação, o núcleo do óvulo é haplóide. Por vezes,



não há glóbulos polares, no sentido habitual, pois o óvulo apresenta no seu interior os 4 núcleos provenientes das duas divisões (*Litomastix*, *Paracopidosomopsis*, *Habrobracon*). Os fenômenos nucleares da meiose são, porém, mesmo neste caso, perfeitamente regulares. Dois dos núcleos dela resultantes, se fundem para dar o núcleo polar, origem das células nutritivas do embrião (trofâmnio), enquanto que o 3.º degenera. O 4.º núcleo é, evidentemente, o núcleo do óvulo.

Como já vimos, Doncaster considera *Nematus ribesii* uma exceção. A respeito de sua origem, escreve o seguinte: "In the polar mitoses of the egg two types of maturation are found. In some eggs there are successive equational divisions so that the egg nucleus and each of the three polar nuclei contains eight chromosomes. In other eggs normal reduction takes place, separating entire chromosomes from one another, and only four are found in each of the daughter nuclei". A significação desse estranho fato, já referido por nós, é, a seguir, dada nos seguintes termos: "It is probable that only such reduced eggs are capable of fertilisation, but when unfertilised they may continue to develop at least as far as the blastoderm stage". Assim, se explicaria como, segundo Doncaster, tanto nas células somáticas dos dois sexos, como na maturação, haveria sempre 8 cromossomas. Já vimos que a existência desses 2 tipos de maturação, na ovogênese de *Nematus ribesii*, precisa ser comprovada, pois Peacock, em *Pteronidea (Nematus) melanopsis*, conclue pela haploidia dos machos, os quais em *N. ribesii* seriam, segundo Doncaster, diplóides. O problema do número dos cromossomas e dos "Sammelchromosomen" na ovogênese, será discutido adiante.

c) **Cromossomas nas células somáticas e sexuais** — Grandes dúvidas persistem, até hoje, quanto ao número de cromossomas das células somáticas dos **himenópteros**. Referiremos, aqui, só os dados mais importantes.

Desde muito tempo se havia observado que, se considerarmos como número diplóide, o observado nas ovogônias (o das espermatogônias, sendo o haplóide), é comum haver células somáticas com muito maior número de cromossomas do que o das gônias.

Não nos devemos espantar com isso, pois, em muitos outros metazoários, fatos semelhantes têm sido descritos desde muito tempo. São as chamadas "fragmentações ou fraturas cromossômicas", admitidas por tantos velhos citologistas e, hoje, interpretadas antes como polissomia ou poliploidia. Isto porque se sabe hoje que um fragmento cromossômico sem centrômero se perde no decurso das divisões celulares succes-

sivas (Painter e Müller, 1929; Dobzhansky, 1930; Nawashin, 1932). Poder-se-ia, ainda, admitir que nos himenópteros existem cromossomas compostos, como foi visto por Boveri na *Ascaris megalcephala* (1892, 1899, 1909) e confirmado por diversos autores em alguns outros casos: em três outras espécies de *Ascaris*, por Meyer (1895) e, também, em *A. lumbricoides*, por Bonnevie (1902); na mosca *Miastor*, Kahle (1908), Hegner (1912), bem como em *Dytiscus*, Giardina (1901) e em alguns lepidópteros (*Phragmatobia*, *Orgyia* e *Limantria*), Seiler (1914). Ou, então, seria ainda possível que os cromossomas da linhagem seminal apresentem centrômero difuso, como foi admitido por Schrader (1935) e por Hughes-Schrader e Ris (1941). Em qualquer destes últimos casos, podem ser observadas fragmentações, sem perda obrigatória dos fragmentos.

Muitos trabalhos referentes a himenópteros, procuraram esclarecer este problema, mas a-pesar disso e, especialmente do trabalho de Nachtsheim (1913), ainda não foi definitivamente resolvida a matéria, para nós, aliás, de pouca importância. Assim, Armbruster diz: "Die somatische Chromosomenzahl ist viel groesser als die der Keimbahn". Wieman, escreve: "In the somatic cells of both males and females one occasionally finds mitotic figures containing a much larger number of chromosomes, but such cases are in the nature of exceptions and no one could contend that they represent an average condition". Granata, nas grandes células foliculares da parede dos cistos espermáticos, fala em cromossomas numerosíssimos. Petrunkevitch viu no fuso de maturação do óvulo da abelha, 8 tétrades e esse mesmo número é o que observou nos ovos maduros. Acredita haver 16 cromossomas na abelha, tanto nas ovogônias, como nas espermatogônias, pois no óvulo partenogenético o número de cromossomas que é de 8, se desdobrando, dá 16. Conta cerca de 60 cromossomas nas células blastodérmicas dos folículos. Doncaster escreve: "In the oogenesis eight chromosomes appear in oogonial mitoses but in divisions of nuclei in the ovary sheat more than eight are formed, suggesting that the chromosomes of the germ cell are compound". Whiting e Beukert dizem: "Somatic cells of males or of females may contain two, four or eight sets of homologues rather than fragments of the original eight chromosomes".

Convém, nesta altura, esclarecer melhor as ideias de Nachtsheim que retomou o trabalho de Petrunkevitch sobre o ciclo cromossômico da abelha, único himenóptero no qual, até hoje, este estudo foi feito de modo aproximadamente com-

pleto. O fato, talvez mais importante, evidenciado por Nachtsheim é a possibilidade de, em certas células, se acolarem os cromossomas 2 a 2, formando aquilo a que chama cromossomas compostos "Sammelchromosomen", simulando, assim, haploidia, em células diplóides. Para Nachtsheim, na abelha, o número haplóide é 16, o diplóide, 32. Já descrevemos a espermatogênese e vimos que os 16 cromossomas das células sexuais se dividem uma só vez, dando 16 díades (às vezes, 8 tétrades) e se distribuem, de tal modo, que cada uma das duas células finais (espermatozóide ou espermátide que aborta) recebe 16 cromossomas.

Na ovogênese, as ovogônias têm aparentemente 16 cromossomas (que correspondem a 32 cromossomas simples). Na primeira divisão de maturação passam 8 para cada lado, havendo, pois, redução. Na segunda divisão, cada um desses 8 elementos se divide (divisão equacional), passando 8 para o 2.º glóbulo polar e 8 para o óvulo. Esses 8 cromossomas do óvulo são, porém, duplos, como se pode ver por ocasião da primeira segmentação do óvulo virgem, no qual podemos contar 16 cromossomas (simples). Em conclusão, o óvulo partenogênético e o macho dele derivado têm 16 cromossomas, o óvulo fecundado e a operária, ou rainha, dele proveniente, 32.

Em resumo, o número 16 (haplóide) aparece na primeira divisão de maturação (abortiva) e também pode aparecer na segunda. No entanto, frequentemente a segunda divisão só parece mostrar 8 cromossomas. Eis, porque, sendo de regra, na ovogênese, essa reunião de cromossomas, nela observamos 8 "tétrades" (seriam, na verdade, "duplas-tétrades"). O número 16 é realmente o haplóide, como é provado por ser êle o observado (às vezes) no gameto masculino e nos blastodermas masculinos futuros. Armbruster, em *Osmia*, viu, também, uma condição semi-haplóide semelhante à que foi descrita na abelha. Transcreveremos, a seguir, o resumo do próprio Nachtsheim:

"Die bisherigen Widersprüche in den Angaben über die Chromosomenzahlen bei der Honigbiene (Petrunkevitch-Meves) sind darauf zurückzuführen, dass es Petrunkevitch entgangen war, dass die Chromosomen der Reifungsteilungen Sammelchromosomen darstellen, die nach der Reifung in den befruchteten wie in den unbefruchteten Eiern wieder in Chromosomen von niedrigerer Wertigkeit zerfallen.

"In die erste Richtungsspindel des Eies treten acht Tetraden ein, in der zweiten Richtungsspindel zählt man in der Äquatorialplatte acht Dyaden, auf den gereiften Eikern kommen acht Chromosomen, die aber zweiwertig sind und regel-

mässig vor der Furchung in einwertige Elemente zerfallen. Die Furchungsspindeln der unbefruchteten Eier enthalten daher 16, die der befruchteten 32 Chromosomen. Dieselben Chromosomenzahlen (16 bzw. 32) konstatiert man gewöhnlich in den Blastodermispindeln. Die normale Chromosomenzahl der Honigbiene ist demnach 32, die reduzierte also 16. Ausserdem kommen aber noch mehr - bzw. geringerwertige Chromosomen vor, und zwar die Chromosomenzahlen 8, 32 (in unbefruchteten Eiern) und 64.

Mehrwertig sind die Chromosomen der weiblichen Geschlechtszellen, und zwar erfolgt die Chromosomenkoppelung in diesen bereits auf einem sehr frühen Stadium. In den Oogonienteilungen finden wir 16 zweiwertige Chromosomen. Da in den männlichen Geschlechtszellen keine Sammelchromosomen gebildet werden, weisen die Spermatogonienteilungen ebenfalls 16 Chromosomen auf. Dass aber jedes Chromosom der Oogonienmitosen tatsächlich die doppelte Wertigkeit eines Chromosoms der Spermatogonienmitosen besitzt, geht aus dem späteren Verhalten der beiden Chromosomen, speziell bei der Befruchtung, unzweideutig hervor: ein Spermakern mit 16 Chromosomen vereinigt sich mit einem Eikern mit acht Chromosomen, die allerdings dann zu Beginn der Furchung ebenfalls in 16 einwertige Elemente zerfallen. Übrigens zeigen auch die Chromosomen der männlichen Geschlechtszellen vielfach die Tendenz, im Laufe der Spermatocytenteilungen paarweise sich zu vereinigen. In der Anaphase der zweiten Spermatocytenteilung zählt man häufig nur acht Chromosomen in jeder Polplatte; bei den meisten zeigt jedoch eine genaue Untersuchung, dass sie aus je zwei Chromosomen zusammengesetzt sind. Andererseits kann in den weiblichen Geschlechtszellen die Chromosomenkoppelung gelegentlich unterbleiben, sodass dann — allerdings scheinen diese Fälle sehr selten zu sein — die Äquatorialplatte der ersten Richtungsspindel 16 Tetraden enthält und 16 Chromosomen in den weiblichen Vorkern kommen.

“In den somatischen Zellen kann eine weitere Erhöhung der Chromosomenzahl stattfinden, indem alle Chromosomen in geringerwertige Elemente zerfallen. Fassen wir die Befunde über die Chromosomenzahl zusammen: Bei der Honigbiene wechselt die Chromosomenzahl, aber sie beträgt immer acht oder ein Vielfaches dieser Zahl. 32 können wir als die “Normalzahl” betrachten”.

No entanto, o problema do ciclo cromossômico dos himenópteros arrenótocos, em geral, e mesmo o da abelha, em particular, precisa ser retomado. Muitas partes obscuras e

mesmo divergências ainda existem. Citemos as seguintes: a) os núcleos haplóides são geralmente menores do que os diplóides, como já fôra, há muito tempo, mostrado por Boveri (1905, 1907). No entanto, as medidas feitas (Oehniger, 1913) mostraram igual dimensão nos núcleos masculinos e femininos da abelha; b) enquanto que para Nachtsheim só há 16 cromossomas nos blastodermas masculinos, Petrunkevitch viu 64 cromossomas nos blastodermas de ambos os sexos, o que corresponde, aproximadamente, ao número visto por Meves nas células foliculares que envolvem os cistos espermáticos. Se êsses dados fossem confirmados, sugeririam que o soma da abelha se torna, em ambos os sexos, poliplóide, ou ainda, como já dissemos acima, falando da “diminuição” observada por Boveri na *Ascaris* e por outros autores em outros animais, que também, nos himenópteros, os gonócitos teriam cromossomas “compostos” e se resolveriam em cromossomas simples nas células somáticas. Também não é impossível que o número de cromossomas varie nos diferentes órgãos da abelha. São conhecidas muitas observações nesse gênero, como por exemplo, a de Frolowa (1926-1929) que viu células tetra e octoplóides em certos órgãos (traquéia e glândulas retais dos dípteros, etc.).

Lembremos, aqui, também a existência de “cromossomas gigantes”, já de há muito (Balbiani, 1882) observados, especialmente nas glândulas salivares da larva, em quironomídeos, “redescobertos” em *Bibio* (Heitz e Bauer, 1933), e, em seguida, em *Drosophila* (Painter, 1934; Bridges, 1935) e *Sciara* (Metz, 1935), hoje de tão grande importância para a citogenética dessas espécies. Tais “cromossomas gigantes” são geralmente interpretados, hoje, como altos poliplóides, e, além disso, como cromossomas pareados, os homólogos se tendo fundido.

Concluiremos pela necessidade de novos estudos para o perfeito esclarecimento do ciclo cromossômico dos himenópteros arrenótocos.

##### 5 — Algumas considerações sôbre a origem do tipo de espermatogênese e outros problemas da biologia dos himenópteros arrenótocos

Há, nos himenópteros, diversos e graves problemas biológicos a resolver. Um deles, de que não nos ocupamos aqui, diz respeito à evolução dêsses insetos. Desde que o macho é haplóide, fica evidente que toda mutação recessiva que ocorra na espécie, não se poderá acumular nos machos que, em consequência da haploidia, exibirão, desde logo, o caráter cor-

respondente. Ora, êsse acúmulo de gens recessivos é, hoje, considerado como de grande importância na evolução, pois representa um manancial onde, quando o meio variar, a espécie poderá ir buscar novos caracteres melhores adaptados ao novo meio e, portanto, sobreviverá. Tal mecanismo, de nenhuma maneira poderá ocorrer nos himenópteros aqui estudados, já que todo gen mutante recessivo que ocorra num macho, condicionará o caráter correspondente, que sendo menos adaptado, levará à eliminação automática do respectivo gen.

Passemos a outra questão peculiar aos himenópteros e, também, altamente interessante.

Dada a haploidia dos machos, as anormalidades observadas na espermatogênese das abelhas de alguns outros himenópteros arrenótocos, são perfeitamente compreensíveis. Seria interessante analisarmos: a) como e porque se tornam haplóides êsses machos; b) como se estabeleceu o tipo especial de <sup>assexuada</sup> partenogênese a que nos referimos atrás (substituição da meiose, pela expulsão de um brôto citoplasmático).

Infelizmente, muito pouco se pode dizer sobre tais assuntos, sem base concreta apreciável.

Comparações entre himenópteros arrenótocos e outros himenópteros, como os cinipídeos, onde há alternância de gerações, bem como com outros insetos, onde se observa êsse fenômeno (filoxerídeos, afídeos) seriam de grande interesse, mas nos levariam longe demais. Pelo mesmo motivo, deixamos ainda de fazer referências à partenogênese telítoca, frequente, também, nos himenópteros, especialmente nos **Te-rebrantes**, não sendo raros os casos de espécies ou raças visinhas que representam, uma delas, um dos tipos; a outra, o outro tipo de partenogênese. As relações entre os vários tipos de partenogênese: arrenótoca, telítoca, deuterótoca são ainda obscuras, parecendo ser, no entanto, a partenogênese telítoca, o tipo mais primitivo.

A falta de expulsão de um dos glóbulos polares pode preservar o número diplóide de cromossomas e permitir ao óvulo dar um animal diplóide, provavelmente feminino que recomeçará êsse ciclo. Uma tal reprodução seria, afinal, uma volta à reprodução assexuada, o descendente não passando de meio continuador da substância e dos gens do único antepassado de que deriva. A meiose não mais se observaria e, por isso, estaríamos, é bom repetir, diante de uma reprodução assexuada, pois a verdadeira característica da reprodução sexuada é a alternativa de ciclos haplóides e diplóides e, portanto, a criação de novas combinações de gens em cada geração nova. Poder-se-ia dizer que a expulsão de um único glóbulo polar pode pro-

duzir a referida redução na qualidade dos gens, pois se antes dessa expulsão houver pareamento, um dos gens ficará no ovócito II e o alelo no 1.º glóbulo polar. A falta de expulsão de um 2.º glóbulo polar não reduziria, portanto, o número de cromossomas, mas não impediria a redução qualitativa. A isso responderemos que, ao se estabelecer êsse processo de partenogênese, haveria, realmente, no começo, isto é, na primeira geração, margem para várias categorias de combinações gênicas, por serem expulsos para o glóbulo polar, em certo óvulo, certos gens e, em outro, certos outros. É, porém, claro que, a partir da segunda geração, cada sêr terá os mesmos gens em cada 2 cromossomas parceiros. Então, a população consistirá em vários grupos (clones) de indivíduos, cada grupo com uma composição genética homogênea. Tornar-se-ia coisa semelhante ao que ocorre nos sêres onde a regra é a autofecundação e, onde, como é sabido, muito rapidamente todos os pares de gens se tornam homozigotos, de sorte que a-pesar-de haver reprodução sexuada típica com meiose, temos, nesses casos de autofecundação, uniformidade genética em todos os sêres provenientes de um mesmo antepassado. Eis porque o mecanismo da evolução nos sêres, onde o cruzamento é obrigatoriamente consanguíneo (**inbreeding**) e, também, nos himenópteros com machos haplóides, constitue problema muito diverso do da evolução nos sêres que se reproduzem por fecundação cruzada.

Paremos um instante na origem da espermatogênese aberrante que se observa nos himenópteros. Poder-se-ia pensar estar ela ligada à condição haplóide dos machos. Que essa não é uma explicação aceitável, é demonstrado por Torvik-Greb (1935) a quem se deve a prova citológica de que os machos diplóides de **Habrobracon** (de que adiante nos ocuparemos), a-pesar-de diplóides, mostram uma espermatogênese aberrante como os machos haplóides que são os habitualmente existentes em **Habrobracon**.

Schrader, estudando a espermatogênese dos coccídeos (1921, 1923b, 1929), deu algumas indicações preciosas sôbre a possível origem da espermatogênese aberrante dos himenópteros. Observou, nos espermatócitos de **Pseudococcus** que, por ocasião da meiose, há dois grupos cromossômicos diferentes, dos quais um é heteropicnótico. Êste último se reune em uma massa compacta que se cora intensamente; o outro é formado por cromossomas de tipo normal. Na segunda divisão, que é a divisão reducional, uma das espermátides recebe os cromossomas heteropicnóticos e, a outra, os cromossomas normais. Formam-se, assim, duas classes de espermatozóides,

ambas provavelmente funcionais. Uma das classes de espermatozoides deverá determinar a formação das fêmeas e, a outra, dos machos. E' possível que tal achado seja relativamente geral, pois já foi observado, em *Lecanium*, por Thomsen (1927, 1929).

Já, em *Gossyparia*, o mesmo Schrader (1929) encontra um aspecto que pode ser considerado como intermediário entre os verdadeiros organismos diplóides e os haplóides. Há, como em *Pseudococcus*, dois tipos de cromatina. De um dos lados da célula, observamos 7 duplos cromossomas heteropícnóticos; do outro lado, 14 cromossomas normais. A primeira divisão é ainda equacional como em *Pseudococcus* e, a segunda, reducional. Vê-se, então, aparecer um semi-fuso e os cromossomas normais se reúnem em uma célula (espermátide) que dá um espermatozoide funcional, enquanto que o núcleo heteropícnótico degenera. Pode-se, então, considerar, com Schrader, *Gossyparia* um haplóide fisiológico, pois já na blástula do macho se pode ver o grupo de cromossomas heteropícnóticos. Parece, então, razoável interpretarmos essa cromatina como inativa. A passagem aos verdadeiros haplóides, isto é, aos seres morfologicamente haplóides, dependerá, então, do desaparecimento desse grupo de cromossomas heteropícnóticos não funcionais, como se pode, por exemplo, observar noutro coccídeo, *Icerya purchasi*, bem como em muitos outros animais, tais como os himenópteros aqui referidos.

E' bem provável que, em *Icerya*, como em alguns outros animais, por exemplo, o aleurodídeo *Trialeurodes vaporarium* e o acarino *Tetranychus bimaculatus*, estudados ambos também por Schrader (1920, 1923a), não haja divisão abortiva do espermátocito e, portanto, expulsão do brôto citoplasmático anucleado. Por esse motivo e sob esse aspecto, poderemos considerar os himenópteros arrenótocos, aqui estudados, como fazendo parte de uma série que começa em *Pseudococcus* e *Lecanium*, continua em *Gossyparia*, passa por eles (himenópteros) e termina em *Trialeurodes-Tetranychus-Icerya*. Lembremos o fato, já referido por nós, de nem sempre nos himenópteros haver a expulsão do brôto citoplasmático (Doncaster, na abelha; Armbruster, em *Osmia*). Esta supressão completa de uma das divisões de maturação na espermatogênese, foi também observada em rotíferos por Tauson e por Whitney.

Veremos adiante, quando discutirmos o sexo em *Habrobracon*, que uma causa provável da espermatogênese aberrante, de que aqui se tratou, está na "pureza" dos machos em oposição à condição "híbrida" da fêmea, "pureza" que é obri-



gatória na haploidia, mas pode acidentalmente ser também observada em organismos diplóides.

Um último fato que mereceria discussão, mas sôbre o qual há, também dúvidas consideráveis e grande campo para especulação, é a constituição haplóide do macho dos himenópteros arrenótocos, constituição que, como vimos, é a habitualmente observada. Veremos adiante que machos diplóides, nesses himenópteros, são sempre excepcionais.

A existência de sêres haplóides normais constitue, realmente, uma ~~extraordinária~~ exceção. Sabe-se, hoje, que haplóides acidentais podem ser observados entre as plantas. Tais são, por exemplo, as *Daturas* haplóides.

São, no entanto, sêres excepcionais, geralmente muito fracos, pouco desenvolvidos, obrigando, às vezes, ao enxerto em pés diplóides, para assegurar sua sobrevivência.

Nada de comum existe entre êsses “acidentes” e os machos haplóides normais, perfeitamente robustos, observados nos himenópteros arrenótocos. Não admira, portanto, que se tenham estabelecido polêmicas entre biólogos, pois muitos chegaram a duvidar da possibilidade da própria existência dêsses haplóides normais. Tais foram, por exemplo, P. Hertwig (1920) e Börner (1925) se opondo a Nachtsheim (1921). Uma boa revista do assunto foi feita por Schrader e Hughes-Schrader (1931) a que o leitor se deverá reportar. Parece fóra de dúvida a existência de organismos normais e haplóides, sendo possivelmente os mais demonstrativos exemplos, os já referidos *Icerya* e *Tetranychus*. Em ambos os casos, as imagens citológicas não deixam dúvida quanto ao número de cromossomas observados nas células dêsses organismos tidos como haplóides. Nos himenópteros arrenótocos, o problema é mais difícil por causa do possível aumento do número de cromossomas observado nas células somáticas, já atrás assinalado e discutido.

Caberia, aqui, uma comparação com os dados obtidos por alguns autores, em outros grupos de animais, segundo os quais há certa evidência de que nos organismos haplóides, de origem partenogenética, se estabelece uma regulação. O organismo será, então, diplóide, mas “azigoto”. Assim, entre os rotíferos, Tauson (1924, 1927) verificou que nos ovos não fecundados de *Asplanchna intermedia*, destinados a dar machos, há, antes da primeira segmentação, uma regulação que restabelece o número diplóide de cromossomas. Os machos teriam, pois, um soma diplóide. Nas espermatogônias primitivas ocorre uma divisão de redução especial, que torna o germen haplóide. Como já dissemos, na espermatogênese só há

uma divisão de maturação (a primeira) e, por isso, os espermatozóides são haplóides, como as gônias reduzidas. Esses dados, soma diplóide do macho, não foram, porém, confirmados por Whitney (1929) e são, por isso mesmo, muito discutíveis. Holt (1917), nas grandes células digestivas de *Culex*, onde há inibição da citocinese na pupa, viu, também, “multiple sets”. Outro método de regulação que fisiologicamente não difere deste último, é o aumento do tamanho dos cromossomas, sejam eles em número haplóide, sejam em número diplóide. Dêsse geito, o número “haplóide” pode ser conservado em muitos azigotos. King e Slifer (1933) acharam que a condição diplóide é restaurada, em outros gafanhotos, depois da partenogênese haplóide e que, se houver, no *Tettigidae*, supressão da 2.<sup>a</sup> divisão de maturação, a 1.<sup>a</sup> deverá ter sido completamente segregacional. Ora, como isso é muito improvável e, como é pouco provável que díades persistam como tais, até fases adiantadas do desenvolvimento embrionário, é melhor considerar estas fêmeas sem pai, como azigotas diplóides (Whiting e Beukert). Parmenter (1926) viu a partenogênese haplóide em rãs, dando-se em consequência de estímulos artificiais. Examinando-se ovos sem pai, em segmentação, vêm-se figuras haplóides e diplóides e, às vezes, até no mesmo indivíduo, o que prova que “the diploid number is not always formed before the first cleavage”. Viu que todos os girinos que se metamorfosearam, eram diplóides.

Existe também a possibilidade de que haja regulação, mais ou menos completa, do número diplóide de cromossomas no soma masculino dos himenópteros. Quanto às células sexuais, como se verá adiante, é provável que se tenham isolado muito precocemente. Seriam, portanto, no macho, haplóides desde seu aparecimento. No entanto, *Icerya purchasi*, estudada por Hughes-Schrader (1927), é uma exceção. A maioria dos exemplares é constituída por seres hermafroditas, havendo ainda alguns raros machos haplóides. A espermatogênese do hermafrodita se dá como uma espermatogênese anormal de himenópteros, a-pesar-de ocorrer em organismo diplóide. E' que, bruscamente, na gonada do hermafrodita, surgem células haplóides que dão origem à linhagem masculina da glândula hermafrodita. Se uma tal regulação é ou não observada nos himenópteros arrenótocos, é o que não sabemos e não parece provável, pelo que vimos, embora não se a possa excluir.

## 6 — Novas idéias sôbre a determinação do sexo nos himenópteros arrenótocos

a) Generalidades — Até agora, expusemos o problema

da determinação do sexo nos himenópteros arrenótocos, como se a diferença fundamental entre machos e fêmeas estivesse apenas ligada à haploidia ou diploidia do animal. Os seres haplóides seriam machos, ou diplóides fêmeas.

Na época em que foram feitos os primeiros estudos sobre esse assunto, já era corrente a existência de uma relação entre o sexo do produto e certos cromossomas, variadamente designados: cromossomas **X** (Mc Clung, 1901), heterocromossomas (**pro parte-Montgomery**, 1904), alossomas (**pro parte-Montgomery**, 1906), cromossomas sexuais (Wilson, 1906). Os animais que, além dos cromossomas idênticos nos dois sexos (autossomas, Montgomery, 1906, ou eucromossomas, Mc Clung, 1914) possuem dois cromossomas **X**, são fêmeas; machos, os que só possuem 1 cromossoma **X**. Esta hipótese foi estabelecida primeiramente por Mc Clung (1901, 1902) e confirmada sobre amplas bases por Wilson (1905a e b) e Miss Stevens (1905).

Lembremos que, ao lado do tipo **XX** = ♀, **X0** = ♂, viu-se pouco depois, que outro tipo muito próximo do primeiro podia ser observado. A fêmea continua sendo **XX** e o macho tem um cromossoma igual aos dois cromossomas **X** da fêmea, acompanhado de um outro que não se encontra nela. Um tal macho é designado **XY**. Este tipo cromossômico, já entrevisto por Montgomery (1898, 1901), foi relacionado com a determinação do sexo, por Wilson (1905a) e por Miss Stevens (1905). Não cabem, aqui, referências a outros tipos de cromossomas sexuais, também descritos (**ZZ**, **ZW** ou **Z0**, cromossomas sexuais múltiplos, soldados, etc., etc.), por não terem tido, até hoje, aplicação nos himenópteros arrenótocos.

Admitindo-se, então, que a fêmea da abelha seja **XX**, o macho, sendo haplóide, possuirá um único elemento **X**. É, pois, **X0**.

Se chamarmos **A**, ao conjunto de autossomas de um genoma, a fórmula da fêmea será, portanto,  $2A + 2X$  e, a do macho,  $A + X$ .

Este era o ponto de vista geralmente aceito pelos primeiros autores que estudaram o sexo nos himenópteros arrenótocos.

b) **Balanço gênico** — Vieram, então, os notáveis trabalhos de Bridges (1922, 1925), na *Drosófila*, sobre intersexos e supersexos provenientes de fêmeas triplóides (que são fêmeas normais com  $3A + 3X$ ) cruzadas com machos diplóides comuns ( $2A + X + Y$ ). Os descendentes são de várias categorias: supermachos, estéreis ( $3A + X + Y$ ); machos normais ( $2A + X + Y$ ); intersexuados ( $3A + 2X$ ,  $3A + 2X + Y$ ); fê-

meas normais ( $2A + 2X$ ,  $3A + 3X$ ,  $2A + 2X + Y$ ) e superfêmeas, estéreis ( $2A + 3X$ ).

Vê-se, logo que, o importante para a determinação do sexo, é a relação entre o número de lotes de autossomas e o número de cromossomas  $X$  (o cromossoma  $Y$  não interessa, neste assunto). A relação 1 corresponde a fêmeas normais e 2, a machos normais. Uma relação intermediária 1,5 conduz à intersexualidade, ao passo que as relações extremas 0,66 e 3 correspondem, respectivamente, a superfêmeas e a supermachos.

Do exposto, devemos admitir que os cromossomas  $X$ , na *Drosófila* e, de um modo geral, nos animais de tipo  $XY$  ou  $XO$ , transportam fatores para a feminilidade, ao passo que os autossomas os transportam para a masculinidade. Tal hipótese permite explicar perfeitamente os resultados observados (teoria do balanço gênico de Bridges, já, em 1921, admitida por este mesmo Autor, como geral, isto é, valendo para quaisquer caracteres do animal).

Conclue-se, portanto, desses trabalhos, que a designação de cromossomas sexuais só para os cromossomas  $X$  e  $Y$ , é imprópria (embora, até hoje conservada), pois os autossomas também transportam fatores para a determinação do sexo.

Provas muito claras da “teoria” de Bridges, sobre a determinação do sexo, foram dadas por Dobzhansky e Schultz (1934). Estes Autores mostraram, graças à introdução, através cruzamentos, de um fragmento suplementar, de vários tamanhos, de um cromossoma  $X$  num intersexuado, sua flexão para o sexo feminino, provando, assim, que há muitos gens para a feminilidade, ao longo do cromossoma  $X$ . O sexo será tanto mais flectido, quanto mais longo o fragmento suplementar. Obtiveram, ainda, a flexão no sentido masculino, pela produção, no intersexuado, de uma deficiência em um de seus cromossomas  $X$ . Notaram que certa deficiência, localizada na região “inerte ou heterocromática” do cromossoma  $X$ , é praticamente sem efeito (pois tal região quasi não contém gens e, portanto, também não os tem para a “feminilidade”).

Esses trabalhos de Bridges, Dobzhansky e Schultz tiveram, portanto, entre outros méritos, o de nos obrigar a um retoque em nosso conceito sobre o sexo nos himenópteros arrenótocos.

Bem disse Bridges (1932): “Sex determination in Hymenoptera and in a few other forms has been long formulated as  $N = \delta$  and  $2N = \text{♀}$  (que correspondem às fórmulas já citadas  $A + X = \delta$ ,  $2A + 2X = \text{♀}$  e onde há o mesmo balanço

gênico, pois  $\frac{A}{X} = 1$ ,  $\frac{2A}{2X} = 1$ ). But, as soon as the

concept of genic balance has been formulated, this formulation became paradoxical". Veremos, daqui a pouco, a prova cabal dessa crítica, na existência de machos diplóides em **Habrobracon**, que, a-pesar-de serem animais diplóides, são machos. Logo, não é possível dar crédito à hipótese, segundo a qual se deve responsabilizar simplesmente a haploidia ou a diploidia, pelo sexo nos himenópteros arrenótocos.

c) **História do "Habrobracon"** — Novas luzes sôbre êsse importante assunto nos foram trazidas pelos numerosos e belos trabalhos de P. W. Whiting e seus colaboradores, na vespa parasita **Habrobracon juglandis**.

E' dêsses trabalhos de P. W. Whiting, já em curso em 1918 e continuados até hoje, que nos devemos ocupar agora.

Em **Habrobracon**, ecto-parasita de várias lagartas (**Ephesia**) que infestam cereais, foi provado, primeiramente de modo indireto, isto é, por via genética (A. R. Whiting, 1927 e Magnhild M. Torvik, 1931), a existência de machos diplóides. Portanto, como já dissemos, não é a haploidia que causa, por si só, o sexo masculino.

d) **Prova genética da diploidia dos machos** — Assim, se se cruza uma fêmea, mostrando a côr alaranjada dos olhos (**orange**), que é recessiva, com um macho selvagem de olhos pretos, as fêmeas biparentais serão, evidentemente, pretas (por causa do gen dominante que receberam do pai), ao passo que os machos terão olhos alaranjados, pois são de origem exclusivamente materna. Em certos cruzamentos, porém, nos quais animais idênticos aos acima referidos ( $\varnothing \varnothing$  laranja x  $\delta \delta$  preto), eram provenientes da mesma linhagem ou de linhagens próximas (**inbreeding**), apareceu, entre os descendentes, um novo tipo de macho, a saber, os machos de olhos pretos, filhos de mãe alaranjada. Tais machos receberam, portanto, obrigatoriamente do pai, o gen preto, causador da côr de seus olhos. Viu-se que êsses machos "anômalos" (de olhos pretos) eram estéreis (ou quasi estéreis). Como os machos dos himenópteros haviam sido sempre considerados como haplóides (hemizigotos), defendeu-se, inicialmente, a hipótese de que êsses filhos patróclinos teriam uma origem androgênica, ou, mais provavelmente, seriam mosáicos, isto é, proviriam da falta de reunião dos pronúcleos. Tôdas as células seriam, então, haplóides. As partes do corpo, cujos núcleos derivassem de um dos pronúcleos, teriam caracteres de um

dos pais, ao passo que as derivadas do outro, teriam os do outro pai.

Esta opinião foi depois abandonada, quando se verificou que os machos “patróclinos” eram realmente biparentais, por exibirem traços de ambos os pais (P. W. Whiting and A. R. Whiting, 1925; P. W. Whiting, 1928, 1931, 1932).

e) **Hipótese dos fatores complementares** — Em 1933, P. W. Whiting fez a hipótese de que o sexo feminino em *Habrobracon* seria híbrido e o masculino puro, hipótese que êle chamou dos “fatores complementares”. Assim, a condição feminina dever-se-ia à presença de dois fatores complementares **X** e **Y**.

Tais fêmeas produziriam dois tipos de óvulos, **X** e **Y**, que, se desenvolvendo por partenogênese, dariam os dois tipos de machos, a saber **X** e **Y**. O cruzamento de um macho **X** com uma fêmea **XY** deveria dar duas classes de machos haplóides (**X** e **Y**) e duas classes de sêres diplóides (**XY** = ♀ e **XX** = ♂). Agora, o cruzamento **Y** x **XY** deveria dar, evidentemente, os mesmos dois tipos de machos haplóides e duas classes de diplóides (**XY** = ♀ e **YY** = ♂). Logo, os machos seriam sempre puros para os fatores para o sexo, e as fêmeas sempre híbridas para êsses mesmos fatores.

Vejamos quais as bases dessa concepção, e porque, se a aceitarmos, não se hão de formar, senão excepcionalmente, machos diplóides.

A hipótese dos fatores complementares nasceu do conhecimento de efeitos complementares na côr dos olhos, bem como na genitália de machos haplóides, em mosaico, que nascem, às vezes, entre os descendentes de fêmeas virgens, heterozigotas para certos gens (ver A. R. Whiting, 1934).

Assim, uma fêmea heterozigota para a côr dos olhos “ivory” e “cantaloup” produz, além dos 4 tipos de machos esperados (selvagens, ivory, cantaloup, ivory-cantaloup), outros que apresentam olhos em mosaico, com regiões ivory selvagem (not-cantaloup) e selvagem (not-ivory) cantaloup, no mesmo olho. Viu-se, também, que ao longo da linha em que a côr cantaloup se continua com ivory, o olho é de tipo selvagem, preto. A explicação dêsse fato é que houve difusão de alguma substância da zona cantaloup para a zona ivory e, então, por efeito complementar, produziu-se a côr preta.

Êste efeito complementar já havia sido mostrado por P. W. Whiting, em 1934, para duas côres brancas dos olhos, ambas recessivas que, na linha de contacto, dão, também, o preto selvagem.

Da mesma maneira, ao nível da genitália de muitos dos

machos mosáicos, há feminilização, em consequência da interpenetração das substâncias X e Y. São os machos “ginandróides” que, como foi visto por P. W. Whiting, Greb e Speicher (1934), derivam de ovos binucleados e não fecundados. Os dois alelos sexuais X e Y passaram, na meiose, para cada um dos dois núcleos do óvulo.

E’ claro que, ao lado desses machos “ginandróides”, nos quais só há zonas femininas muito limitadas, podia-se prever a existência de verdadeiros ginandromorfos (como os de *Drosófila*, por exemplo), ou, como lhes chamou P. W. Whiting, “ginandros”, com zonas femininas extensas e genitália somente masculina, feminina ou mixta. Tais “ginandros”, derivados da fecundação de um óvulo binucleado por um único espermatozóide, foram realmente observados.

Mais uma bela prova de que a hipótese dos fatores complementares para a determinação do sexo de *Habrobracon* é verdadeira, proveio do estudo do gen recessivo sex-linked *fu* (*fused*), que afeta as antenas, os tarsos, os palpos e as azas. Tomemos uma fêmea heterozigota para *fused*, de olhos alaranjados e cruzêmo-la com um macho seu parente, que seja *fused*, de olhos pretos. Se todos os seres diplóides fossem fêmeas, teríamos 50 % de *fused* e 50 % de selvagens. Isto é realmente o que se vê, se o cruzamento não for consanguíneo. Ao contrário, se for consanguíneo, há entre as filhas um excesso considerável de animais *fused*, ou uma deficiência deles. Muitos machos diplóides aparecem, também, em consequência deste *inbreeding*, e esses machos diplóides mostram, também, em falta ou excesso, o caráter *fused*. Tais machos são facilmente identificáveis por terem a cor preta dos olhos do pai. Os machos haplóides (de olhos alaranjados) são *fused* e não *fused*, aproximadamente com igual frequência (*fused* é um gen que diminua a viabilidade).

Para que possamos compreender a explicação do ocorrido, é indispensável, porém, responder à nossa segunda pergunta: por que motivo, habitualmente, não há machos diplóides em *Habrobracon*?

f) **Hipótese da fecundação seletiva** — Uma fêmea XY, cruzada com um macho X, tomado ao acaso, deveria, como já vimos, formar igual número de fêmeas diplóides XY e machos diplóides XX, além dos machos haplóides X e Y. Entretanto, repetimos, isso não se dá. Segundo uma hipótese de P. W. Whiting (1933, 35), haveria, em *Habrobracon*, uma fecundação seletiva, ou melhor, maturação seletiva, na ovogênese. Como sabemos, nesse himenóptero a maturação, na ovogênese, se dá depois da entrada do espermatozóide. Nos

casos comuns (quando não há **inbreeding**), o espermatozóide unir-se-ia sempre com um dos núcleos possuindo cromossoma sexual diferente. Assim, usando-se um macho **X**, o pronúcleo feminino com o qual êle vai se unir é sempre um dos **Y**, e, portanto, os seres diplóides são sempre fêmeas.

"The sex-chromosomes of the sperm nucleus must determine that the innermost chromosome set shall contain the opposite type of sex-chromosome" (Whiting, 1935).

No entanto, quando cruzamos machos e fêmeas, provenientes da mesma linhagem (**inbreeding**), obtemos, por algum mecanismo ainda não explicado, grande porcentagem de machos diplóides. Não funciona, portanto, o mecanismo acima postulado, para dar conta da fecundação seletiva.

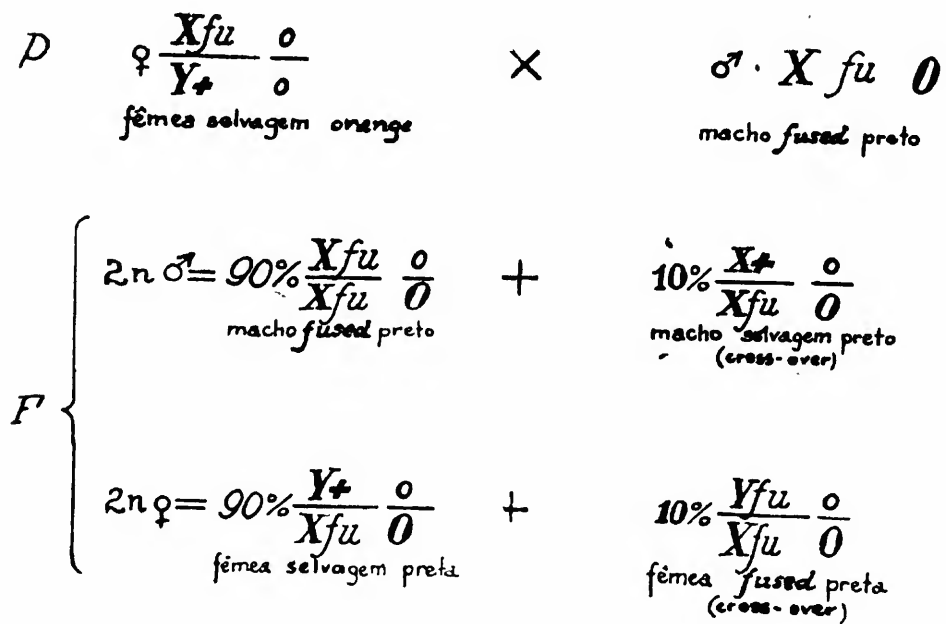
Podemos agora compreender o que se passa no cruzamento dos animais *fu* (tab. n.º 1).

O gen *fu* estaria ligado a um cromossoma sexual, digamos a **X**.

Então, a fêmea híbrida para *fu*, de que partimos (pois recebeu *fu* do pai e + da mãe) forma óvulos **Xfu** e **Y+**, em igual número.

Tabela n.º 1

*País e descendentes diplóides.*





Por isso, os machos haplóides serão  $Xfu$  e  $Y+$ , em igual número, aproximadamente. Agora, os seres diplóides (pois, aqui, não haveria fecundação seletiva, por causa do **inbreeding**) serão ♀  $Xfu Y+$  e ♂  $Xfu Xfu$ .

Teremos, portanto, 50 % de fêmeas  $+$  e 50 % de machos diplóides  $fu$ , ou seja, fêmeas **tôdas selvagens** e machos diplóides **todos fused**. Isso, porém, na ausência de permutação (**crossing**). No entanto, foi visto que realmente há para 9 fêmeas selvagens, 1 fêmea **fused** e para 9 machos diplóides **fused**, 1 macho diplóide selvagem, o que se explica pela permutação que faz passar  $Xfu$  a  $X+$  e  $Y+$  a  $Yfu$ . Concluiremos, então, que há cerca de 10 % de **crossing** entre o locus  $fu$  e o locus (ou zona)  $+$  para o sexo. Temos, aqui, um curioso fenômeno de **sex-linkage**, nos animais diplóides.

Admitamos, agora, que o macho por nós usado seja  $Yfu$  e a fêmea  $Xfu Y+$ . É claro que o resultado fica invertido, faltando quasi completamente fêmeas selvagens e machos diplóides **fused**.

Vemos, assim, como se apresenta, agora, o interessante problema da determinação do sexo nos himenópteros, que já não fere os princípios do balanço gênico de Bridges, pois, então  $A + X = \delta$  haplóide e  $2A + 2X = \delta$  diplóide. Lembremos que esta diploidia dos machos de **Habrobracon** foi, em 1935, citologicamente demonstrada por Torvik-Greb. Conhecem-se, hoje, mais dois exemplos de machos diplóides no gênero **Habrobracon** : **H. pectinophorse**, estudado por Inaba (1939) e **H. brevicornis**, estudado por Speicher e Speicher (1940). Repitamos que machos diplóides apresentam a mesma espermatogênese anormal que caracteriza os demais himenópteros arrenótocos e que, portanto, é a **pureza** e não a **condição haplóide** que responde por tal espermatogênese especial.

Assim, nos cruzamentos comuns (sem **inbreeding**), a proporção dos sexos realmente observada é 2 fêmeas para um macho haplóide e não há machos diplóides. Por outro lado, no **inbreeding** deveríamos ter sempre para cada fêmea, um macho diplóide. As estatísticas mostram que o número destes machos diplóides é, no entanto, muito menor do que o esperado. Finalmente, foi ainda observado que há mais descendentes, quando os copulantes não são parentes, do que no caso inverso (Bostian, 1934, 1935; Hase, 1922; ver também Whiting e Anderson, 1932).

Speicher demonstrou (1936) que, dos 4 núcleos que se

deviam formar no óvulo de *Habrobracon*, em maturação, só 1 é realmente formado. Os outros nem chegam a se diferenciar completamente como núcleos. Podia-se supor, como dissemos (maturação seletiva), que o núcleo realmente formado contivesse sempre o cromossoma sexual diferente do que existe no espermatozóide, previamente entrado no núcleo.

Diremos, primeiramente, que uma das causas da existência de menor número de machos diplóides do que o esperado, é sua mortalidade diferencial, fenômeno que também explica porque o número de descendentes é menor em tais fraternidades. Nos cruzamentos consanguíneos há de 1 % a 20 % de tais machos, mostrando que há linhagens com mais ou menos vitalidade. Agora, qual será a razão do aparecimento de machos diplóides, somente nas fraternidades?

Até agora, ficou inteiramente inexplicado o motivo pelo qual, nos cruzamentos comuns, onde a capacidade de fecundação e a de desenvolver embriões é inteiramente perfeita, os machos diplóides são 0 %.

Nova e muito importante dificuldade para a teoria da fecundação seletiva, proveio da aparente inexistência de **sex-linkage de fused**, quando o cruzamento se dá entre seres não parentes. E' assim, que o cruzamento, já nosso conhecido, entre fêmea híbrida para **fused** e macho **fused**, produz, quando não consanguíneo, filhas **fused** e **não-fused** em igual número. P. W. Whiting (1935) tentou explicar êsse resultado pela possível translocação de **fused** para um autossoma. No entanto, Dordick (1937) mostrou que fêmeas heterozigotas para **fused**, as quais, como vimos, sempre que cruzadas com um macho parente e **fused**, mostram **sex-linkage** de **fused** (ao mesmo tempo que nos fornecem machos diplóides) não mostram mais êste **linkage**, nem dão mais machos diplóides, quando o macho **fused**, usado no cruzamento, não lhes é "related". Vimos que a hipótese da fecundação seletiva responderia, neste último caso, pela não existência de machos diplóides (fecundação seletiva essa que, por algum motivo não explicado, fracassaria no **inbreeding!**), porém, não pelo desaparecimento do **sex-linkage** de **fused**, pois uma fêmea **X+ Yfu** cruzada com um macho **Xfu** deveria dar uma maioria de filhas **fu** e formar muito poucas (10 %) filhas **não fused**, já que, em virtude da fecundação seletiva, teríamos sempre eliminação do cromossoma **X** da fêmea. Por isso, os descendentes diplóides seriam **Xfu Yfu**, excepto aqueles em que tivesse havido **crossing**, fazendo passar **Yfu** da mãe para **Y+**. Como se vê, a hipótese da fecundação seletiva não só deixaria inexplicado o mecanismo pelo qual ela fracassa no **inbreeding**,

como ainda por que razão no **outbreeding** o **sex-linkage** de **fused** não é mais observável.

**g) Hipótese da inversão sexual** — P. W. Whiting (1935) admitiu, então, que em vez de fecundação seletiva, houvesse inversão sexual. Se admitirmos que, por um mecanismo qualquer, o macho diplóide homozigoto passa de macho a fêmea, teremos o mascaramento do **sex-linkage**, pois os machos invertidos não-cross-overs ( $X_{fu} X_{fu}$ ), não se distinguirão das fêmeas cross-overs ( $X_{fu} Y_{fu}$ ) e, inversamente, os machos invertidos ( $X_{fu} X_{+}$ ) cross-overs serão idênticos às fêmeas não-cross-overs ( $X_{fu} Y_{+}$ ). Para explicar como seria possível uma tal reversão de machos diplóides  $X/X$  ou  $Y/Y$  para fêmeas, Snell (1935) apelou para a hipótese dos fatores múltiplos que faz depender o sexo de **Habrobracon** de mais de 1 par de fatores.

**h) Hipótese dos fatores múltiplos** — Como é bem sabido, o **inbreeding** tem, como uma de suas consequências, a homozigose, tanto mais rápida, quanto menor o número de gens, em jogo. Então, se o número de fatores, em jogo, é pequeno, o **inbreeding** conduzirá rapidamente a uma homozigose praticamente total. É sabido que, com um par de fatores, a heterozigose passa, em uma geração, de 100 % ( $XY$ ) a 50 % (1  $XX$  . 2  $XY$  . 1  $YY$ ); em duas, a 25 % (3  $XX$  . 2  $XY$  . 3  $YY$ ); em 3, a 12,5 % etc., etc..

Aplicando-se êstes dados às fêmeas de **Habrobracon**, vemos que estando em jogo, na determinação do sexo, dois pares de fatores  $XY$  e  $X'Y'$ , há 5 tipos possíveis de fêmeas (isto é, animais heterozigotos para, pelo menos, 1 par de fatores), a saber: 1.  $XY X'X'$ , 2.  $XY Y'Y'$ , 3.  $XX X'Y'$ , 4.  $YY X'Y'$ , 5.  $XY X'Y'$ . Então, se o gen **fused** estiver ligado ao cromossoma  $X$ , as consequências serão as seguintes:

Cruzamentos consanguíneos com fêmeas 1 ou 2, heterozigotas para **fused** (localizado no par  $XY$ ), mostrarão **sex-linkage** normal, porque o mesmo par cromossômico que condiciona o sexo ( $XY$ ) transporta o fator **fused**. Com fêmeas 3 ou 4 não haverá **sex-linkage** de **fused** porque, aqui, o sexo dependerá dos cromossomas  $X'Y'$ , que independem de **fused**; com fêmeas 5, nas quais o sexo dos descendentes vai depender dos cromossomas dos 2 pares  $XY$  e  $X'Y'$ , haverá **sex-linkage** frouxo para **fused**, pois metade das combinações  $XX$  ou  $YY$  serão fêmeas por causa de  $X'Y'$ . Sabendo-se que há 10 % de **crossing** de **fused**, teremos aproximadamente 11 **cross-overs** aparentes para 30 ♀. O número de ♂ diplóides esperado com um par de fatores, fica reduzido à quarta parte,

quando agem 2 fatores, e neles, é claro, o sex-linkage de *fused* é conservado (9.1).

Se admitirmos maior número ainda de fatores, o número de machos diplóides se tornará cada vez menor ( $1/2$ ,  $1/4$ ,  $1/8$ ,  $1/16$ , etc.) e, à proporção que cresce o número de fêmeas, o sex-linkage de *fused*, nesse sexo, se torna cada vez mais frouxo, pois *fu* só é sex-linked nas fêmeas, cujo sexo depende do par XY e não é sex-linked nos outros casos.

Bostian procurou, então, obter uma linhagem pura para o cromossoma X, isto é, sem cromossoma Y e, portanto, XX, mas desprovida de sex-linkage para *fused*. De acordo com a hipótese de Snell, isso deveria ser possível, desde que obtivéssemos uma linhagem  $X^{fu} X + X'Y'$ . Cruzada com machos que fossem, por exemplo,  $X^{fu} X'$  deveria dar fêmeas, machos diplóides e machos haplóides, todos com as mesmas proporções de *fused* e não-*fused*, isto é, sem sex-linkage de *fused*, pois o par cromossômico XY segrega independentemente do  $X'Y'$ . Ora, foi impossível conseguir êste resultado.

Foi verificado que *fused*, nas linhagens puras, fossem quais fossem, mostrou sempre um certo grau de sex linkage e, correlativamente, toda a linhagem, onde *fused* mostra sex-linkage, conduz sempre a machos diplóides, pois é uma linhagem pura. Como diz Bostian: "The rule is that sex-linkage of *fu* and the occurrence of diploid males is inseparable. Without one, the other does not occur. Nor was it possible to develop a strain breeding pure for independence of *fu* and sex".

i) **Hipótese dos alelos múltiplos** — Fizeram, então, P. W. Whiting (1939, 40a) e também Bostian (1939) uma nova hipótese que parece dar conta de todos os fatos até hoje conhecidos sobre *Habrobracon*. É a hipótese dos alelos múltiplos para o fator sexual, análoga à que foi aceita, no fumo, por East e outros autores.

Admitamos que existam 10 gens alelos para o sexo:  $X^1, X^2, \dots, X^{10}$ . Todos os seres haplóides:  $X^1, X^2$ , etc., serão puros e, portanto, machos, havendo, então, 10 categorias deles. Todos os diplóides heterozigotos, isto é, tendo 2 alelos diferentes, serão fêmeas:  $X^1X^2, X^1X^3, \dots, X^2X^3, X^2X^4, \dots, X^3X^4, \dots$ . Haverá, no nosso caso (10 alelos), 45 classes de tais fêmeas. Serão machos diplóides os indivíduos  $X^1X^1, X^2X^2$ , etc., sendo possíveis, portanto, 10 tipos de tais seres.

Então, se o cruzamento é não-consanguíneo, teremos certa probabilidade (tanto maior, quanto maior o número de gens, em jogo) do macho não transportar o mesmo alelo que os dois da fêmea.

Em consequência, todos os descendentes diplóides serão fêmeas.

Assim, do cruzamento ♀  $X^1X^2$  x ♂  $X^3$  resultarão ♂ haplóides  $X^1$  e  $X^2$  e ♀ diplóides  $X^1X^3$  e  $X^2X^3$ . Agora, nos cruzamentos consanguíneos, é claro que uma fêmea  $X^1X^2$ , sendo cruzada com um macho  $X^1$  ou  $X^2$ , dará aquelas mesmas duas classes de machos haplóides e, em cada 2 descendentes diplóides, 1 fêmea  $X^1X^2$  e um macho diplóide  $X^1X^1$  ou  $X^2X^2$ , segundo o macho empregado. **Fused** será, então, sempre **sex-linked**, porém, nos cruzamentos não-consanguíneos, tal **sex-linkage** é mascarado, pois que todos os ~~gens~~<sup>alleles</sup> diplóides serão fêmeas.

Voltando ao cruzamento tão citado (fêmea heterozigota para **fused**, cruzada com macho, não-consanguíneo, **fused**), compreenderemos que haja 50 % **fused** e 50 % não **fused**, em cada sexo, ou seja, machos  $X^{1fu}$  e  $X^{2+}$ , não **cross-overs** e  $X^{1+}$  e  $X^{2fu}$ , **cross-overs** e fêmeas  $X^{1fu}X^{3fu}$  e  $X^{2+}X^{3fu}$  não **cross-overs** e  $X^{1+}X^{3fu}$  e  $X^{2fu}X^{3fu}$ , **cross-overs**.

Como se vê, a hipótese dos alelos múltiplos dá conta de todos os fatos observados em **Habrobracon**, inclusive das dificuldades acima apontadas, para explicar a impossibilidade de obtermos uma linhagem **fused**, isenta de **sex-linkage**. Estando em jogo, na determinação do sexo, apenas um par de cromossomas, e estando também, neste par, o gen *fu*, é evidente a impossibilidade de obtenção daquela linhagem.

Novos dados de P. W. Whiting (1940 c) confirmam a teoria dos alelos múltiplos, provando que **fused** de uma certa linhagem  $X^1X^2$ , na qual era **sex-linked**, tendo sido passado para outra  $X^3X^4$ , também, nesta, continua **sex-linked**.

Ainda noutro trabalho, o mesmo Autor (1940 b) forneceu nova confirmação de sua teoria. (1)

---

(1) Em carta a um de nós dirigida (Junho de 1943) e da qual nos foi gentilmente permitido que fizéssemos uso, o Prof. P. W. Whiting nos diz, entre outras cousas, o seguinte: "I now have nine alleles (para o sexo) in five stocks. . . . . The gene **fused** has been combined with each pair of alleles and in all cases proves to be **sex-linked** showing that the alleles are in the same series.

I regard the different sex alleles as differential chromosome segments which have been built up in the early history of the Hymenoptera, are necessarily associated with haploid parthenogenesis and consist of many genes determining the numerous sex-differences, structural, functional and behaviouristic, characterizing Hymenoptera. These genes must have, in the aggregate, duplicate effects such that all haploids or homozygous diploids are similar and male, but combinations of any two different alleles result in females (heterozygous dominant) likewise all similar".

j) **O caso de *Pteromalus puparum*** — Convém acrescentar algumas palavras sobre o chalcidóide *Pteromalus puparum* que foi descrito por Dozorceva (1936a), como pertencente, citologicamente, ao tipo  $\varphi = XY$ , pois há, nesse animal, 10 cromossomas na fêmea que se resolvem em 4 pares de cromossomas iguais e 1 par de cromossomas desiguais ( $XY$ ). Um deles é um pequeno V e, o outro, um J.

Há dois tipos de machos haplóides, segundo possuem o V ou o J.

A natureza heterozigota das fêmeas foi demonstrada da seguinte maneira (1936b): pelos raios X, foi possível induzir uma mutação na côr dos olhos, de “preto” para “vermelho”. Cruzando-se o macho vermelho com a fêmea preta (selvagem), obtêm-se fêmeas pretas biparentais (híbridas). Estas, cruzadas com seu pai, dão dois tipos de descendentes, segundo o pai: vermelho com X, ou vermelho com Y. O resultado é, como em *Habrobracon*, um desequilíbrio na relação dos descendentes diplóides, quanto à côr dos olhos. Ora há um excesso de fêmeas vermelhas, ora de fêmeas pretas. E’ evidente a semelhança entre *Pteromalus* e *Habrobracon*, como foi bem esclarecido por P. W. Whiting (1940d).

## II — A HISTÓRIA DA VESPA “*TELENOMUS FARIAI*”

### 1 — Introdução

*Telenomus fariai* Lima é um microhimenóptero parasito endófgo de ovos de hemípteros (barbeiros) do género *Triatoma* (*Reduvidae*). Esse scelionídeo foi descrito, em 1927, pelo ilustre entomologista patricio Prof. Costa Lima que, em 1928, dedicou à sua biologia um novo trabalho.

Costa Lima descreveu, com cuidado, alguns interessantes aspectos da biologia de *T. fariai*, que, a seguir, resumiremos naquilo que interessa mais de perto ao nosso propósito, isto é, ao ciclo cromossômico e determinação do sexo dêsse interessante animal.

As fêmeas, diz Costa Lima, tanto fecundadas, como não fecundadas, horas depois de terem nascido, começam a fazer as posturas em ovos de *Triatoma*. Usou Costa Lima ovos de *Triatoma megista*, que são grandes e de *T. sordida*, que são pequenos. O número de ovos postos por uma vespa depende da espécie. No caso de *T. megista*, geralmente 6 a 8 e, no caso de *T. sordida*, quasi sempre 4. Costa Lima não pode determinar, com precisão, o número de ovos que uma fêmea pode pôr por dia, bem como durante toda sua vida. Seus dados são, de acordo com sua própria opinião, incompletos. Segundo

êsse Autor, uma fêmea infestou 16 ovos de *Triatoma* e outra parasitou 20 ovos.

A duração de vida de *T. fariai* é um pouco maior na fêmea do que no macho. Os animais começam a morrer, geralmente aos 15 dias de idade e morrem quasi todos aos 30. A sobrevida máxima é de 45 dias para uma fêmea fecundada e 37 para uma fêmea virgem. Podem viver sem alimento 10 dias, mas, então, ao cabo de 3 dias, já começam a aparecer machos mortos. As fêmeas de *T. fariai* são capazes de pôr em ovos de barbeiro, cujos embriões já vão adiantados (ovos róseos ou quasi rubros), preferindo, porém, os ovos brancos recém-postos.

A postura pode se realizar num ponto qualquer do ovo, sendo feita a perfuração pelo oviscapto da vespa, geralmente logo abaixo do opérculo.

A duração da postura vai de 6 a 8 minutos, chegando até 13. Costa Lima escreve: "Finda a postura, retira rapidamente o ovopositor, começa novamente a agitar as antenas e, antes de abandonar o ovo, caminha lentamente sobre elle em varias direcções, arrastando o ovopositor pela superficie como que procurando limpá-lo. E' possível que, com essa operação, procure deixar alguma marca ou secreção que facilite o reconhecimento do ovo parasitado. Entretanto, examinando ao binocular ovos de barbeiro que acabaram de receber a postura de um *Telenomus*, não vi qualquer risco ou secreção deixada por aquelle órgão da genitalia".

Uma fêmea pode realizar várias posturas successivamente, em geral em ovos não parasitados. "Excepcionalmente, porém, escreve Costa Lima, mesmo quando as fêmeas de *Telenomus* têm á sua disposição outros ovos de barbeiro não parasitados, podem repetir a postura num ovo que tenha recebido, pouco tempo antes, a postura de uma outra fêmea". Êsse super parasitismo se dá, com mais frequência, quando há muitas vespas e poucos ovos de barbeiro.

Vem agora uma das mais interessantes verificações de Costa Lima: "Nas posturas das femeas fecundadas, quasi sempre cada ovo parasitado recebe alguns ovos de femea e um ou mais ovos de machos, porém geralmente em quantidade bem menor que a de ovos de femeas.

**Ha, pois, por ocasião da postura, uma verdadeira distribuição dos ovos, não só na quantidade, em relação com o tamanho do ovo de barbeiro a ser parasitado, como na qualidade sexual desses ovos (\*)".** Esta importante observação de

---

(\*) O grifo é nosso.

Costa Lima é corroborada pelas 2 tabelas da pág. 206, onde se vê que, em geral, de cada ovo de barbeiro parasitado nascem  $n - 1$ ,  $n - 2$ ,  $n - 3$  e até  $n$  fêmeas, para evidentemente e respectivamente 1, 2, 3, ou 0 machos. Convém notar que  $n - 1$  é o número mais frequente, muito mais frequente que todas as outras categorias juntas. Assim, totalizando os dados de Costa Lima para *T. megista* e *T. sordida*, temos 124 ovos de barbeiro que deram 1 macho para  $n - 1$  fêmeas, contra 84 que deram desde 0 até 3 machos, assim distribuídos:  $0 \delta \delta = 47$  ovos;  $2 \delta \delta = 29$  e  $3 \delta \delta = 8$ . Em *T. sordida*, cujos ovos são muito pequenos, 30 vezes, em 90, houve 0 machos. Agora, se levarmos apenas em conta *T. megista*, onde 0 é raro (provavelmente, por causa do grande tamanho do ovo), veremos que de 118 ovos, 67 deram  $n - 1$  fêmeas para 1 macho, tendo havido 17 vezes, 0 macho; 27 vezes, 2 machos e apenas 7 vezes, 3. Como se verá mais tarde, Costa Lima não parece ter apreciado, como devia, a importante descoberta que fez, a saber, que a fêmea copulada controla o sexo de seus filhos.

Aos dados fornecidos acima sobre o sexo de vespas que nascem de cada ovo de barbeiro, ajuntamos que, trabalhando com 25 ovos de barbeiro naturalmente infestados, viu Costa Lima nascerem, 16 vezes, 1 macho para  $n - 1$  fêmeas; 4 vezes, 0 macho para  $n$  fêmeas; 4 vezes, 2 machos para  $n - 2$  fêmeas e, 1 vez, 3 machos para  $n - 3$  fêmeas.

De cada ovo sai uma larva que se nutre à custa do vitelo do ovo de barbeiro. Costa Lima não descreveu os vários estadios larvais.

Logo após a postura de *T. fariai*, cessa o desenvolvimento embrionário do barbeiro. 6 a 7 dias após essa postura, os ovos parasitados, em consequência do desenvolvimento de *T. fariai*, começam a escurecer, acabando por ficar negros. Apesar disso, o córion permanece transparente; por baixo dele vê-se a membrana vitelina pardacenta e, no interior, as larvas de cor esbranquiçada. Depois da última equidise, surgem as pupas, esbranquiçadas a princípio, completamente negras depois de alguns dias. A porção da cavidade do ovo correspondente ao opérculo, fica cheia de uma massa amarelo-pardacenta, possivelmente excrementicial.

Escreve, a seguir, Costa Lima: "As formas adultas nascem poucos dias depois. Estas permanecem algumas horas dentro do ovo sem perfural-o (\*)".

---

(\*) O grifo é nosso.



A seguir, uma delas faz com as mandíbulas uma abertura circular no córion, geralmente no polo oposto ao opérculo, da largura do corpo. Passa por ela, seguindo-se os demais insetos, que saem todos, portanto, pela mesma abertura.

Este ciclo se processa com velocidade dependente da temperatura. Segundo ainda Costa Lima, da postura à saída das fêmeas adultas, numa temperatura de 19° a 21° C, há de 27 a 35 dias, isto é, 30 dias, em média. A influência da temperatura é fácil de ser demonstrada, pois Costa Lima pôde, entre 4° e 5,5° C, atrasar o desenvolvimento para um mínimo de 52 dias, contra 27 nos testemunhos.

Quanto ao número total de vespas (já vimos o número médio) que nasceram de cada ovo de barbeiro, viu Costa Lima que: **T. megista**, infestação natural, 6 a 16 vespas e infestação experimental, 2 a 12 vespas. **T. sordida**, infestação experimental, 2 a 7 vespas. O número maior de vespas nascidas da infestação natural, seria, talvez, devido (pensamos nós) ao superparasitismo, pois Costa Lima sempre experimentou, infestando cada ovo de barbeiro por uma única e mesma vespa.

Costa Lima viu ainda que, não raramente, se observa um ou outro ovo vasio de **Triatoma**, reduzido ao córion translúcido. Além disso: “Observam-se também ovos apresentando larvas ou mesmo nymphas de **Telenomus** que não completaram o desenvolvimento e morreram” e “É possível que a simples perfuração do ovo de **Triatoma** pelo oviscapto de **Telenomus**, não seguida de postura, seja suficiente para impedir o desenvolvimento do ovo do barbeiro”.

Verificou Costa Lima que qualquer fêmea, tenha ou não copulado, começa a fazer as posturas. Nesse sentido, tôdas as fêmeas se comportam da mesma maneira, sendo o número de ovos postos “diretamente proporcional ao volume” do ovo de **Triatoma**.

O desenvolvimento embrionário das “larvas e ninfas” originadas de ovos de fêmeas que não copularam, faz-se “apparentemente, como na prole oriunda de fêmeas fecundadas, delles, porem, só se originam individuos do sexo masculino.

A parthenogenese do **Telenomus fariai** é, pois, normal, facultativa e arrhenotoca”. Costa Lima refere-se a Wasilliew que, em 1904, já havia visto semelhante fáto em 2 espécies da subfamília **Telenominae**: **Telenomus sokolowi** Mayr, parasito dos ovos de **Eurygaster maura** L. e **Microphanurus wasilliewi** (Mayr), parasito dos ovos de **Eurygaster integriceps** Puton.

Já vimos que a longevidade das fêmeas partenogénicas parece ser menor do que a das fecundadas e já referimos que uma vespa não copulada viveu 37 dias, e pôs ovos que deram nascimento a 138 machos. Por outro lado, em 13 ovos atacados, nenhum parasito chegou ao termo de seu desenvolvimento. Logo, parece razoável a seguinte conclusão nossa: há menor viabilidade dêsses machos, ou, pelo menos dos ovos, onde só há machos. O número de machos nascidos de cada ovo de barbeiro, onde seu desenvolvimento foi regular, oscilou entre 4 e 9, sendo mais frequente o número 7, no caso de *T. megista* e 3, no de *T. sordida*, onde há, também, 4 como número frequente.

Chegamos, agora, à descoberta mais importante (para nós) do trabalho de Costa Lima, pois foi o ponto de partida para nossos trabalhos: “O que ha, porem, de mais interessante na parthenogenese do *T. fariyai*, é que os machos que se geram por este processo são bem diferentes dos que se originam de femeas fecundadas. Enquanto que estes são individuos de pequeno porte (0,78 a 0,80 mm) aquelles são tão robustos ou mesmo mais robustos que as femeas e medem 1,08 a 1,18 mm de comprimento”.

Costa Lima procurou uma explicação para essa interessante verificação a que chama “dimorphismo nos machos”. Costa Lima acredita que essa diferença, por êle encontrada, distingue os machos provenientes de fêmeas que copularam, dos derivados de fêmeas virgens. Como, neste último caso, não é lícito pôr-se em dúvida seu desenvolvimento partenogénico, acreditou Costa Lima poder concluir que naquelas não houvesse lugar para partenogênese. Então, os ovos fertilizados dariam origem ou a fêmeas (como é geralmente admitido), ou a machos pequenos, o que constitue grande novidade, pois os machos dos himenópteros, ditos arrenótocos, como foi visto na 1.<sup>a</sup> parte, são geralmente considerados como derivados de partenogênese.

Costa Lima expõe mais explicitamente suas idéias, usando o seguinte simbolismo: “os ovos fertilizados de femeas devem, pois, apresentar a formula chromosomica:  $N + 2X$  ( $N$  representando o numero de autossomas); e os ovos oriundos

das femeas parthenogeneticas:  $\frac{N}{2} + X$ .

Admitindo-se, porem a existencia de machos oriundos de ovos fertilizados, estes deverão apresentar a fórmula:  $N + X$ , isto é, os individuos que delles se originam, embora tenham um só chromosomio  $X$ , que lhes determina o sexo masculino,

apresentam, entretanto, um numero duplo de autosomios, são pois, diplóides”.

Costa Lima considera sua explicação “tanto mais aceitavel”, quanto “recentemente Whiting baseado em experiencias geneticas feitas com uma especie de *Habrobracon*, evidenciou a existencia da diploidia nos machos desta especie, de origem biparental”.

Notemos, desde logo, quanto seria estranho que animais haplóides, excepcionais, fossem maiores do que os machos diplóides. E Costa Lima os considera “tão robustos ou mesmo mais robustos do que as femeas” diplóides (embora os devamos ter, como vimos, por menos viáveis do que essas suas irmãs diplóides!). Por outro lado, os machos diplóides a que se refere A. R. Whiting, 1927, são seres excepcionais, ao passo que, em *T. fariai*, tais animais seriam os machos normais. Outras dificuldades levantadas pela teoria de Costa Lima serão, a seguir, examinadas. Há, no entanto, uma que precisa ser esclarecida desde já. Se a determinação do sexo, em *T. fariai*, fôr devida a espermatozóides diferentes, então essa determinação não poderá ser controlada pela fêmea. Chame-mos, para tornar mais compreensível o simbolismo de Costa Lima (\*),  $2A + 2X$ , às femeas diplóides;  $2A + X$ , aos machos diplóides e  $A + X$ , aos machos haplóides ( $A =$  autossomas). Então, um macho diplóide, isto é, um macho comum (pois, nos animais, onde a cópula é possível, femeas virgens e, portanto, machos haplóides são sempre excepcionais) formará igual número de espermatozóides  $A + X$  (fatores de femeas) e  $A$  (fatores de machos diplóides). A fêmea copulada não poderá escolher em sua espermoteca, um espermatozóide  $X$  ou  $0$  para o utilizar na fecundação. Em consequência do fato que a espermatogênese de um macho  $X$  conduz a igual número de espermatozóides  $X$  e  $0$ , devemos ter, finalmente, 50 % de fertilizações pelo espermatozóide  $X$  e 50 % pelo espermatozóide  $0$ , ou seja, uma relação sexual de 1 para 1. Se, ao contrário, o sexo masculino fôr devido ao desenvolvimento partenogenético, é simples compreender o contróle sexual do

---

(\*) O simbolismo adotado por Costa Lima tem o seguinte inconveniente: chama  $N$  a 2 doses de autossomas;  $X$  a 1 dose de cromossoma sexual. De sorte que, um animal com 2 doses de cada, é

grafado  $N + 2X$  e o que tem 1 só de cada,  $\frac{N}{2} + X$ . O sistema por

nós proposto e que concorda com os habitualmente adotados, parece-nos melhor, por ser homogêneo:  $A$  ou  $2A$ ,  $X$  ou  $2X$ .

produto, pela fêmea, como já foi mostrado na primeira parte. Há, portanto, contradição entre a afirmação de Costa Lima, por nós já transcrita, segundo a qual há uma intervenção da fêmea “na qualidade sexual dos ovos” e sua concepção do controle do sexo por cromossomas sexuais, contradição que é muito razoável tenha escapado a Costa Lima, cujas preocupações habituais não são da ordem das que estamos analisando.

Em 1929, publicou Toledo Piza Jr. um pequeno trabalho destinado a esclarecer dúvidas relativas à “theoria” de Costa Lima. Não forneceu qualquer fato novo genético ou citológico, como fôra pedido expressamente por Costa Lima, limitando-se a argumentar com os dados objetivos que se encontram no trabalho daquele Autor (1928). Infelizmente, parece-nos e, salvo melhor juízo, que Toledo Piza Jr. longe de esclarecer o problema, tornou-o mais confuso, pois, como se verá mais adiante, o enriqueceu de novas contradições. Por isso e pela ausência de fatos novos, limitar-nos-emos a discutí-lo apenas nos tópicos diretamente ligados ao problema da determinação do sexo em *T. fariai*.

Toledo Piza assinala que machos haplóides  $A + X$  deverão produzir uma só categoria de espermatozóides, a saber:  $A + X$ . Essa opinião razoável repousa, como já sabemos, sobre nossos conhecimentos relativos à espermatogênese nos himenópteros arrenótocos. Pede, então, a Costa Lima que lhe explique como poderão tais machos dar origem, quando fecundarem uma fêmea diplóide, a machos diplóides  $2A + X$ . Costa Lima explicou essa origem, por carta dirigida a Toledo Piza, apelando para a não disjunção.

E’ claro que se um ovócito retiver seus 2 cromossomas  $X$  ou os eliminar ambos, formará ovócitos  $A + 2X$  ou  $A + 0$ . Então, o espermatozóide  $A + X$ , fertilizando o primeiro tipo de óvulo, daria um produto  $2A + 3X$  (fêmea normal para Costa Lima, ou combinação letal para Toledo Piza); fertilizando o segundo, um macho diplóide  $2A + X$ .

Toledo Piza Jr. declara-se “mais ou menos satisfeito” com essa explicação, cuja verossimilhança nos parece discutível, pois a não disjunção é um fenômeno raro, um acidente, e só dificilmente poderia explicar os resultados regulares observados por Costa Lima e com os quais os nossos também concordam (como se verá). Até aqui, tudo está claro. Costa Lima respondeu à pergunta que lhe fôra feita, relativa à gênese dos machos diplóides a partir de machos haplóides. Não se referiu à gênese a partir de machos diplóides, por ser ela uma

consequência automática, elementar, da constituição genética que lhes havia atribuído ( $\delta$   $2A + X \rightarrow A + X, A + 0$ ).

No entanto, Toledo Piza, logo a seguir, lança grande confusão no problema, ao se preocupar com o comportamento dos machos diplóides, comportamento que, como se acaba de ver, parecia tão claro. Admite que se formem, como seria razoável supor, a partir da fórmula que lhes atribuiu Costa Lima ( $2A + X$ ), as duas já citadas classes de espermatozóides ( $A + X$  e  $A + 0$ ). Dá-nos uma tabela (pág. 8) do que aconteceria, se tais espermatozóides fecundassem óvulos normais ou não-disjuncionais das 2 classes, e postula a inviabilidade das combinações  $2A + 3X$  (óvulo  $A + 2X$  e espermatozóide  $A + X$ ) e  $2A$  (óvulo  $A +$  espermatozóide  $A$ ), concluindo: “As combinações  $NXXX$  ( $2A + 3X$ ) e  $N$  ( $2A$ ) serão inviáveis. As outras darão fêmeas do typo único e machos diploides em numeros eguais.

O numero de machos diploides na natureza continuará sempre na dependencia do numero de oogeneses anormaes, ou seja, do numero de não disjuncções (esquecendo-se de que os machos diplóides é que são os machos comuns e estes dariam igual número de descendentes masculinos e femininos!). A proporção entre as trez categorias de individuos conhecidas dependerá, portanto, exclusivamente do acaso, não podendo a fêmea, de modo nenhum, influir na determinação do sexo da sua prole. Durante a postura não ha, pois, em cada ovo de barbeiro, uma distribuição de ovos de *Telenomus* de accordo com a qualidade sexual desses ovos, como pensa Costa Lima”.

Ora, Toledo Piza começa dizendo que as combinações viáveis darão fêmeas e machos diplóides em números iguais e, logo a seguir, que o número de machos, na natureza, continuará sempre na dependência do número de ovogêneses anormais (não-disjunção)! E' claro, como já foi dito várias vezes, que havendo espermatozóides  $A + X$  e  $A$ , formados em igual número pelos machos diplóides, o número de machos, na natureza, deverá ser igual ao de fêmeas e nada terá que ver com as ovogêneses anormais! Estas poderiam apenas explicar de que maneira machos haplóides que, como já vimos, devem ser excepcionais, poderão dar origem a um ou outro macho.

Toledo Piza Jr. estabeleceu que “a proporção entre as trez categorias de individuos (fêmeas, machos haploides, machos diploides) dependerá, portanto, exclusivamente do acaso, não podendo a fêmea, de modo nenhum, influir na determinação do sexo de sua prole”. Ora: a) quando uma fêmea vir-

gem põe ovos, deles só nascem machos. Isto é precisamente o inverso do acaso. Há determinação absoluta do sexo. b) vejamos a relação entre fêmeas e machos diplóides que devem ser simultaneamente formados pela fêmea fecundada. Os dados de Costa Lima e os do presente trabalho mostram, de modo inequívoco, que há muito maior número de fêmeas do que de machos, cujo número habitual é 1, para cada ovo de barbeiro. Donde a conclusão necessária: o sexo de *T. fariái*, também quando se trata de fêmea copulada, não pode ser atribuído ao acaso. Haveria acaso, se houvesse igualdade de sexos, e, então, tanto poderia fecundar o óvulo, o espermatozóide X ou o 0; ou, ainda, se o aparecimento de 1 macho fosse um fenômeno esporádico, dependente de um acidente excepcional, a não-disjunção. Mas, então, não teríamos o resultado uniforme que é o realmente observado. O acaso não escolhe e, portanto, não pode responder pelo sexo em *T. fariái*.

Do exposto, decorre que a proposição do Prof. Toledo Piza Jr. "Durante a postura não ha, pois, em cada ovo de barbeiro, uma distribuição dos ovos de *Telenomus* de accordo com a qualidade sexual desses ovos como pensa Costa Lima" está em desacordo com os fatos observados tanto por Costa Lima, como por nós (como se verá adiante). A seguir, Toledo Piza Jr. escreve: "Quanto ao problema do sexo nos Hymenopteros, nada foi feito ainda, etc. . .". Lembremos que o trabalho do Prof. Piza Jr. foi publicado em 1929, época em que já eram bem conhecidos e já figuravam em livros de vulgarização, os magistrais trabalhos de Bridges e outros geneticistas sôbre a determinação do sexo em *Drosófila*. Esses trabalhos, a que nos referimos na 1.<sup>a</sup> parte, já haviam mostrado (por causa dos inter e supersexos) que o sexo não depende do número absoluto de cromossomas sexuais e, sim, da relação entre autossomas e cromossomas sexuais. Em conclusão, Toledo Piza Jr. que afirmára, contra a evidência dos fatos, a determinação do sexo pelo acaso, não levou também, em conta, os dados já então clássicos sôbre a determinação do sexo pelos cromossomas, tanto os chamados sexuais, como os autossomas, aceitando o mesmo balanço gênico para os machos

$$\text{haplóides } \left( \frac{A}{X} = 1 \right) \text{ e fêmeas diplóides } \left( \frac{2A}{2X} = 1 \right).$$

## 2 — Material e técnica

O material usado no presente trabalho, bem como nos anteriores (um deles em curso de publicação na revista

“Genetics”), sôbre o mesmo assunto, foi-nos gentilmente fornecido por Costa Lima, a quem renovamos nossos agradecimentos.

A técnica empregada para manter as vespas em bom estado, é semelhante à aconselhada por Costa Lima. Os ovos de barbeiro (trabalhamos sempre com ovos de *Triatoma infestans*) eram colocados em pequenos tubos de vidro (tubos de hemólise) fechados com uma rolha de algodão. Uma vez nascidas, as vespas eram alimentadas com mel, usado em muito pequena dóse, geralmente, e uma só vez, na rolha de algodão.

Os preparados foram feitos pelos métodos clássicos: preparações totais para os estudos topográficos, obtidas por dissecação de adultos, pupas ou larvas. Cortes totais de larvas, pupas e adultos também foram largamente usados. A retirada das larvas, ou pupas, de dentro dos ovos de barbeiro era sempre feita com a lupa de Greenough. Em seguida, o material era fixado em Duboscq-Brasil ou Gilson-Petrunkewitsch e incluído em parafina.

As colorações foram feitas pela hematoxilina férrica, com ou sem coloração de fundo e, também, pelo método de Feulgen.

E' possível usar cortes corados pelo Feulgen, retirar a lamínula e, em seguida, corá-los com hematoxilina férrica. As preparações ficam muito boas. Esse mesmo método foi muito usado, substituindo-se a hematoxilina pelo carmim de Meyer e coloração do fundo com verde luz. As preparações ficam muito transparentes, mas o verde luz se descora rapidamente.

Tais métodos de fixação e coloração foram largamente usados, também, em órgãos inteiros, os quais são muito pequenos e se prestam a essa técnica. Por exemplo, o testículo da larva é isolado em água fisiológica e picado; suas células, então, extravazam. Substituindo-se, agora, a água fisiológica pelo fixador (por exemplo, Gilson-Petrunkewitsch) as células ficam otimamente fixadas e aderem ao vidro. Em seguida, cora-se, desidrata-se, fecha-se. Já para o ovário é preciso uma pequena dissecação prévia dos tubos ováricos. Essa mesma técnica foi usada em muitos outros órgãos (gânglios nervosos, por exemplo) para o estudo das mitoses somáticas.

Usamos largamente, também, carmim acético e orceina acética, para o estudo dos cromossomas, tanto das gonadas, como das células somáticas. O órgão a estudar é esmagado no líquido. Em seguida, a preparação é parafinada e pode ser examinada durante alguns dias. Para prolongar a con-

servação das lâminas, é aconselhável conservá-las na geladeira sempre que não estejam sendo examinadas. As preparações pelo carmim acético, embora menos belas, são mais duradouras do que as obtidas com orceina acética. Quando se tem sorte, preparações pelo carmim acético podem ser definitivas a partir destes métodos de esmagamento e segundo a técnica clássica (desprendimento da lamínula no álcool a 70°, desidratação, fechamento em bálsamo).

Agradecemos ao ilustre geneticista Prof. Th. Dobzhansky os excelentes conselhos que nos deu a respeito de várias das questões aqui estudadas.

### 3 — Unicidade ou dualidade dos machos e alguns aspectos da biologia de “*T. fariai*”

O ponto de partida de nosso trabalho foi, como já tivemos ocasião de assinalar, o desejo de esclarecer a questão da unicidade ou dualidade dos machos, aceita por Costa Lima, como hipótese de trabalho. A este propósito, já publicámos, na Revista Brasileira de Biologia, um trabalho especial, do qual, a seguir, daremos um resumo.

Nosso primeiro cuidado foi obter fêmeas virgens, afim de conseguir machos grandes e compará-los com os machos pequenos e com as fêmeas que são os animais derivados das fêmeas que copularam.

No começo, não nos foi possível realizar este desiderato, pois esperávamos o nascimento espontâneo das vespinhas e, logo a seguir, as isolávamos individualmente. Apesar desse cuidado, os ovos de barbeiro, por elas parasitados, davam regularmente nascimento a muitas fêmeas e um ou poucos machos! Depois de repetir várias vezes esta observação, ficou bem clara a conclusão verdadeiramente estranha e, segundo nos parece, até hoje não observada: as vespas já nascem copuladas. Então, a regra seria a seguinte: o macho começa por copular com suas irmãs, dentro do ovo de barbeiro, e, quando o abandona, em geral já exerceu sua função.

Costa Lima já vira e nossas observações confirmam que a fêmea de *T. fariai* dá muito maior número de filhas do que de filhos e isso apesar de *Telenomus fariai* ser uma vespa solitária, cujas fêmeas devem ser todas fecundadas. Nos himenópteros sociais, onde há castas de operários, soldados, etc., e apenas uma ou poucas fêmeas funcionais, compreende-se logo que o número de machos deva ser pequeno, proporcionalmente ao dos indivíduos componentes daquelas castas. Agora, em *T. fariai* não havendo castas, cada fêmea deverá copu-



lar para multiplicar a espécie. Por isso, podia-se esperar igual número de machos e fêmeas. No entanto, se o animal desenvolve um mecanismo que lhe assegura a cópula antes de sair do ovo parasitado, é claro que o número de machos pode baixar muito, sem inconveniente.

Em rigor, um único macho bastaria para fecundar tôdas as suas irmãs e, portanto, um único macho, por ovo de barbeiro, é o que se poderia esperar que a seleção natural tivesse feito prevalecer na evolução da espécie. Realmente, assim é. De cada ovo de barbeiro, parasitado, saem geralmente 1 ou 2 machos; os outros animais são fêmeas (tabela n.º 2).

**Tabela n.º 2**

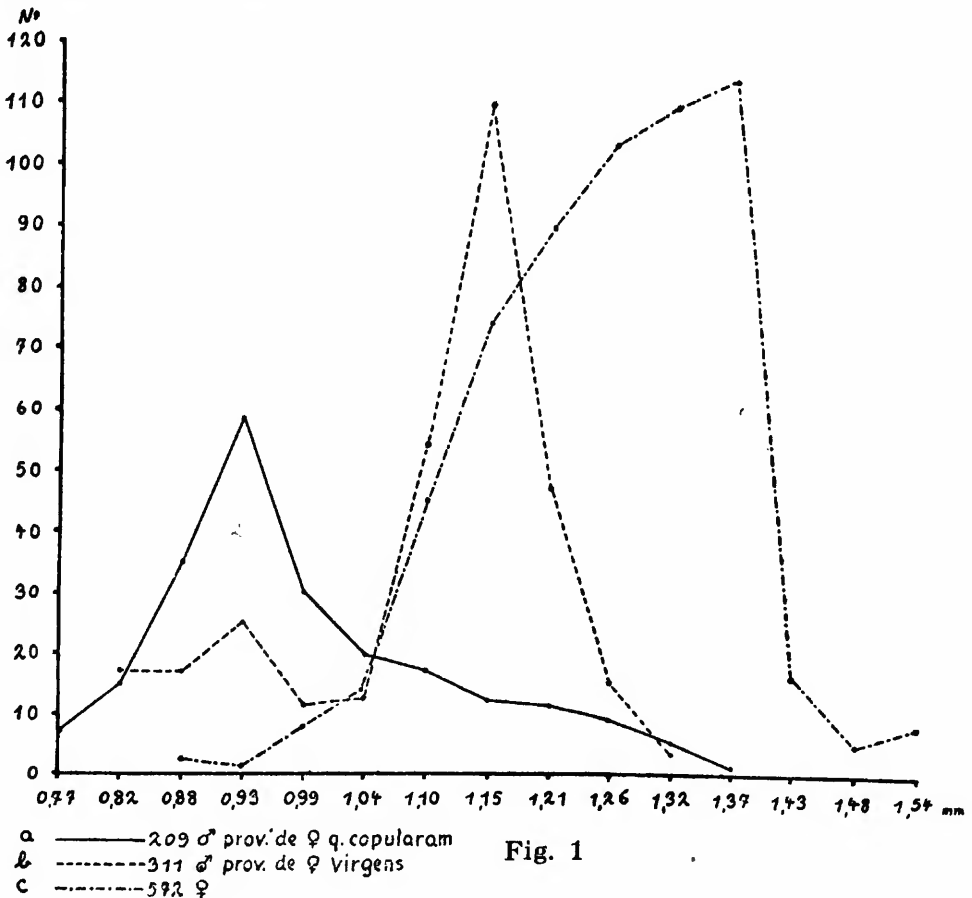
Nº de ovos de barbeiro	Vespas		Nº de ovos de barbeiro	Vespas		Nº de ovos de barbeiro	Vespas	
	♀	♂		♀	♂		♀	♂
3	8	2	2	9	1	10	7	-
3	7	2	28	8	1	9	6	-
4	6	2	72	7	1	8	5	-
1	5	2	67	6	1	8	4	-
			21	5	1	4	3	-
			4	4	1	4	2	-
			3	3	1			
			0	2	1			
			3	1	1			
11			200			43		

Como poderemos obter fêmeas virgens? Usámos o seguinte método. Ao observar os primeiros movimentos das vespas, dentro do ovo de barbeiro, abríamos, retirávamos os animais e os isolávamos. Um de nós, conversando com Costa Lima, teve o prazer de saber que o processo usado por êsse entomologista para obter fêmeas virgens, fôra exatamente o que acabámos de descrever. Tivesse Costa Lima esperado a saída espontânea das vespas e certamente teria observado o fato que acabámos de referir.

Antes de prosseguir, torna-se necessário salientar uma consequência importantíssima da fecundação das fêmeas, por seus irmãos. Em *T. Fariai* existe **stricta consanguinidade**. Só excepcionalmente, uma fêmea será fecundada por um macho que não seja seu irmão.

\* \* \*

Obtidos os machos das duas categorias, ou seja, os que derivam de fêmeas copuladas e os que derivam de fêmeas vir-



gens, fica desde logo claro que Costa Lima tem razão, em primeira aproximação, quando admite essas duas categorias. Olhando para a figura 1, vê-se que a moda de 209 machos (a), filhos de fêmeas que copularam, está na classe 0,93 mm. Ao contrário, 311 machos, filhos de fêmeas virgens, têm sua moda (b) em 1,15 mm, moda inferior à de 572 fêmeas (c), que é 1,37 mm. Agora, esta figura 1 mostra que as duas curvas correspondentes aos dois supostos tipos de machos, se recobrem largamente. Assim, não só se encontram machos, filho de fêmeas que copularam, com 1,15 mm., isto é, tão grandes como os da moda dos machos, filhos de fêmeas virgens, mas até 2 animais com 1,37 mm., maiores do que os maiores da classe grande!

Então, ao lado de sua extraordinária semelhança morfológica, já reconhecida por Costa Lima, vemos que a questão do tamanho é apenas um problema de frequência: os machos, filhos de fêmeas virgens, são mais frequentemente grandes; os outros, mais frequentemente pequenos.

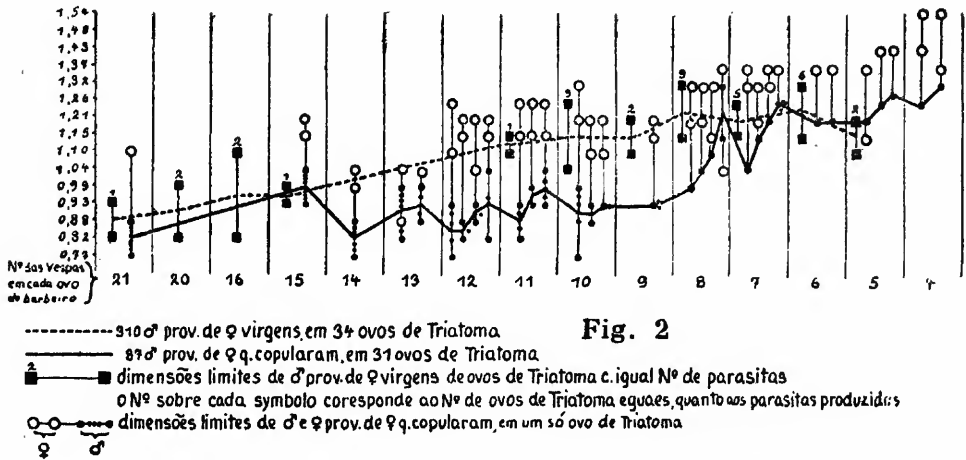
Costa Lima achou valores diferentes dos nossos para as três classes de indivíduos, a saber: 0,78 a 0,80 mm. para os machos provenientes de fêmeas que copularam (nossos valores: 0,77 a 1,37); 1,08 a 1,18 mm. para os machos nascidos de fêmeas virgens (nossos valores: 0,88 a 1,32) e 1 mm. para as fêmeas (nossos valores: 0,82 a 1,54). Embora, como já tenhamos dito, os valores achados por Costa Lima se superponham até certo ponto aos nossos, há sensíveis diferenças entre nossas verificações e as dele, especialmente quanto ao tamanho das fêmeas que se mostraram, em São Paulo, sensivelmente maiores do que em Manguinhos. Quanto aos machos, há relativo acordo, se tomarmos apenas as modas das nossas duas classes e os dados de Costa Lima. Examinando-se, agora, o conjunto de machos, vê-se que seu tamanho é bastante variável nas duas classes que começam e terminam com mais ou menos iguais valores. Não é fácil encontrar uma explicação para essas diferenças. Não nos parece provável que dependam da espécie do ovo de barbeiro usado (Costa Lima usou *T. megista* e *T. sordida* e nós usámos *T. infestans*).

Diante dos resultados por nós observados, pareceu-nos pouco provável que estivessemos, de fato, diante de duas categorias diferentes de machos, o que logo procurámos tirar a limpo, utilizando as duas classes de machos para, com elas, fecundar as fêmeas. Ficou desde logo bem claro, que as duas supostas classes de machos funcionavam exatamente da mesma maneira. Qualquer que seja o macho usado para fecundar uma fêmea, seus filhos serão muitas fêmeas e 1 ou poucos

machos, resultado que está indicando que provavelmente todos os machos são citologicamente idênticos (ver tabela n.º 2). Já analisámos as discussões teóricas que sobre este assunto foram feitas, e vimos que machos  $2A + X$  dariam 50 % de descendentes de cada sexo. Ao contrário, machos  $A + X$  dariam 100% de fêmeas e só acidentalmente, quando houvesse alguma anormalidade na ovogênese, como, por exemplo, uma não disjunção, teríamos um ou outro macho.

Procuraremos, então, esclarecer a razão dessa diferença de tamanho dos machos.

Foi-nos ela dada pelo estudo do desenvolvimento das vespas. Pudemos verificar que as larvas masculinas são menores do que as femininas da mesma idade (fig. 6). A distinção entre os 2 sexos, na larva, foi feita pela contagem dos cromossomas, duas vezes mais numerosos na fêmea (20) do que no macho (10). Assim sendo, parece razoável supôr-se que as larvas femininas esgotem as reservas do ovo de barbeiro, antes que as masculinas tenham podido atingir seu tamanho máximo. Por isso, são elas menores do que as femininas. Agora, se o ovo de barbeiro não contiver fêmeas, as larvas masculinas, embora se desenvolvendo mais lentamente, poderão, livres da concorrência de suas irmãs, atingir um maior tamanho, sendo elas os únicos animais que se utilizam da substância do ovo de barbeiro. Por outras palavras, as possibilidades das larvas masculinas não são inferiores às de suas irmãs. Não é o genotipo o responsável pelo menor tamanho dos machos que têm irmãs, do que o dos que não as têm, e, sim, apenas o não disporem, em geral, aqueles, de tanto alimento quanto êstes. Uma excelente demonstração do que acabámos de dizer, é-nos, também, fornecida pelo exame do tamanho das vespas, quando o ovo de barbeiro dá nascimento a poucas ou muitas vespas. A fig. 2 fala por si só e dispensa maiores discussões. Basta olhar, mesmo superficialmente, para essa figura, onde foram assinalados ovos de barbeiro que deram nascimento desde 4 até 21 vespas, para ver que, independentemente da natureza do conteúdo do ovo do barbeiro (só machos ou machos e fêmeas), os ovos com muitas vespas dão origem a animais pequenos; os outros, animais grandes. O que é bem claro é que, havendo machos e fêmeas, estas são sempre grandes em relação àqueles, por causa do já citado desenvolvimento larval, mais rápido.



Tomando-se, agora, ovos de barbeiro que deram um mesmo número de descendentes, em alguns casos, machos e fêmeas e, em outros, só machos, vê-se que o tamanho das fêmeas do primeiro caso é da mesma ordem que o tamanho dos machos, do segundo. É o que ressalta claramente, se examinarmos na fig. 2, por exemplo, os ovos em que houve 8 e 9 descendentes e, ainda, embora menos nitidamente, os de 5, 6, 7, 10 e 11 descendentes. Quanto aos ovos que deram muitos descendentes 15 e 21, as fêmeas são bem maiores do que os machos derivados de fêmeas virgens. Parece-nos, também, fácil explicar esta discrepância. Havendo muitas larvas, é pouco provável que tôdas possam se alimentar até atingirem o limite compatível com suas possibilidades genótípicas. Agora, se há fêmeas e machos, êstes (embora pouco numerosos) se desenvolvendo mais devagar, permitirão que suas irmãs cresçam mais do que os machos nascidos de fêmeas virgens que têm de lutar com a concorrência de todos os seus companheiros de ovo.

Chegados a êste ponto, passemos à análise de outro aspecto de nosso problema e que também nos vai mostrar que a teoria da dualidade dos machos é inaceitável.

Trata-se do já citado argumento do próprio Costa Lima, referente ao contrôle do sexo pela fêmea. É perfeitamente claro, que um contrôle cromossômico do sexo não poderia explicar facilmente a evidente intervenção da fêmea, mostrada de modo claro por Costa Lima e confirmada por nós. Basta olhar para a nossa tabela 2. Cada ovo de barbeiro foi parasitado por uma única vespa. Os resultados foram os seguintes: 200 ovos de barbeiro deram 1 único macho para 1 a 9 fêmeas. Se desprezarmos a 1.<sup>a</sup> e as 4 últimas classes que

totalizam apenas 12 ovos, ficam 188 ovos que deram 5 a 8 fêmeas. Dêses 188, houve 138 que deram 6 ou 7 fêmeas para 1 macho. Em 43, houve 2 a 7 fêmeas para 0 macho e, em 11 ovos, 5 a 8 fêmeas para 2 machos.

Ora, se a fêmea controla, como de fato controla, o sexo de seus filhos, ou pelo menos intervém sobre a fecundação, determinando, assim, a formação de fêmeas, já se vê que o sexo não pode depender de duas classes de espermatozóides, pois como sabemos de sobra, espermatozóides de 2 classes (**X** e **0**, por exemplo) dariam 50 % de descendentes de cada sexo. Podemos, é verdade, postular pequenas diferenças na velocidade dos movimentos dessas 2 classes de gametos e realmente assim se tem explicado a leve predominância de um sexo sobre o outro, verificada em tantos casos. O espermatozóide **0** ou **Y**, tendo menos carga cromatínica a deslocar (**Y** é geralmente menor do que **X**), seria mais veloz e, por isso, mais vezes interviria na fecundação.

Por outro lado, já vimos na 1.<sup>a</sup> parte dêste trabalho, que, em *Habrobracon*, quando há formação de machos diplóides (em consequência do *inbreeding*), o número dêstes deveria ser teoricamente igual ao das fêmeas ( $\text{♀ Xa Xb} \times \text{♂ Xa} = \text{♀ Xa Xb} + \text{♂ Xa Xa}$ ). No entanto, é menor por causa da fraca viabilidade dêses machos. Aquí está, portanto, um exemplo em que a-pesar-de não haver o contrôle do sexo pela fêmea, temos muito mais fêmeas do que machos diplóides.

Agora, não nos parece que se possa comparar o que acontece em *Habrobracon* com o sucedido em *T. fariai*, pois, neste último caso, há regularidade na determinação do sexo dos descendentes. De um modo geral, temos  $n - 1$  fêmeas para 1 macho, cada vez que uma vespa põe em um ovo de barbeiro.

Em resumo, o contrôle do sexo pelas duas classes de espermatozóides conduz ou à igualdade ou à quasi igualdade dos sexos, ou ainda a relações variáveis entre os dois sexos, por causa da menor viabilidade de um deles. Como, porém, em *T. fariai* existe regularidade satisfatória na relação entre os dois sexos e, ainda, de um tipo especial ( $n - 1$  fêmeas para 1 macho), fica excluído êsse contrôle.

Procuremos, agora, compreender como é possível que a fêmea, em certas posturas, não nos forneça nenhum macho. A primeira explicação que nos acudiu, analisando os dados de Costa Lima e os nossos, foi que isso se deveria, em grande parte, ao tamanho do ovo de barbeiro parasitado. E' assim que Costa Lima, em *Triatoma megista*, espécie que põe ovos grandes, encontrou 17 vezes, em 18 casos observados, 100 %

de fêmeas, o que dá 94,4 %; ao passo que, em *T. sordida*, espécie que tem ovos pequenos, viu êsse resultado ser obtido em 33,3 % dos casos (30 vezes em 90 ovos).

Trabalhando com *T. infestans*, espécie que põe ovos grandes, obtivemos 254 ovos, dos quais 43 com 0 macho, o que significa 16,9 %. De tais dados, parece sobressair que o tamanho do ovo de barbeiro tem uma certa influência sôbre a existência ou não de machos, embora não seja êsse um fator decisivo, pois mesmo com ovos pequenos, em 66 % dos casos, está presente o macho.

A conclusão que acabámos de pôr em evidência, tem outro aspecto interessante, pois parece mostrar que, provavelmente, o ovo para macho não é o primeiro posto pela fêmea de *T. fariái*, uma vez que, em tantos casos, não há nenhum macho. A hipótese de ser o ovo produtor de macho, o primeiro a ser posto, simplificaria o problema da determinação do sexo em *T. fariái*, porque se poderia admitir que, ao ser posto o primeiro ovo, não funciona o mecanismo que permite a fertilização, o qual seria posto em ação, daí por diante.

Se a questão do tamanho do ovo parece esclarecer, até certo ponto, por que motivo, às vezes, não há macho algum nas posturas da vespa, não esclarece, no entanto, totalmente o assunto. E' isso porque mesmo com ovos grandes, como os de *T. megista* e *T. infestans*, obtêm-se, muitas vezes, posturas formadas apenas por fêmeas.

Tabela n.º 3

Vespa N.º 1		Vespa N.º 2		Vespa N.º 3	
♀	♂	♀	♂	♀	♂
6	1	8	1	6	1
7	1	7	1	7	1
7	1	8	1	7	1
7	1	7	2	7	1
6	2	5	1	6	1
8	1	6	1	7	1
5	-	7	1	6	1
		4	1	6	-
		6	1	6	1
		4	1	5	-
		2	-		

Foi, então, que resolvemos verificar o que aconteceria se puzéssemos à disposição de uma vespa, um grande número de ovos de barbeiro. Os resultados aparecem na tabela n.º 3. Vê-se que a vespa n.º 1 pôs sucessivamente ovos em 7 ovos de barbeiro; só no último não houve machos. A vespa n.º 2 parasitou 11 ovos de barbeiro e também só do último não nasceram machos. Finalmente, a vespa n.º 3 parasitou 10 ovos e os de n.ºs 8 e 10 não deram nascimento a macho algum. Consideramos êstes resultados como muito importantes para o esclarecimento do problema em discussão. Nos três casos, só os últimos ovos parasitados não deram nascimento a macho algum. Até certo ponto, é o contrário do que se deveria esperar, pois o esgotamento, na fêmea, da provisão de espermatozoides, traria como consequência que, daí por diante, só nascessem machos. Ora, é exatamente o contrário que se observa. Como explicar, então, êsse resultado imprevisto e realmente verificado? Poder-se-ia imaginar que o mecanismo inibidor da fecundação, não pode mais funcionar ou só dificilmente funciona na fêmea que já pôs um grande número de ovos. E' possível que o esgotamento de ovos no ovário da vespa altere a situação dos órgãos que são postos em jogo no mecanismo que assegura a fecundação, fazendo com que, depois que êsse esgotamento atingiu um certo valor, funcione sempre o mecanismo que promove a fecundação.

Costa Lima não nos diz se, em seus casos, as posturas que deram somente fêmeas, foram as últimas, as primeiras, ou quaisquer, e é natural que assim seja, pois Costa Lima não se preocupou com o problema que estamos analisando agora. No nosso caso (tabela n.º 2), as vespas que constituem a última coluna (casos onde não havia machos), correspondem a animais que já haviam, anteriormente, posto em outros ovos de barbeiro.

Seja como for, fica bem claro que os fatos já sabidos, mostram o contrôle do sexo pela fêmea e, portanto, que Costa Lima tem razão, quando afirma que "ha uma verdadeira distribuição (pela fêmea) dos ovos, não só na quantidade, em relação com o tamanho do ovo de barbeiro a ser parasitado, como na qualidade sexual desses ovos". Costa Lima, porém, não tem razão, quando postula a existência de 2 classes de espermatozoides formados pelos machos diplóides ( $A + X$  e  $A + 0$ ) e, portanto, um contrôle cromossômico do sexo.

Há um aspecto, ainda, do problema do sexo das vespas nascidas de um mesmo ovo de barbeiro, que merece ser referido.

Quando oferecemos ovos de barbeiro a muitas fêmeas de



Faculdade de Filosofia  
Ciências e Letras  
Biblioteca Central

Tabela n.º 4

nº	vespas		nº	vespas		nº	vespas		nº	vespas		nº	vespas		nº	vespas		nº	vespas	
	♀	♂		♀	♂		♀	♂		♀	♂		♀	♂		♀	♂		♀	♂
1	7	8	1	10	5	1	10	4	1	11	3	1	12	2	12	1	1	1	6	0
2	8	6	1	6	5	2	9	4	2	10	3	2	11	2	10	1	1	5	0	0
1	7	6				1	7	4	6	9	3	10	10	2	9	1				
1	6	6				1	6	4	5	8	3	9	9	2	8	1				
						1	5	4	1	6	3	13	8	2	7	1				
						1	4	4				1	7	2	6	1				
												2	6	2	5	1				
															2	4	1			
															1	3	1			
5			2			7			15			38			44			2		

(nº = número de ovos de barbeiro parasitados)

**T. fariai** simultaneamente, e não a uma só, como nas experiências até agora referidas, então os resultados observados são um pouco diferentes. A tabela n.º 4 mostra o que sucede.

Embora na maioria das vezes, os resultados sejam semelhantes aos habituais (1 ou 2 machos foram obtidos 82 vezes; apenas 2 vezes, 0 macho e, 29 vezes, mais de 2 machos), 3 machos é um número bastante frequente (15 vezes) e, em certos casos, mais raros, esse número iguala e até supera o das fêmeas. Ora, abrindo-se ovos de barbeiro, submetidos à postura por várias vespas, vê-se que os ovos de vespa neles contidos são muito numerosos. Num caso, chegámos a contar 40. Como o número de vespas que nasceu é relativamente pequeno, somos forçados a admitir que se estabelecem neles uma concorrência pelo alimento, podendo, em alguns casos, sobreviver mais facilmente as larvas masculinas do que as femininas. Essa luta pela vida dentro do ovo de barbeiro, é ainda atestada pela necessidade de abrimos artificialmente o ovo, afim de permitir a saída das vespas, técnica indispensável sempre que o número de vespas é muito grande.

Voltando ao nosso problema, podemos concluir ter ficado suficientemente esclarecido o contrôle do sexo pela fêmea. Lembremos, finalmente, que, como já foi dito, seria estranho que, seres haplóides, excepcionais (pois, como já sabemos, para Costa Lima, os machos de **T. fariai** nascidos de fêmeas virgens seriam haplóides) fossem mais robustos do que machos normais diplóides, já por serem estes normais, já por serem diplóides.

No entanto, é claro que a prova decisiva da unicidade ou dualidade dos machos em **T. fariai**, só pode ser dada pela citologia. No que se vai seguir, estudando o ciclo cromossômico de **Telenomus fariai**, nos referimos sempre a uma só classe de machos, pois as contagens cromossômicas (em espermatogônias das larvas e também em células somáticas) mostraram claramente que tanto os machos, filhos de fêmeas virgens (figs. 15, 64), como os derivados de fêmeas que haviam copulado (figs. 14, 63, 65, 66), têm sempre 10 cromossomas e cromossomas perfeitamente equivalentes.

O leitor poder-se-á surpreender por termos terminado por onde, talvez, devêssemos ter começado, pois se a citologia mostra a identidade dos 2 tipos de machos, é inútil prosseguir na discussão sobre sua dualidade.

Foi, no entanto, intencionalmente que seguimos caminho inverso. E' que, tratando das outras provas dessa unicidade, tivemos oportunidade de analisar alguns aspectos da biologia

de *T. fariai* que nos pareceram interessantes e, ao mesmo tempo, esclarecer o porque da diferença de tamanho observada por Costa Lima e que deu origem à discussão que precede.

#### 4 — Desenvolvimento de “*T. fariai*”

No presente trabalho, não tivemos um interesse particular pelo desenvolvimento embrionário de *T. fariai*. Como, porém, a espermatogênese se passa toda ela na larva e na pupa, com o único propósito de auxiliar aqueles que pretenderem observar, repetir, emendar ou completar os dados aqui expostos, daremos, a seguir, um breve esboço que visa, principalmente, estabelecer os momentos mais interessantes desse desenvolvimento em sua relação com a espermatogênese.

O começo do desenvolvimento de *T. fariai* lembra muito o que se observa em *Litomastix floridanus* (*Paracopidosomopsis floridanus*), estudado por Patterson (1921). Logo de início, reconhecemos, no ovo em segmentação, duas regiões (fig. 4a): uma delas constitui uma espécie de chapéu que vai dar o trofâmnio e a outra, esférica, vai dar a larva. As divisões celulares são sincrônicas em cada uma das duas regiões do ovo, embora nem sempre o sejam uma em relação à outra. A seguir, evidenciam-se três regiões (figs. 3b e 4b). Depois, a cauda do ovo, tão característica, desaparece, assumindo, então, esse ovo um aspecto de blástula (figs. 4c e 5). Esta última forma é muito frágil, razão pela qual os preparados se rompem facilmente. A seguir, há uma invaginação, conduzindo a um aspecto de gástrula caliciforme (fig. 3d), que, se alongando, encurva-se, para caber em sua casca. Depois, o embrião sai da casca e começa a comer. Tem uma forma alongada e boca pequena (fig. 3e). Sendo muito voraz, cresce, acabando por tomar a forma de um elipsóide (fig. 3f), vendo-se, por transparência, o tubo digestivo cheio de uma massa amarela. Nesta fase, a larva masculina já se distingue da feminina, pelo seu tamanho menor.

A larva que até agora aumentara de tamanho, começa, então, a diminuir, observando-se uma condensação da massa amarela central que se reduz progressivamente e intensamente. Chegamos, assim, novamente a uma forma alongada, menor no macho do que na fêmea (fig. 6).

Surge, agora, uma cápsula em volta da larva que assim se transforma em pupa. Esta cápsula persiste bastante tempo, até a formação da imagem.

Se estudarmos o testículo na fase que acabamos de des-

crever, encontraremos nele espermatogônias e pequenas células em degeneração.

Começam, então, a se diferenciar as partes do corpo. A cabeça, o tronco e os membros aparecem. Já nas pupas jovens (pré-pupas), o testículo (figs. 7 e 8) mostra células em repouso e em crescimento (**Ruhe-Stadium** ou **Wachstum-stadium**).

Desaparece, então, a cápsula que envolve a pupa e os olhos da imagem se tornam amarelos, fase em que se vêm as divisões dos espermátócitos I. Quando os olhos se tornam alaranjados, começa a divisão abortiva dos espermátócitos II e, ao se tornarem eles vermelhos, se dá a espermiogênese. Devemos notar que a evolução desses espermátócitos se dá com grande rapidêz, devendo-se tomar como base os olhos alaranjados, na análise dessas fases.

Até agora, o corpo do animal permaneceu branco. Começa, então, a ficar cinzento, a partir da região dorsal. Nesta fase a espermiogênese está terminada e o testículo contém apenas espermatozóides.

O animal fica, a seguir, completamente preto. Os olhos se tornam pardos e, finalmente, também negros. O macho termina sua evolução antes da fêmea, o que se dá depois de ter passado por uma última equidise.

Como já sabemos, o macho vai agora copular com suas irmãs e, só depois disso, abandona o ovo do barbeiro.

Para terminar êste breve relato, diremos agora duas palavras sobre a organogênese das gonadas. Os testículos aparecem, a princípio, sob a forma de dois elipsóides ligados a duas massas de células, as futuras glândulas accessórias (figs. 9 e 10). Êste aspecto corresponde à larva jovem, quando a vemos cheia da massa amarela. Nota-se que o testículo está situado junto ao último gânglio nervoso. Mais tarde, o testículo se alonga, cresce e toma os aspectos que se vêm nas figs. 10c e 10e, até o definitivo (figs. 10g e 11).

O ovário se desenvolve mais tarde do que o testículo. Começa como uma esfera maciça (a princípio, muito pequena), tendo, em um dos lados, uma massa de células. Por isso, o conjunto é piriforme (fig. 10b). A esfera cresce e alarga-se, diferenciando-se os tubos ovarianos (na pré-pupa) que levam o órgão a se alargar ainda mais (fig. 10d). Os ovidutos são, no começo, dois fios muito longos, cuja parte distal se funde num único tubo. Esta parte impar no começo não existe; mais tarde, será muito desenvolvida, pois vai crescendo à proporção que o desenvolvimento prossegue. Assim, a relação entre a parte livre dos dois ovidutos e sua parte

impar vai variando constantemente no decurso do desenvolvimento. Crescendo os ovócitos mais distalmente colocados, o ovário toma a forma cilíndrica (figs. 10f, 12a e b). Finalmente, o ovário adulto mostra o aspecto que se vê nas figuras 10h e 13.

Um ponto que precisaria ser estabelecido, é a origem das primeiras células sexuais. Esta questão já foi abordada em alguns himenópteros. Como já dissemos, em *Paracopidosomopsis floridanus*, Patterson viu no ovo um “nucléolo”, oossoma que se pode considerar como um “germ-line determinant”. Este oossoma passa para uma das 4 primeiras células filhas. Na fase de 8 blastômeros é encontrado em 2 células que se dividem, a seguir, mais lentamente. Em *Litomastix truncatellus*, Silvestri (1937) viu também a substância oossômica, determinante da linhagem sexual. Encontrou-a nas poucas células destinadas a dar células sexuais. Leiby (1929) também vira a substância oossômica em *Copidosoma gelechia*. Devemos citar, ainda, a este respeito, o trabalho de Speicher (1936) em *Habrobracon juglandis*, do qual citaremos a seguinte conclusão: “Cleavage is approximately synchronous throughout the egg, except for dropping out of primary germ cells and occasional cleavage nuclei”. Infelizmente, não nos foi dado verificar como e quando surgem, em *T. fariai*, os primeiros gonócitos, e, também, não vimos nada de semelhante ao “oossoma”.

A origem e diferenciação dos gonócitos primordiais de *T. fariai* permanece, pois, num assunto não resolvido.

Em *T. fariai* não há poliembrionia. De cada ovo nasce um único animal.

O tempo necessário ao desenvolvimento de *T. fariai*, variou muito (como já fôra visto por Costa Lima) com a temperatura, desde 21 até 55 dias.

### 5 — Ciclo cromossômico de “*T. fariai*”

O estudo desse ciclo é da maior importância, especialmente pelos motivos já nossos conhecidos, no que se refere à espermatogênese. Foi esse o assunto que mereceu de nós exame mais cuidadoso e, por isso, iniciaremos por êle nossa descrição.

a) **Espermatogênese** — No testículo do adulto, bem como no dos últimos estadios da pupa, não é mais possível estudar a espermatogênese, pois esse testículo está, a bem dizer, transformado num saco de espermatozóides. O estudo da espermatogênese de *T. fariai* tem que ser feito em larvas e pupas jovens (pré-pupas).

O presente estudo da espermatogênese foi baseado em larvas e pupas até a fase em que os olhos são alaranjados.

Examinando-se o testículo num desses períodos precoces de desenvolvimento, vê-se ser êle envolvido por uma cápsula com núcleos muito volumosos e fibras colágenas (figs. 7 e 8). As células conjuntivas, pelos métodos comuns, não teem contorno nítido. Dessa cápsula partem septos que dividem o testículo em lojas, cujos limites mostram êsses mesmos núcleos grandes. Cada loja contém células na mesma fase evolutiva (figs. 7 e 8). Se, porém, compararmos os aspectos das várias lojas uns com os outros, notaremos pequenas diferenças no seu conteúdo, embora se trate de formas muito próximas. Por outras palavras, a espermatogênese em *T. fariai*, é quasi sincrônica.

Como já dissemos, não pudemos ver a diferenciação dos primeiros gonócitos. A espermatogênese se dá exatamente da mesma maneira, tanto em machos nascidos de fêmeas virgens, como nos que derivaram de fêmeas que copularam. O primeiro esboço do testículo, repetimos, já é visível em larvas um pouco mais jovens do que as da fig. 6. As células que enchem as lojas dêste testículo jovem, são as espermatogônias; têmo-las, frequentemente, em divisão (figs. 14 e 15). O número de cromossomas é sempre 10. O maior deles, quando visto de frente, é uma alça com braços iguais.

O testículo jovem distingue-se do ovário, porque neste último órgão, encontramos células (ovogônias) com 20 cromossomas e, ainda, porque o ovário jovem é menor do que o testículo jovem (figs. 10a e b), cujo desenvolvimento se dá mais precocemente. Além disso, o testículo mostra duas glândulas acessórias (fig. 10a) e, finalmente, pequenas células situadas entre as espermatogônias, que não existem no ovário. Essas células são bem visíveis nas figs. 7, 8 e 9. As espermatogônias são células piriformes, de núcleo esférico. Essas espermatogônias nos mostram um fenômeno extremamente curioso, possivelmente o aspecto mais interessante de todo o ciclo cromossômico de *T. fariai*. Trata-se de uma divisão de tipo especial, que, segundo nos consta, não foi discutida em nenhum outro himenóptero. Nessa divisão especial, o fenômeno que, à primeira vista, chama atenção, é uma divisão desigual do citoplasma (fig. 16), da qual resulta a formação de duas células muito desiguais: uma, grande, que continuará a se desenvolver, dividir e seguirá sua evolução até dar espermatozóides e, outra, pequena, que acaba degenerando (fig. 17). Nos testículos jovens, vemos sempre essas células pequenas e ainda as podemos ver durante o período de cres-

cimento que, como é de hábito, se segue ao de multiplicação. As figs. 7 e 8 correspondem precisamente a uma tal fase. Nelas não vemos mais células em divisão. Tais elementos merecem o nome de espermatócitos em crescimento. E' notável a comparação entre os cromossomas das gônias e os que depois do período de repouso, vão aparecer nos citos. Como já dissemos, o cromossoma maior da gônia é uma alça de braços iguais. Ao contrário, o cromossoma maior dos citos é uma alça com braços desiguais (figs. 18 a 20). Dessa observação, fomos levados à conclusão, já exposta em trabalho anterior, segundo a qual, na divisão especial da gônia, a alça maior se divide desigualmente, dando uma alça filha igual à alça mãe e outra menor do que ela, com braços desiguais. Não foi fácil dar a demonstração direta do fato, razão por que, no trabalho já referido, tivemos que o admitir, baseados na diferença de aspecto entre cromossomas gônicos e cítricos. Conseguimos, no entanto, examinando mais material, encontrar aspectos nítidos dessa divisão desigual da alça maior. A fig. 21 mostra uma anafase, onde vemos, de um lado, uma alça de braços iguais e, de outro, uma de braços desiguais. Como em todos os citos encontra-se, apenas, a alça de braços desiguais, resulta obrigatoriamente a conclusão de que a célula que recebeu a alça de braços iguais e também recebeu pouco citoplasma (figs. 16 e 22), é o pequeno elemento que degenera.

Este fato não encontra paralelo nos demais himenópteros arrenótocos até hoje estudados, e parece-nos, como se verá adiante, de significação decisiva para a compreensão do problema da determinação do sexo de *T. fariai*. Conhecem-se, em outros grupos de animais, exemplos de fatos, até certo ponto, do mesmo gênero. Não cabe aqui recordá-los todos, bastando lembrar, por exemplo, o que foi descoberto simultaneamente e independentemente, em 1909, por Morgan e por von Baehr, em afídeos e filoxerídeos e confirmado por Stevens (1909) e Honda (1921). Nessês casos, os machos da geração sexuada têm o número diplóide de autossomas e apenas o haplóide de cromossomas sexuais. Na primeira divisão de maturação, há redução, à metade, do número dos autossomas, ao passo que o ou os cromossomas sexuais passam para um dos dois citos II. Este continua sua evolução, dando, por uma mitose comum, 2 espermátides e, portanto, 2 espermatozóides. O outro cito II que não recebeu heterocromossomas, degenera. Parece razoável compararmos essa degeneração à da espermatogônia que recebeu a alça de braços iguais, em *T. fariai*.

Já dissemos que o aspecto que acabamos de descrever, corresponde ao chamado período de multiplicação ou germinativo da espermatogênese. A êle, segue-se um período de repouso, quanto às mitoses, e de crescimento da célula, muito evidente nas figs. 7, 8 e 23. Permite êle distinguir as gônias em repouso dos citos de 1.<sup>a</sup> ordem, os quais são, em consequência dêsse crescimento, células maiores do que as gônias (fig. 24). Perguntêmo-nos, agora, em que momento ocorre a divisão diferencial das gônias? Como podemos ver pequenas células em degeneração, desde fases muito precoces até o período de crescimento, inclusive, devemos concluir que esta divisão diferencial pode se dar desde muito cedo até o fim do período de multiplicação. Surge, então, a pergunta: uma espermatogônia que já passou pela divisão diferencial, pode ainda continuar a se dividir, antes de dar espermatócitos de 1.<sup>a</sup> ordem? Ainda não podemos dar uma resposta cabal a esta pergunta, pois entendemos que será necessário examinar material mais copioso. Como, no entanto, nunca encontramos, antes do período de crescimento, gônias com a alça maior com braços desiguais, parece-nos razoável concluir que a gônia que passou pela divisão diferencial, permanece em repouso até o início do período de crescimento, quando, então, começa a crescer. Por isso, somos tentados a chamar espermatócito jovem à célula maior, resultante da divisão diferencial da espermatogônia.

Passemos a estudar as divisões de maturação. Nesse particular, alguns fatos especiais foram por nós observados. Encontrámos, por várias vezes, aspectos curiosos nos citos I que se preparam para a divisão (figs. 25 a 27), que lembram aspectos análogos aos que se vêm na meiose comum. Na fig. 26, a seta indica a alça maior de braços desiguais, com especial nitidês. Essas figuras mostram aspectos tetradiformes, em cruz, ou outras disposições, cuja verdadeira significação não nos foi possível estabelecer. Na primeira parte dêste trabalho, referimos sobre a tendência observada em certos himenópteros e especialmente na abelha, na formação, em alguns momentos do ciclo cromossômico, de associações entre cromossomas "Sammelchromosomen". Aquí, porém, não nos encontramos diante de fenômenos análogos, pois o número de tais "pseudo-tétrades" corresponde, como se pode contar mais nitidamente nas figs. 26 e 27, ao número haplóide da espermatogônia (10). Logo, não se pode pensar, aquí, em "Sammelchromosomen". Este é um ponto para ser futuramente esclarecido. Como já foi dito a propósito da embriologia, as demais fases da espermatogênese se dão muito ra-



pidamente, enquanto os olhos passam do alaranjado para o vermelho.

Os espermátocitos de 1.<sup>a</sup> ordem que terminaram seu crescimento, apresentam, agora, uma divisão mitótica típica (fig. 28), dando 2 citos II perfeitamente iguais e com 10 cromossomas cada um (fig. 29). É notável este fato, pois, como já vimos na primeira parte, a regra nos himenópteros arrenótocos é que esta primeira divisão seja abortiva e consista na expulsão de um brôto citoplasmático anucleado. Aquí, absolutamente não se observa isso. A 1.<sup>a</sup> divisão de maturação é absolutamente normal e dá 2 células funcionais. As figuras 30 a 32 mostram o fim desta divisão. Convém referir, nesta altura, que, em *T. fariái*, como em muitos outros himenópteros já estudados, as células ficam ligadas por pontes derivadas dos fusos mitóticos “Spindelrestekörper” e em cuja formação o condrioma toma parte saliente. Não insistiremos sobre a matéria, bastando a observação das figuras 23, 28 e 32, como demonstração do fáto.

Não nos detivemos no estudo do condrioma “Nebenkern”, nem do aparelho reticular (idiossoma, fig. 23) em *T. fariái*, pois os aspectos apresentados por estas formações visíveis em muitas de nossas figuras, não se distinguem dos já descritos em outros himenópteros.

Formados os 2 citos de 2.<sup>a</sup> ordem, assistimos, então, a um notável fenômeno, perfeitamente comparável ao que, nos himenópteros arrenótocos anteriormente estudados, ocorre na primeira divisão. Começamos por observar a formação de um fuso intranuclear (figs. 33 e 34) provido de centríolo único. Os cromossomas se dispõem, neste fuso, em uma placa equatorial imperfeita (fig. 35), não ficando todos no mesmo plano. É geralmente possível identificar, nesta fase, o cromossoma maior, em forma de alça de braços desiguais. Este fuso regride e o núcleo retoma o aspecto de núcleo em repouso (fig. 36). Surge, então, uma constrição citoplasmática na extremidade celular oposta àquela onde se encontra o núcleo (figs. 37 e 38). Destarte, vai um glóbulo citoplasmático anucleado se separando, embora permaneça, durante um certo tempo, unido à célula da qual se derivou (figs. 39, 40 e 42). Ainda, aquí, o condrioma tem um papel saliente na formação da ponte que liga o brôto citoplasmático à célula que o originou (figs. 36 a 40 e fig. 42). Este brôto citoplasmático separa-se da célula respectiva (fig. 41) e depois desaparece.

Segue-se, então, a espermiogênese, da qual as figs. 43 e 44 dão uma ideia geral e que não apresenta particularidades dignas de nota.

Assim, *T. fariai* nos mostra divisões maturativas de tipo vespa, pois, de 1 cito de 1.<sup>a</sup> ordem resultam 2 espermatozoides, porém invertido, pois a divisão abortiva, em vez de ser a primeira, é a segunda. Temos, pois, em *T. fariai*, um terceiro tipo de espermatogênese a colocar ao lado dos dois já conhecidos: tipos abelha e vespa (figs. 71 a 74).

Uma segunda divisão maturativa abortada não foi, ao que sabemos, descrita até hoje em himenópteros arrenótocos. No entanto, poder-se-ia, talvez, aproximar *Telenomus fariai* do rotífero *Asplanchna amphora*, estudado por Whitney (1929) e onde há, como já vimos, omissão da segunda divisão de maturação, os citos II dando origem a espermatozoides móveis. A situação, não é, porém, idêntica, pois em *Asplanchna* não há a 2.<sup>a</sup> divisão abortiva, mas sua completa supressão: "The division of the secondary spermatocyte to form spermatids is omitted". É verdade que, às vezes, se observa que "a few, however, of the secondary spermatocytes divide, forming spermatids", mas essas espermátides dão nascimento, apenas a "rudimentary spermatozoa which contain a smaller amount of chromatin material than the mobile spermatozoa".

Em conclusão, a espermatogênese de *Telenomus fariai* nos apresenta duas particularidades muito importantes: a primeira é uma divisão especial ocorrida no período de multiplicação, que conduz à formação de dois tipos de células: uma delas, com uma alça de braços iguais, que degenera, e, outra, com uma alça de braços desiguais, que prossegue sua evolução. Este é um fenômeno completamente novo, até hoje não descrito em himenóptero algum e apenas comparável, embora imperfeitamente, a certas outras degenerações celulares, como as que foram vistas em afídeos e filoxerídeos. A segunda particularidade é ser abortiva uma das divisões de maturação da espermatogênese, dando como resultado, a formação de espermatozoides haplóides, semelhantes às gônias haplóides de que derivaram. Este fenômeno, embora semelhante em *T. fariai* e nos demais himenópteros arrenótocos tem, naquele animal, a particularidade de se dar na 2.<sup>a</sup> e não na 1.<sup>a</sup> divisão mitótica. Dêsses dois fenômenos, o primeiro, que é próprio a *T. fariai*, parece-nos de significação muito mais importante do que o segundo. Procuraremos interpretá-lo adiante.

b) **Ovogênese.** Ao contrário do que se dá com a espermatogênese, a ovogênese apresenta poucas particularidades especiais. Por êsse motivo, sua descrição pode ser muito abreviada.

As ovogônias (figs. 45 e 46) apresentam 20 cromossomas.

Êstes cromossomas formam 4 pares de alças e 1 par de J, e os demais são bastonetes. A particularidade mais importante dêsses cromossomas é que os dois maiores são alças, das quais uma mostra 2 braços iguais, tal como se vê na alça das espermátogônias, ao passo que o seu parceiro é uma alça de braços desiguais, como se vê nos espermátócitos. As ovogônias podem ser vistas com facilidade nos ovários das pré-pupas (fig. 10d). Segue-se a meiose que nada apresenta de especial no seu início. As figs. 47a e b mostram o início da meiose. A figura 48 mostra um ovócito de imagem com olhos pardos e as figuras 49 e 50 referem-se a formas quasi adultas. Neste período, o ovócito apresenta a forma da fig. 51. Assistimos, agora, a um fenômeno bastante curioso, que se passa num momento bem definido da evolução do óvulo, reconhecível pela forma da célula, elipsóide alongado que ainda não apresenta o prolongamento caudal (fig. 52a). Dentro do núcleo, observamos um fuso que começa por ser irregular, multipolar (fig. 53) para se tornar, depois, bem regular (figs. 52b e 54). A fig. 55 mostra as tétrades, de frente, situadas no equador dêste fuso. Finalmente, o fuso diminue muito e as tétrades se condensam, como se vê na fig. 56, ao mesmo tempo em que a membrana nuclear se enruga. Corresponderão êstes aspectos, ao início da 1.<sup>a</sup> divisão de maturação, como acontece em *Habrobracon* (Speicher, 1936), onde essa divisão se inicia antes da postura? E' o que ainda não foi por nós determinado.

Neste estado permanece o núcleo, enquanto prossegue o crescimento do ovócito e o aparecimento de um prolongamento caudal muito característico. E' interessante notar que a saída dos ovócitos do ovário dá-se com a cauda para trás como se vê nas figs. 13 e 10h. Êste fato merece ser mencionado, pois Pampel (1914), tratando de *Tryphon typus* (*Pariscus*), escreve: "Beim Durchgang durch den Ovidukt gehen die Eistile voran".

Há vários tamanhos de ovócitos prontos para a postura, tal como foi visto por Patterson em *Paracopidosomopsis* (1921). As células nutritivas "nährzellen" nada apresentam de especial que as distingue dos aspectos que comumente mostram.

c) **Fertilização** — Não fizemos um estudo aprofundado dêste problema. Pelo que vimos, os aspectos se assemelham mais aos descritos por Patterson (1921), em *Paracopidosomopsis*, do que por Speicher (1936), em *Habrobracon*. O espermatozóide penetra no ovócito de 1.<sup>a</sup> ordem, no qual se vê um único núcleo (figs. 57 e 58). Em *T. fariái*, não há polis-

permia. Esta foi vista na abelha, por Nachtsheim: "Die in Arbeiterinnenzellen abgesetzten Eier sind gewöhnlich polysperm befruchtet. Man findet meist drei bis sieben Spermatozoen in einem Ei. Alle in das Ei eingedrungenen Spermatozoen wandeln sich unter Erzeugung einer Spermastrahlung in männliche Vorkerne um, von denen aber immer nur einer mit dem weiblichen Vorkern kopuliert. Die übrigen Spermkerne haben keine weitere Bedeutung mehr".

Logo após sua penetração no cito I, a cabeça alongada do espermatozóide começa a tomar a forma triangular (fig. 59). O núcleo do ovócito divide-se duas vezes, a seguir (figs. 60 e 61). Dos 4 núcleos derivados das duas divisões de maturação do ovócito, e a que podemos chamar  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  e  $B_2$ , dois se fundem ( $A_2 + B_1$ ), como se vê na fig. 62. A copulação dos pronúcleos, isto é, a cabeça do espermatozóide e o núcleo  $B_2$ , bem como a degeneração do núcleo  $A_1$  não foram vistos por nós, mas por analogia com os casos semelhantes já estudados, não deve apresentar particularidades muito notáveis. Os dois núcleos fundidos  $A_2 + B_1$ , dão o chamado núcleo polar que, por divisões sucessivas, vai dar origem ao trofâmnio.

d) **Células somáticas** — Contámos cromossomas em células somáticas dos dois sexos, e ainda em machos nascidos de fêmeas virgens, como nos de fêmeas que haviam copulado. As células estudadas foram principalmente os elementos nervosos. O número de cromossomas é geralmente 10 nos machos (figs. 63 a 66) e 20 nas fêmeas (figs. 67 a 69). Devemos notar ainda que, nas células somáticas do macho, o cromossoma maior é uma alça de braços iguais (como já foi visto nas espermatogônias), ao passo que, na fêmea, os dois maiores formam o nosso também já conhecido par de cromossomas desiguais, descrito nas ovogônias, isto é, uma alça de braços iguais, semelhante à das células somáticas do macho e uma alça de braços desiguais, como se vê nos espermatócitos. Em *T. fariai*, como em outros himenópteros já referidos na 1.<sup>a</sup> parte, podemos encontrar células somáticas com um número maior de cromossomas (fig. 70). Sua interpretação já foi discutida na primeira parte dêste trabalho.

## 6 — Determinação do sexo em "*T. fariai*"

Chegámos, finalmente, à questão que mais nos interessa, a da determinação do sexo em *T. fariai*.

Do que precede e especialmente dos dados obtidos em *Habrobracon*, podemos admitir que o sexo nos himenópteros arrenótocos está controlado, em síntese, pelo seguinte meca-

nismo: sêres heterozigotos para os cromossomas sexuais, fêmeas; homozigotos e hemizigotos, machos. O sexo feminino depende, pois, de uma ação complementar entre dois cromossomas sexuais diferentes.

Não é, portanto, a haploidia ou a diploidia a responsável pelo sexo desses insetos, mas, sim, a pureza ou o hibridismo em relação aos tipos de cromossomas.

Ora, se aplicarmos a *Telenomus fariai*, os conhecimentos hauridos em *Habrobracon*, chegaremos à conclusão de que *T. fariai* deveria ser uma espécie muito mal equilibrada, pois que, nela, a consanguinidade é obrigatória. Vimos, tratando da biologia de *T. fariai*, no capítulo “unicidade ou dualidade dos machos”, que estes últimos fecundavam suas irmãs, antes de abandonar a carcassa do ovo do barbeiro. Ora, em *Habrobracon*, é bem sabido que os cruzamentos consanguíneos conduzem a machos diplóides. Já conhecemos a razão disso. Sabemos que esses machos diplóides originam-se, em tais cruzamentos, da união de 2 gametos com idênticos cromossomas sexuais. Em cada 2 zigotos (os sêres derivados de ovos que se desenvolvem por partenogênese, podem ser chamados azigotos), devem teoricamente se formar 1 fêmea e 1 macho (exemplo,  $\text{♀ X}^1 \text{X}^2 \times \text{♂ X}^1 = \text{♂ X}^1 \text{X}^1 + \text{♀ X}^1 \text{X}^2$ ).

Em *Habrobracon*, machos diplóides (sêres de baixa viabilidade e estéreis) só devem ocorrer, na natureza, em casos muito raros, pois os cruzamentos se dão, ao acaso, entre sêres que têm muito pouca probabilidade de serem consanguíneos (já vimos ser essa consanguinidade tanto menor, quanto maior fôr o número de alelos para o cromossoma sexual). Nas experiências de P. W. Whiting, os machos diplóides foram sempre obtidos experimentalmente, quando cruzamentos consanguíneos, entre vários irmãos, eram, então, obrigatórios.

Em *T. fariai*, as condições naturais em que vive o animal deveriam conduzir obrigatoriamente à obtenção de machos diplóides, por ser obrigatória, nesse animal, a consanguinidade.

Todavia, não há machos diplóides em *T. fariai*! Nunca os vimos. Todos aqueles que pudemos analisar, são haplóides.

Estudando o ciclo cromossômico de *T. fariai*, encontraremos, parece-nos, a resposta para esta estranha inexistência de machos diplóides.

E' essa interpretação que, a seguir, vamos expôr.

Vimos que as ovogônias apresentam 20 cromossomas, dos quais os 2 maiores são alças com uma particularidade notável: uma delas tem braços iguais, a outra os tem desi-

guais. Seja-nos permitido chamá-las, respectivamente, cromossomas **X** e **Y** (correspondem, por exemplo, aos cromossomas **X<sup>1</sup>** e **X<sup>2</sup>** de *Habrobracon*). A fêmea é, pois, heterozigota. Vejamos, agora, a situação nos machos. Nas espermatogônias há, como vimos, 10 cromossomas, dos quais o maior é uma alça com braços iguais (cromossoma **X**). Concluiremos que todos os machos são **X**. Devemos, então, admitir que, por ocasião da maturação, na ovogênese, há sempre expulsão de um núcleo contendo o cromossoma **Y** e, por isso, todo óvulo é sempre **X**. As dimensões dos cromossomas, na maturação ovogenética, não nos permitiram, infelizmente, dar a prova direta do alegado. Temos dele, porém, uma bela prova indireta que é a acima exposta, isto é, que todas as espermatogônias são **X**.

Pois bem, se todo óvulo é **X** e toda fêmea **XY**, decorre desde logo, obrigatoriamente, que todo espermatozóide deveria ser **Y**.

Perguntêmo-nos, então, como será possível que espermatogônias **X** fabriquem espermatozóides **Y**?

Pensamos ser êsse o aspecto talvez mais interessante de nosso trabalho.

Consideremos os espermatócitos I. Neles se encontram 10 cromossomas, dos quais o maior é uma alça com braços desiguais! Aquí está, portanto, a resposta. Se os espermatócitos têm a alça maior com braços desiguais, são elementos **Y**, e, portanto, os espermatozóides deles derivados, também o serão!

Logo, as espermatogônias são **X**, os espermatócitos de 1.<sup>a</sup> ordem são **Y**.

Houve, portanto, algum mecanismo regulador, ocorrido no período de multiplicação, isto é, nas espermatogônias, que transformou a alça maior com braços iguais (**X**) em uma alça com braços desiguais (**Y**).

Durante mais de 3 anos, fizemos preparações, mas não nos havia sido dado encontrar uma anafase inteiramente impecável, embora muitas vezes tivéssemos visto imagens que sugerem esta divisão desigual da alça maior. Tínhamos, dela, a prova indireta referida, a saber, que as gônias são **X** e os citos **Y** e, ainda, e isso nos parece muito importante, aquela estranha divisão desigual das gônias, que conduz a uma célula muito grande com quasi todo o citoplasma, e outra muito pequena, como que um glóbulo polar, com pouco citoplasma, célula, como já vimos, destinada a degenerar e desaparecer. Felizmente, pudemos ter, afinal, a prova direta de que, num certo momento, há uma divisão desigual da alça maior, como se vê na fig. 21 e, em seguida, desaparecimento da célula menor. Essa é, pois, a divisão onde o cromossoma **X** se

divide em 2 cromossomas desiguais, um deles **X**, o outro **X - α = Y**.

Assim sendo, temos uma explicação perfeitamente plausível para a determinação do sexo em **T. fariai**: ovogônias **XY** só fabricam óvulos **X**. Isto se prova, pois todo óvulo que se desenvolve por partenogênese, produz machos **X**. Estes machos, graças a um mecanismo regulador muito especial, só fabricam espermatozóides **Y**. Assim, todo óvulo fertilizado será **XY** e dará fêmea. Logo, há maturação seletiva na ovogênese, dando exclusivamente óvulos **X** e um mecanismo regulador no macho antes das divisões de maturação, dando exclusivamente espermatozóides **Y**. Como se vê, a determinação do sexo em **T. fariai**, como em **Habrobracon**, é um fenómeno cromossômico. Os seres puros são machos; os híbridos, fêmeas. No entanto, o contróle do sexo nos himenópteros arrenótocos é estabelecido pela fêmea, pois o sexo dependerá, em geral, de ter sido ou não fertilizado o óvulo.

Parece-nos, ainda, que **Telenomus fariai** fornece uma bela confirmação das ideias de P. W. Whiting e seus colaboradores, pois mostra como, num caso em que a stricta consanguinidade devia conduzir à formação de machos diplóides, animais inteiramente inconvenientes para a economia da espécie, foi ela evitada.

A seleção natural que permitiu a sobrevivência de algum mecanismo (ainda em estudo) capaz de limitar muito o número dos machos (pois a cópula dentro do ovo parasitado permite que um único ou poucos machos assegurem a fecundação de todas as fêmeas), não poderia tolerar, com efeito, a sobrevivência de uma espécie tão mal adaptada e na qual a metade dos seres diplóides que se formassem, os machos diplóides, seriam animais inúteis. Uma tal sobrecarga seria, evidentemente, fatal para a espécie. A seleção, então, favoreceu todas as mutações que tivessem qualquer papel no sentido de evitar a formação de tais seres inúteis. Assim se pode ter uma idéia do modo pelo qual um mecanismo tão complexo, mas tão eficiente, se pode instalar nestes seres.

**Telenomus fariai**, portanto, não é apenas um animal interessante para o problema da determinação do sexo nos himenópteros arrenótocos, mas ainda em relação ao problema da evolução das espécies.

## SUMÁRIO

O presente trabalho é dividido em 2 partes.

A primeira é uma revisão da literatura sobre o problema da determinação do sexo nos himenópteros arrenótocos. Depois de uma introdução, os AA estudam a teoria de Dzierzon,

sobre a determinação do sexo na abelha. Analisam, em seguida, o contrôlo do sexo pela fêmea. Discutem, depois, o ciclo cromossômico dos himenópteros, analisando a espermatogênese, a ovogênese e os cromossomas nas células somáticas e sexuais. Discutem a origem do tipo de espermatogênese que se vê em tais animais e alguns outros problemas relativos à biologia dos seres em estudo e, especialmente, a questão da haploidia dos machos. Tratam, finalmente, das novas idéias sobre a determinação do sexo nos himenópteros arrenótocos, baseados nos estudos de P. W. Whiting e outros AA. no braconídeo *Habrobracon*, hoje já extendidas aos chalcidídeos.

A segunda parte do trabalho trata da biologia de um microhimenóptero parasito de ovos de ~~himenópteros~~ <sup>Hymenoptera</sup> do género *Triatoma*. Trata-se de *Telenomus fariai*, scelionídeo descrito por Costa Lima, em 1927, e cuja biologia Costa Lima estudou noutro trabalho, em 1928. Os AA. já dedicaram, anteriormente, dois trabalhos ao estudo do ciclo cromossômico, da determinação do sexo e da biologia dêste scelionídeo.

1 — **Introdução** — Os AA. analisam os dados fornecidos por Costa Lima e sua interpretação. Os fatos essenciais que devem ser aquí lembrados, são: a) quando a fêmea copula, dos ovos que deposita no ovo de um barbeiro nasce geralmente 1 macho. Os demais animais são fêmeas. Quando a vespa é virgem, só nascem machos. b) Costa Lima postula a existência de 2 classes de machos distinguíveis pelo tamanho: machos grandes, nascidos de fêmeas virgens, que seriam haplóides ( $A + X$ ) e machos pequenos, nascidos de fêmeas que copularam, que seriam diplóides ( $2A + X$ ). Costa Lima atribue às fêmeas, a fórmula  $2A + 2X$ . Teríamos, então, machos haplóides que seriam maiores e mais robustos do que os machos comuns diplóides! Em 1929, Toledo Piza publicou um pequeno trabalho sobre o assunto, que, por não ter base em nenhum fato novo e só ter trazido confusão, não precisa ser resumido.

2 — **Material e técnica** — Os AA. tratam do modo de manter os animais no laboratório e das técnicas usadas para fazer as preparações. Foram feitas preparações totais obtidas por dissecação, cortes e preparados obtidos por esmagamento, fixados e corados pelos métodos comuns (Duboscq-Brasil, Gilson-Petrunkewitsch, carmin-acético,orceina acética, hematoxilina-férrica, Feulgen, carmin de Meyer e verde luz).

3 — **Unicidade ou dualidade dos machos e alguns aspectos da biologia de "T. fariai"** — Os AA. discutem a teoria de Costa Lima, acima exposta, sobre a unicidade ou dualidade dos ma-



chos. A primeira dificuldade foi a obtenção de fêmeas virgens, pois as fêmeas que nascem espontaneamente, já copularam. É necessário abrir o ovo do barbeiro, logo que se perceberem os primeiros movimentos das vespinhas e isolar as fêmeas, para obter fêmeas virgens. Concluiremos que a cópula se dá dentro do ovo parasitado. Há, portanto, em *T. farii*, consanguinidade estreita, pois há habitualmente cruzamento entre irmãos e irmãs.

As curvas da fig. 1 mostram o tamanho dos animais por nós obtidos. Vê-se que não há, verdadeiramente, 3 categorias diferentes de animais, pois um animal tomado, ao acaso, pode estar contido em qualquer das três classes, embora realmente os machos sejam, em média, maiores nas proles onde não há fêmeas do que nas proles bissexuadas.

Procuramos, em seguida, ver como funcionam as 2 supostas classes de machos. Os resultados são idênticos, quer usemos machos grandes, quer pequenos. Uma fêmea, fecundada por qualquer macho, dá grande maioria de filhas e 1 ou poucos machos. Pudemos esclarecer a razão desse "dimorfismo" dos machos. A larva masculina se desenvolve mais devagar do que a feminina (fig. 6). Por este motivo, as reservas do ovo de barbeiro são exgotadas pelas larvas femininas. A larva masculina, embora tenha possibilidades genóticas que não são inferiores às da larva feminina, não atinge, por tal motivo, o mesmo tamanho. A fig. 2 que mostra a relação entre o número de vespas produzidas por um só ovo de barbeiro e seu tamanho, é perfeitamente expressiva.

Os AA. assinalam, agora, uma razão teórica contrária à teoria de Costa Lima. Machos  $2A + 2X$  que devem ser os machos comuns, deveriam formar, segundo é aceito pelo próprio Costa Lima, 2 classes de espermatozóides  $A + 0$  e  $A + X$ , em igual número. Logo, deveria haver, aproximadamente, o mesmo número de machos e fêmeas entre os descendentes. Na realidade, tanto os dados de Costa Lima, como os nossos, salientam que, a partir de fêmeas que copularam, obteremos, em geral, 1 macho para cada grupo de vespinhas produzidas por 1 ovo de barbeiro. Este contrôle do sexo pela fêmea, que já tinha sido descoberto por Costa Lima, é incompatível com uma determinação cromossômica do sexo em termos de espermatozóides  $X$  ou  $0$ .

Os AA. procuraram, a seguir, determinar porque motivo, certas posturas só produzem fêmeas. A tabela 2 mostra claramente que isto ocorre sempre, quando uma fêmea já pôs, previamente, em muitos ovos de barbeiro. Então, o último

ou os últimos só dão fêmeas. Devemos admitir, portanto, que quando o estoque de ovos, no ovário da vespa, se está esgotando, qualquer mecanismo entra em jogo, e promove obrigatoriamente a fecundação. Este assunto que se prende ao conhecimento da estrutura e do funcionamento da espermateca e seus condutos, está sendo estudado presentemente e será, provavelmente, o objeto de um próximo trabalho. Devemos, porém, notar que, possivelmente, outros fatores também estão em jogo neste fenômeno, pois Costa Lima viu, em ovos de *Triatoma sordida*, que são pequenos, uma alta frequência de progênies com 0 macho, ao contrário do que acontece com *T. megista* e *T. infestans* (os AA sempre trabalharam com esta última espécie) que têm ovos grandes e que só dão raramente progênies com 0 macho. A tabela n.º 3 mostra o que acontece quando oferecemos ovos de barbeiro a muitas fêmeas de *T. fariai*.

A prova decisiva, direta da unicidade dos machos foi, porém, dada pela citologia. As figs. 14, 15 e 63 a 66 mostram várias células de machos oriundos quer de fêmeas que copularam, quer de fêmeas virgens, todas com 10 cromossomas. Ficou, assim, provado que *Telenomus fariai* se comporta como os demais himenópteros arrenótocos. E' um animal com partenogênese facultativa arrenótoca.

4 — **Desenvolvimento embrionário** — Os AA. apresentam, apenas, um esboço superficial dêsse desenvolvimento. O início do desenvolvimento lembra o que foi observado em *Litomastix floridanus*. Forma-se um trofâmnio, e o ovo mostra duas (fig. 4a) e depois três regiões (figs. 3b e 4b). A cauda do ovo desaparece, assumindo êle a forma de uma blástula (figs. 4c e 5) e, depois, de uma gástrula caliciforme (fig. 3d). A seguir, o embrião sae da sua casca e começa a se alimentar. A larva toma uma forma alongada (fig. 3e) e, sendo muito voraz, cresce e toma a forma de um elipsóide (fig. 3f), sendo o tubo digestivo visível por transparência. Nesta fase, já se vê que a larva masculina é menor do que a feminina. A larva que até agora crescera, começa a diminuir, chegando à forma alongada da fig. 6. Surge em volta dela, uma cápsula, transformando-se, então, em pupa (pré-pupa). Esta cápsula persiste até a formação da imagem. Até esta fase, fig. 6, o testículo apresenta somente espermatogônias e pequenas células em degeneração, que depois serão estudadas. Começa, agora, a diferenciação das partes do corpo. Aparecem a cabeça, o tronco e os membros. Nesta fase, o testículo mostra células no período de crescimento e não há divisões (figs. 5, 7 e 8). A cápsula que envolve a pupa, desaparece e os olhos

da imagem se tornam amarelos. Neste período, vemos as divisões dos espermátocitos de 1.<sup>a</sup> ordem. Depois os olhos ficam alaranjados. Começa, agora, a divisão abortiva dos espermátocitos de 2.<sup>a</sup> ordem. Mais tarde, os olhos ficam vermelhos. Temos a espermiogênese. Esta evolução dos espermátocitos se dá com grande rapidêz. O corpo do animal que até agora era branco, começa a ficar cinzento, a partir da região dorsal. Dêste momento em diante, o testículo só contém espermatozóides. Os olhos e, depois, o corpo ficam completamente negros. O macho termina sua evolução antes da fêmea (a-pesar das larvas masculinas se desenvolverem mais lentamente do que as larvas femininas!) e, como já dissemos, habitualmente copula com suas irmãs, antes de sair do ovo de barbeiro. Quanto à organogênese das gonadas, convém salientar que os testículos aparecem como dois elipsóides ligados a duas massas de células, as futuras glândulas accessórias (figs. 5, 9 e 10a). E' êste o aspecto testicular de uma larva jovem. A seguir, o testículo se alonga, cresce e toma os aspectos observados nas figs. 10c e 10d). O aspecto definitivo é, em seguida, observado (figs. 10g e 11).

O ovário se desenvolve mais tarde do que o testículo. A princípio, é uma pera muito pequena (fig. 10b). Os tubos ovarianos se diferenciam (pré-pupa) e o órgão se alarga (fig. 10d). Os ovidutos são, no começo, 2 fios muito longos. A parte distal fundida é um só tubo. Esta parte impar se torna cada vez mais desenvolvida. Com o crescimento dos ovócitos, o ovário fica cilíndrico (figs. 10f, 12a e b). O aspecto do ovário adulto é o das figs. 10h e 13.

A origem das primeiras células sexuais não nos foi possível determinar.

Não há poliembrionia em *T. fariai*.

5 — **Ciclo cromossômico da vespa "Telenomus fariai"** — a) **Espermatogênese** — O estudo da espermatogênese não pode ser feito nem no adulto, nem nas pupas avançadas. Precisamos, para isso, usar testículos de larvas, pré-pupas e pupas jovens (até olhos alaranjados). O testículo mostra tôdas as células da linhagem seminal, aproximadamente, na mesma fase (figs. 7 e 8). E' uma espermatogênese quasi sincrônica. Dá-se da mesma maneira em machos nascidos de fêmeas virgens ou de fêmeas que copularam. As espermatogônias (figs. 14 e 15) mostram sempre 10 cromossomas, sendo o maior deles uma alça em forma de V, com braços iguais. A distinção entre testículo e ovário pode ser feita não só pelo desenvolvimento mais precoce do testículo, sendo, portanto, o ovário jovem menor que o testículo (figs. 10a e b), como também pela pre-

sença de duas glândulas acessórias no testículo (fig. 10a), porque as ovogônias mostram 20 cromossomas e, finalmente, pela presença, no testículo, de pequenas células entre as espermatogônias, que não existem no ovário. Essas pequenas células que depois degeneram, são bem visíveis nas figs. 7, 8 e 9. As espermatogônias que são células piriformes, nos mostram um fenômeno especial, característico da espermatogênese de *T. fariai*. É uma divisão de um tipo especial que, segundo sabemos, não foi vista, até agora, em nenhum outro himenóptero. O fenômeno mais característico dessa divisão é, à primeira vista, uma divisão desigual do citoplasma (fig. 16), da qual resulta a formação de duas células muito desiguais: uma grande que continuará a se desenvolver até dar espermatozóides e outra, pequena, que acaba degenerando (fig. 17). Essas células pequenas se vêm sempre nos testículos jovens, bem como no período de crescimento na espermatogênese, no qual gradualmente desaparecem (figs. 7 e 8). É notável a comparação entre os cromossomas das gônias e os que, a seguir, vamos encontrar nos espermatócitos. Nos citos de 1.<sup>a</sup> ordem, com efeito, há também 10 cromossomas, mas o maior deles é uma alça com braços desiguais, e, portanto, um J (figs. 18 a 20). Daí termos concluído que a alça de braços iguais da espermatogônia passa por uma divisão especial, dando uma alça de braços iguais, tal como o cromossoma primitivo e outra com um dos braços de menor tamanho. Isso é o que fica demonstrado pela anafase da fig. 21. Como nos citos de 1.<sup>a</sup> ordem sempre se vê a alça maior com os braços desiguais, devemos admitir que a célula que recebe a alça de braços iguais, é o pequeno elemento que depois degenerará (figs. 16 e 22). Os AA. comparam esta situação com outras já conhecidas, onde certas células que não recebem certo ou certos cromossomas, degeneram (afídeos e filoxerídeos), situação que difere da observada em *T. fariai*, porque neste a degeneração afeta uma célula que recebeu certa parte de um cromossoma.

As figs. 7, 8 e 23 mostram o período que separa as gônias dos citos I, em divisão (período de repouso, ou melhor, de crescimento). Os citos de 1.<sup>a</sup> ordem são, pois, células maiores do que as gônias (fig. 24).

É provável que uma gônia que passou pela divisão diferencial, não se divida mais até começar a crescer, sendo, pois, justo chamá-la espermátocito jovem. Esta conclusão é justificada pelo fato de nunca termos encontrado gônias em divisão com a alça maior tendo braços desiguais. Daí decorre que algumas gônias passariam muito cedo pela divisão di-

ferencial e, outras, mais tarde, pois as pequenas células em degeneração podem ser vistas desde o aparecimento do testículo até o período de crescimento já bem avançado.

Alguns aspectos especiais (figs. 25 a 27) podem ser vistos nos citos I. Lembram aspectos da profase da meiose, mas não os sabemos interpretar.

O espermatócito de 1.<sup>a</sup> ordem mostra, agora, uma divisão mitótica típica (fig. 28) dando dois citos de 2.<sup>a</sup> ordem perfeitamente iguais, com 10 cromossomas cada um (fig. 29). Este comportamento é, pois, especial, por não ser o observado na espermatogênese dos outros himenópteros, onde a 1.<sup>a</sup> divisão é abortiva. As figs. 30 e 32 mostram o fim desta divisão. As células ficam ligadas por "Spindelrestekörper", como já foi visto em muitos outros himenópteros, tendo nisto papel saliente o condrioma (figs. 23, 28 e 32). O cito de 2.<sup>a</sup> ordem apresenta, agora, uma mitose abortiva, comparável à que foi descrita em muitos outros himenópteros na 1.<sup>a</sup> divisão de maturação. Surge um fuso intranuclear (figs. 33 e 34) com centríolo único. Os cromossomas se dispõem em uma placa equatorial, não perfeitamente regular (fig. 35). Em seguida, este fuso regride e o núcleo volta ao repouso (fig. 36). Uma constrição citoplasmática se vê, no polo oposto àquela em que está o núcleo (figs. 37 e 38) e um broto citoplasmático anucleado se destaca da célula (figs. 39, 40 e 42). Aquí também o condrioma tem um papel importante na formação da parte que liga, a princípio, a célula ao broto (figs. 36 a 40 e 42). A seguir, o broto se separa do espermatócito (fig. 41) que se torna, assim, uma espermátide e acaba desaparecendo. Segue-se a espermiogênese, cujo início se vê nas figs. 43 e 44 e que nada de particular nos mostra. **T. fariiai** mostra, pois, um terceiro tipo de espermatogênese, além dos tipos **abelha** e **vespa** já conhecidos, muito próximo do tipo **vespa**, pois, de um cito I resultam 2 espermatozóides funcionais, mas diferindo dele por ser a segunda, e não a primeira, a divisão abortiva (figs. 71 a 74).

b) **Ovogênese** — Os AA. fazem uma breve descrição da ovogênese que não apresenta particularidades tão interessantes, como a espermatogênese. Nas ovogônias há 20 cromossomas constituindo 4 pares de alças e um par de J. Os demais são bastonetes. A particularidade mais importante desses cromossomas é que os dois maiores formam um par de alças desiguais. Uma delas é um V com os dois braços iguais (idêntica, portanto, à alça maior das espermatogônias). Seu parceiro é uma alça com braços desiguais, como se vê nos espermatócitos. Ovogônias podem ser vistas nas pré-pupas (fig.

10d). A meiose se dá normalmente. As figs. 47a e b mostram seu início. A fig. 48 é um ovócito de pupa com olhos pardos e as figs. 49 e 50 correspondem a formas quasi adultas. A fig. 51 já foi retirada do adulto. Um fenômeno curioso é o mostrado pela fig. 52a, quando o ovócito é um elipsóide alongado, ainda sem prolongamento caudal. Observamos, então, dentro do núcleo, um fuso que no começo é multipolar (fig. 53), tornando-se depois bem regular (figs. 52b e 54). Na fig. 55 vemos tétrades. Depois o fuso diminui muito, as tétrades se condensam (fig. 56) e a membrana nuclear se enruga. Serão esses aspectos, sintomas do início da primeira divisão de maturação? É provável que sim, especialmente se os compararmos com o que ocorre em *Habrobracon* (Speicher, 1936). O núcleo permanece neste mesmo estado, enquanto se desenvolve o prolongamento caudal. Os ovócitos saem do ovário com a cauda para trás (figs. 13 e 10h), ao contrário do que foi visto em outros casos (Pampel, em *Tryphon typus*). Os ovócitos, prontos para a postura, não são todos do mesmo tamanho (tal como acontece em *Paracopidosomopsis*, Patterson). As células nutritivas "Nährzellen" nada apresentam de especial.

c) **Fertilização** — Não foi estudada com detalhes. Os aspectos que observamos, se parecem mais com os vistos por Patterson, em *Paracopidosomopsis*, do que com os observados por Speicher, em *Habrobracon*. O espermatozoide penetra no ovócito de 1.<sup>a</sup> ordem, no qual há, portanto, um só núcleo (figs. 57 e 58). Em *T. fariai* a polispermia não foi vista (ao contrário do que acontece na abelha). Logo após sua entrada, a cabeça do espermatozoide toma a forma triangular (fig. 59). O núcleo do ovócito divide-se, a seguir, duas vezes (figs. 60 e 61). Dos 4 núcleos derivados dessas duas divisões, aos quais podemos chamar  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  e  $B_2$ , dois se fundem  $A_2 + B_1$  (fig. 62). Não vimos a copulação dos pronúcleos, nem a degeneração do quarto núcleo do óvulo, que certamente aqui também ocorreu. O núcleo polar ( $A_2 + B_1$ ) vai dar origem ao trofânio.

d) **Células somáticas**. — Os cromossomas foram contados em células somáticas dos dois sexos e tanto em machos provenientes de fêmeas virgens, como nos derivados de fêmeas que haviam copulado. Nas células somáticas dos machos, qualquer que seja sua origem, há, geralmente, 10 cromossomas (figs. 63 a 66). Nas fêmeas há 20 (figs. 67 a 69). Nas células somáticas dos machos, o cromossoma maior é um V com braços iguais, como nas espermatogônias. Nas das fêmeas, os 2 cromossomas maiores formam o nosso já conhe-

cido par desigual (VJ), como nas ovogônias. Em *T. fariai*, como em vários outros himenópteros, podemos encontrar células somáticas com mais cromossomas do que os números indicados (fig. 70). Trata-se, provavelmente, de polissomia.

e) **Determinação do sexo em “*T. fariai*”.** — Para bem compreender êste problema, recordaremos aquí as idéias centrais de P. W. Whiting e outros autores que estudaram a determinação do sexo em *Habrobracon*, e que foram sumariados na 1.<sup>a</sup> parte do trabalho. Em *Habrobracon* (e, provavelmente, nos outros himenópteros arrenótocos), os animais puros são machos; os híbridos, fêmeas. Logo, todo sêr haplóide (ou melhor, hemizigoto) será, evidentemente, macho. Um sêr diplóide será fêmea, se heterozigoto (por ex.: XY); macho, se homozigoto (XX, YY). Whiting e Bostian desenvolveram a teoria, segundo a qual haveria vários gens alelos para a determinação do sexo em *Habrobracon*. Assim, com alelos:  $X^1, X^2, \dots, X^{10}$  teremos 10 classes de machos haplóides ( $X^1, X^2, \dots, X^{10}$ ); 10 classes de machos diplóides ( $X^1X^1, X^2X^2, \dots, X^{10}X^{10}$ ) e 45 classes de fêmeas ( $X^1X^2, X^1X^3, \dots, X^9X^{10}$ ). Compreende-se, desta maneira, que em cruzamentos ao acaso, a probabilidade de termos um macho diplóide será pequena e tanto menor, quanto maior fôr o número de alelos em jogo. Agora, havendo consanguinidade (coisa que em *Habrobracon* só foi vista em condições experimentais), é claro que hão de aparecer machos diplóides (por exemplo,  $\text{♀ } X^1X^2 \times \text{♂ } X^2 = \text{♀ } X^1X^2 + \text{♂ } X^2X^2$ ). Ora, como vimos, em *T. fariai* há portanto, uma condição que deve promover o aparecimento de machos diplóides, ou seja, de sêres fracos, de pouca viabilidade e estêreis. No entanto, nunca encontramos tais machos diplóides! Porque isso? O estudo do ciclo cromossômico de *T. fariai* parece permitir uma resposta. Vimos que na fêmea há um par de cromossomas (o maior) desiguais. Chamaremos X, à alça de braços iguais e Y, à de braços desiguais. Então, a fêmea é XY (isto é, híbrida). Como tôda espermatogônia e também as células somáticas dos machos têm a maior alça com braços iguais, teremos que todo macho será X. Como todo macho é partenogenético, concluiremos que todo óvulo é X. Logo, deve haver qualquer mecanismo (ainda não desvendado) que faz com que, na maturação do óvulo, o cromossoma X esteja sempre presente no pronúcleo feminino. Ora, se todo óvulo é X e tôda fêmea XY, devemos concluir que todo espermatozóide há de ser Y. Como será possível isso, se, como sabemos, tôda espermatogônia é X? A resposta está na divisão especial que ocorre nas espermatogônias. Como vimos, na anafase desta divisão, há, de um lado, uma alça

com braços iguais e, de outro, uma alça com braços desiguais. Logo, o cromossoma X (alça de braços iguais) dividiu-se desigualmente, dando 2 cromossomas filhos diferentes, um deles semelhante ao cromossoma da célula mãe (X) e, o outro (X - a), diferente dela, que é o cromossoma Y. O cromossoma X fica do lado onde há menos citoplasma e vai ser, portanto, encontrado na pequena célula que degenera. Eis porque todo espermatócito (e, portanto, espermatozóide) apresenta uma alça maior com braços desiguais (Y).

Em conclusão: a seleção natural que permitiu a sobrevivência de um mecanismo conduzindo à redução do número de machos, em consequência, porém, da cópula da vespa dentro do ovo do hemíptero (um ou poucos machos bastam para assegurar a fecundação de todas as fêmeas), não poderia tolerar a sobrevivência de uma espécie tão mal adaptada, onde metade dos seres diplóides seriam animais inúteis. Sobreviveram, por isso, todas as mutações, conduzindo à aquisição de um mecanismo protetor que, na espécie, é representado pela formação de espermatozóides somente Y e óvulos somente X.

### SUMMARY

The present article consists of two parts. The first part contains a review of the literature on sex-determination in arrenothocous Hymenoptera, and the second is devoted to a description of the biology of *Telenomus fariai*, a wasp parasite of eggs of the hemipteron *Triatoma*. In the first part the authors analyze the theory of Dzierzon of sex-determination in the honey-bee, the sex control by the female, the spermatogenesis, oogenesis and chromosome cycle in Hymenoptera, and the origin of haploid males in this order. Finally, a review is made of the newer ideas on sex-determination in this order based on the studies of P. W. Whiting and his school on *Habrobracon* and of Dozorceva on *Pteromalus*.

The second part is introduced by (1) an analysis of the data of Costa Lima on *Telenomus fariai*. The main facts are as follows. (A) Fertilized females produce progenies which consist usually of a single male and several females (Table 1). When the female is virgin only males are produced. (B) Costa Lima postulates the existence of two classes of males distinguishable by their size, namely large males produced by virgin females, which must be haploid (A + X), and small males which are supposed to be diploid and produced by fertilized mothers (2A + X). Costa Lima attributes to the fe-



males the formula  $2A + 2X$ . According to this view, we must have haploid males which are larger and stronger than the corresponding diploid males. In 1929 S. Toledo Piza published a small paper on *T. fariai* which need not be reviewed since it contributes no new facts and confuses the issue.

(2) Material and technique. The techniques of *T. fariai* culture in the laboratory and of the cytological investigation are described. Total mounts of excised body parts, smear preparation, and sections were made in material fixed and stained by Duboscq-Brazil, Gilson-Petrunkewitsch, aceto carmine, acetic orceine, iron haematoxylin, Feulgen, Meyer's carmine and light-green.

(3) The nature of the dimorphism among males. The theory of Costa Lima regarding the nature of the two classes of males in *Telenomus fariai* is discussed. Fig. 1 shows the sizes of females, as well as of the sons of virgin and of fertilized mothers. No three sharply distinct classes of animals are present; some animals might, according to their size alone, be placed in either one of the three groups. Although sons of virgin females tend to be larger than those of fertilized ones, the two classes of males behave identically: a female fertilized by either one produces the same kind of offspring. The cause of the apparent dimorphism in males is as follows: Male larvae develop more slowly than the female ones. When a brood contain larvae of both sexes, the female have an advantage in feeding over their male sibs, and the latter remain small (Fig. 6), while the offspring of a virgin mother consists of males only, which have then an opportunity to consume the entire food supply in the host's egg. Fig. 2 shows very clearly the relation between the number of parasites per host's egg and the size of the former. Another argument against the theory of Costa Lima is as follows. The common males, which according to Costa Lima should be  $2A + X$  must form two classes of sperms, namely  $A + X$  and  $A + 0$  in equal numbers. Hence, the offspring of a fertilized female must contain equal numbers of daughters and sons, which is not the case.

The writers attempted to determine why some broods consist of females only. Table 2 shows clearly that unisexual progenies occur when the females have had parasitized many host's eggs; the last eggs parasitized frequently contain only female parasites. This suggests that when the supply of mature eggs in the ovary is almost depleted, some mechanism becomes active which makes fertilization necessary. This subject, relation between the posture of the female during

oviposition and fertilization of the eggs, is being studied further. Aside from the posture of the female, other factors influence the sex-ratio. Costa Lima found that when *Telenomus fariai* oviposits in the relatively small eggs of *Triatoma sordida*, broods consisting of females only occur fairly often. We have used exclusively the larger eggs of *Triatoma infestans*. Table 3 shows what happens when many wasps have only a limited supply of host's eggs at their disposal. The decisive and direct proof of the genetic singleness of all the males has been secured cytologically. Figs. 14, 15 and 63 to 66 show male cells, some coming from sons of virgin mothers and others from sons of fertilized ones, all containing 10 chromosomes. In *Telenomus fariai*, as in other Hymenoptera, all males are haploid and produced parthenogenetically. We have encountered a difficulty in obtaining virgin females in our experiments. The females which eclose spontaneously from the host's eggs are already fertilized. In order to obtain virgins, parasitized eggs of the host must be opened as soon as the first movements of the adult parasites inside the eggs are noticeable. It is, therefore, evident that *Telenomus fariai* reproduces as a rule by close inbreeding, namely by brother-sister mating.

(4). Development. Only a preliminary description of the embryology of *Telenomus fariai* is presented. The beginning of the development reminds one of that in *Litomastix floridanus*. A trophamnion is formed, and two (fig. 4a) and then three (Figs. 3b and 4b) regions appear in the egg. The tail of the egg disappears, and it assumes the shape first of a blastula (Figs. 4b and 5) and then of a cupshaped gastrula (Fig. 3d). Then the embryo hatches and begins to feed. The larva becomes elongate (Fig. 3c), grows rapidly, assumes an elliptical shape (Fig. 3f), and its digestive tract becomes visible. At this stage it is possible to see that male larvae are smaller than their female sibs. The larva shortens and assumes the shape shown in Fig. 6. A capsule appears enclosing the larva, which turn in a prepupa. The capsule persists until the body of the adult is fully formed. Until the stage shown in Fig. 6 the testis shows only spermatogonia; the testis of the prepupa contains growing spermatocytes (Figs. 5, 7, 8). The capsule disappears and the eyes of the adult become visible (At this time the first division of the spermatocytes takes place). The eyes become orange (The abortive second division of the spermatocytes takes place). Later the eyes become red (Spermiogenesis). The body of the animal, which until this stage was white, becomes grey (From

now on the testis contains only spermatozoa). The males complete their development before the females, although male larvae develop slower than the female ones (see above). The testes are laid down in the embryo as two ellipsoids attached to two masses of cells which are the future accessory glands (Figs. 5, 9, 10*a*). The testis elongates, grows, and assumes the shape shown in Figs. 10*c* and 10*e*. The definitive shape of the testis (Figs. 10*g* and 11) appears later. The pear-shaped ovary (Fig. 10*b*) develops at first slower than the testis; it increases in size and the egg-strings differentiate in the prepupa (Fig. 10*d*). The oviducts are at first two long strands distally fused in a single tube; with the growth of the oocytes the ovary becomes cylindrical (Figs. 10*f*, 12*a*, and *b*). The adult ovary is shown in Figs. 10*h* and 13. The origin of the primordial sex cells has not been followed.

(5) Chromosome cycle in *Telenomus fariai*. (A) Spermatogenesis. At any time in the development the testis contains cells approximately at the same stage. Spermatogonia (Figs. 14 and 15) have always 10 chromosomes, the largest of which is an equal-armed V. Small degenerating cells may be seen in the testis among the spermatogonia (Figs. 7-9). The origin of these cells is as follows: spermatogonia undergo a special unequal division (Fig. 16) from which result two very unequal daughter cells, one large and the other much smaller. The larger cell transforms into a spermatocyte and the smaller degenerates (Fig. 17). The degenerating small cells are always visible in young testes as well as in those containing growing spermatocytes (Figs. 7 and 8). Like the spermatogonia, the spermatocytes have 10 chromosomes, but in the spermatocytes the largest chromosome is an unequal-armed V (a J), instead of an equal-armed V (Figs. 18-20). We must conclude that the special division of the spermatogonia mentioned above entails an unequal division of the large V-shaped chromosome as well as of the cytoplasm: one of the division products of that chromosome is a V and the other is a J (Fig. 21). Since all the spermatocytes show a J-shaped chromosome, it follows that the cells receiving the V are the small cells which degenerate. Figs. 7, 8, and 23 show growing first spermatocytes, which are larger in size than the spermatogonia (Fig. 24). Since no spermatogonia with a J-shaped chromosome have been found, it seems probable that the unequal division is the last spermatogonial division. In growing spermatocytes figures resembling meiotic prophase can sometimes be seen (Figs. 25-27); the meaning of these figures is unclear. The first spermatocytes finally

undergo a normal mitotic division (Fig. 28), giving rise to two second spermatocytes each with 10 chromosomes (Figs. 29-32). In other Hymenoptera the first spermatocytes undergo an abortive division, which leads to expulsion of a plasmatic bud without a nucleus. The second spermatocytes remain connected by means of "Spindelrestekörper" (Figs. 23, 28, 32). Now, the second spermatocytes of *T. fariai* undergo an abortive division. An intranuclear spindle with a single centriole appears (Figs. 33 and 34). The chromosomes arrange themselves in a slightly irregular equatorial plate (Fig. 35). The spindle regresses and the nucleus return to an interphase (Fig. 36). A constriction appears in the cytoplasm on the side of the cell opposite to that containing a nucleus (Figs. 37 and 38), and a bud with some cytoplasm but no nucleus is given off (Fig. 39, 40 and 42). Plasmatic connections (chondrioma) between the nucleated and the nucleus-less cells persist (Figs. 36-40 and 42). Later on the two cells separate completely (Fig. 41). The initial stages of the

Two types of spermatogenesis, the honey-bee type and nothing unusual.

Two types of spermatogenesis, the honey-bee type and the *Vespa* type, have been known in Hymenoptera. *Telenomus fariai* has a third type, which is, however, closer to the *Vespa* than to the honey-bee type (figs. 71-74).

(B) Oogenesis. The oogonia show no unusual features. They contain 20 chromosomes, 4 pairs of which have submedian, 1 pair subterminal, and 5 pairs apparently terminal centromeres. The largest pair of V's consists of unequal partners: one of the V's is equal-armed, as in the spermatogonia, while its mate is an unequal-armed V or a J, resembling that found in the spermatocytes. Oogonia are found in the ovary up to the prepupa stage (Fig. 10*d*). Meiosis appears to be normal; Figs. 77*a* and *b* show its beginning. Fig. 48 represents an oocyte from a pupa with brown eyes. Figs. 49 and 50 correspond to nearly adult insects. Fig. 51 is taken from the ovary of an adult. A peculiar condition is shown in Fig. 52*a*, which represents a young oocyte still devoid of a tail, its nucleus contains a sort of a multipolar spindle (Fig. 53). This spindle becomes more regular (Figs. 52*b* and 54). In Fig. 55 tetrads can be seen. Then the tetrads become condensed, the spindle decreases, and the surface of the nucleus becomes wrinkled (Fig. 56). It is probable that these phenomena are the beginning of the first meiotic division. The nucleus stays in this stage while the egg develops its "tail". The oocytes leave the ovary head first (Figs. 10*h* and 13),

while in *Tryphonotypus* (according to Pampel) they leave the ovary tail first. The size of the oocytes ready to be deposited is variable, just as it is in *Paracopidosomopsis* according to Patterson. The nurse cells show nothing unusual.

(C). Fertilization. Details have not been studied, but the general situation seems closer to that observed by Patterson in *Paracopidosomopsis* than to that found by Speicher in *Habrobracon*. A single spermatozoon enters the first oocyte (Figs. 57 and 58). No polyspermy is observed. Soon after the entry, the head of the spermatozoon becomes triangular (Fig. 59). Then the nucleus of the oocyte divides twice (Figs. 60 and 61). Of the four resulting nuclei, which we can call  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  and  $B_2$ , two fuse ( $A_2 + B_1$ ). The copulation of the pronuclei and the degeneration of the fourth egg nucleus have not been observed. The polar nucleus gives rise to the trophamnion.

(D). Somatic cells. The chromosomes have been counted in the somatic cells of both sexes, in sons of the fertilized as well as in sons of virgin mothers. 10 chromosomes are usually found in male cells (Figs. 63-66), and 20 chromosomes in female cells (Figs. 67-69). The largest chromosome in the somatic male cells, as in the spermatogonia, is an equal-armed V. In the females, the two largest chromosomes form a pair consisting of unequal partners, a V and a J, as in oogonia. Cells with greater than the basic number of chromosomes are occasionally found in *T. fariai* as in other Hymenoptera (Fig. 70). The origin of these cells probably involves non-disjunction.

(6). Sex-determination. In accordance with the theory of P. W. Whiting, the sex-determination in *Habrobracon*, and probably in other arrenothocous Hymenoptera, occurs as follows. There is a series of sex-determining alleles  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ , etc.. Any heterozygote ( $X_1X_2$ ,  $X_2X_3$ ,  $X_1X_3$ , etc.) is a female, while any homozygote ( $X_1X_1$ ,  $X_2X_2$ ,  $X_3X_3$ , etc.) and any hemizygote ( $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ , etc.) is a male. Poorly viable diploid males have been obtained experimentally in *Habrobracon* by means of close inbreeding. *Telenomus fariai*, as stated above, reproduces by means of an almost obligatory brother-sister mating. Hence, 50 percents of diploid individuals in *T. fariai* should be diploid males, which have actually not been observed at all. The study of the chromosome cycle suggests a solution of this paradox. Let us call the equal-armed V-shaped chromosome the X-chromosome, and the J-shaped the Y-chromosome. All females are XY. Since the somatic cells and the spermatogonia of the male contain an X, and since all

the males arise from unfertilized eggs, it follows that the functioning female pronucleus is also always X-containing. Since all eggs contain an X, and all females are XY, it follows that all sperms must carry a Y-chromosome. Yet, all the spermatogonia contain an X! The special division which takes place in the spermatogonia must be responsible for the transformation of the X-bearing spermatogonia into Y-bearing spermatocytes. In this mitosis the X-chromosome divides unequally, into a V-shaped chromosome (the X) and a J-shaped chromosome ( $X - a = Y$ ). The cell receiving the X degenerates, while the Y-bearing one develops into a spermatocyte and later into spermatozoa. In conclusion: natural selection could hardly permit the survival of a species in which a considerable portion of the zygotes would develop into poorly viable individuals. On the other hand, the inbreeding which is observed in *T. fariai* might be advantageous for the species, perhaps because with this system a single male suffices to inseminate many females. The peculiar cytological mechanism observed in *T. fariai* is an escape from this impasse.

### BIBLIOGRAFIA

- ADAM, A. — 1912 — Bau und Mechanismus des Receptaculum seminis bei den Bienen, Wespen und Ameisen. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ont. 35.
- ARMBRUSTER, L. — 1913a — Ueber die Chromatinverhält. bei solitären Bienen und ihre Beziehung, etc.. Ber. naturf. Gesellsch. Freiburg 20.
- ARMBRUSTER, L. — 1913b — Chromosomenverhältnisse bei der Spermatogenese solitärer Apiden (*Osmia cornuta* Latr.): Arch. Zellf. 11.
- BAEHR, W. B. von — 1908 — Ueber die Bildung der Sexualzellen bei Aphididae. Zool. Anz. 33.
- BAEHR, W. B. von — 1909 — Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von *Aphis saliceti*, mit besonderer Berücksichtigung der Chromatinverhältnisse. Arch. Zellf. 3.
- BALBIANI, E. G. — 1882 — Sur la structure du noyau des cellules salivaires chez les larves de *Chironomus*. Zool. Anz. 4.
- BLOCHMANN, F. — 1889 — Ueber die Zahl der Richtungskörper bei befruchteten und unbefruchteten Bieneniern. Morph. Jahrb. 15.
- BONNEVIE, K. — 1902 — Ueber Chromatindiminution bei Nematoden. Jena. Zeitschr. Med. Naturw. 36.
- BÖRNER, C. — 1925 — Die Folge der Reifeteilungen auf Grund der Tokontologischen Analyse der Organismenentwicklung. Zool. Anz. 64.
- BOSTIAN, C. H. — 1934 — Biparental males and biparental ratios in *Habrobracon*. Biol. Bull. 66.

- BOSTIAN, C. H. — 1935 — Sex linkage as shown by biparental males in *Habrobracon*. Amer. Nat. 69.
- BOSTIAN, C. H. — 1939 — Multiple alleles and sex-determination in *Habrobracon*. Genetics 24.
- BOULANGÉ, H. — 1924 — Recherches sur l'appareil copulateur des Hyménoptères et spécialement des Chalastogastres, These. Nancy.
- BOVERI, TH. — 1888 — Ueber partielle Befruchtung. Sitzungsber. Gesell. Morph. Physiol. München 4.
- BOVERI, TH. — 1892 — Die Entstehung des Gegensatzes zwischen den Geschlechtszellen und den somatischen bei *Ascaris*. Sitzungsber. Gesell. Morph. Physiol. München 8.
- BOVERI, TH. — 1899 — Die Entwicklung von *Ascaris megalcephala* mit besonderer Rücksicht auf die Kernverhältnisse. Festschr. f. C. von Kupffer.
- BOVERI, TH. — 1905 — Zellenstudien V. Ueber die Abhängigkeit der Kerngrösse und Zellenzahl der Seeigel-Larven von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen. Jena.
- BOVERI, TH. — 1907 — Zellenstudien VI. Jena.
- BOVERI, TH. — 1909 — Die Blastomerenkerne von *Ascaris megalcephala* und die Theorie der Chromosomen-Individualität. Arch. Zellf. 3.
- BOVERI, TH. — 1915 — Ueber die Entstehung der Engsterschen Zwitterbienen. Arch. Entwicklungsmech. 41.
- BRESSLAU, E. — 1905 — Der Samenblasengang der Bienenkönigin (Studien über den Geschlechtsapparat und die Fortpflanzung der Bienen I). Zool. Anz. 29.
- BRIDGES, C. B. — 1921 — Genetical and cytological proof of non-disjunction of the fourth chromosome of *Drosophila melanogaster*. Proc. Nat. Acad. Sc. 7.
- BRIDGES, C. B. — 1922 — The origin of variation in sexual and sex-limited characters. Amer. Nat. 56.
- BRIDGES, C. B. — 1925 — Sex in relation to chromosomes and genes. Amer. Nat. 59.
- BRIDGES, C. B. — 1932 — Cytological and genetical basis of sex, in Sex and Internal Secretions. Edited by E. A. Allen, Williams and Wilkins, Baltimore.
- BRIDGES, C. B. — 1935 — Salivary chromosome maps. Journ. Hered. 26.
- BUTTEL-REEPEN, H. von — 1915 — Leben und Wesen der Bienen. Braunschweig.
- CHERSHIRE, F. R. — 1885-86 — Bees and Beekeeping. 2 vol. London.
- COSTA LIMA, A. da — 1927 — Nota sobre o "Telenomus fariaii", novo Scelionideo, parasito endophago dos ovos de "Triatoma megista" (Burm.). Scientia Medica 5.
- COSTA LIMA, A. da — 1928 — Notas sobre a biologia do *Telenomus fariaii* Lima, parasito dos ovos de *Triatoma*. Memórias do Inst. Oswaldo Cruz 21.
- CUÉNOT, L. — 1909 — Les mâles d'Abeilles proviennent-ils toujours d'oeufs parthénogénétiques? Bull. Biol. France Belg. 43.
- DELLA TORRE, K. W. von — 1910 — Die Parthenogenese der Honigbiene. Zool. Zbl. 17.
- DOBZHANSKY, TH. — 1930 — Translocations involving the third and the fourth chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Genetics 15.
- DOBZHANSKY, TH. and SCHULTZ, J. — 1934 — The distribution

- of sex-factors in the X-chromosomes of *Drosophila melanogaster*. Journ. Genet. 28.
- DONCASTER, L. — 1906 — Spermatogenesis of the Hive Bee (*Apis mellifica*). Anat. Anz. 29.
- DONCASTER, L. — 1907a — Gametogenesis and fertilization in *Nematus ribesii*. Quart. Jour. Micros. Sc. 51.
- DONCASTER, L. — 1907b — Spermatogenesis of the Hive Bee (*Apis mellifica*). Correction. Anat. Anz. 31.
- DONCASTER, L. — 1909 — Gametogenesis of the saw-fly *Nematus ribesii*: A Correction, Nature 82.
- DONCASTER, L. — 1910 — Gametogenesis in the gall-fly, *Neuroterus lenticularis* (*Spathaegaster baccarum*) Part I. Proceed. Royal Soc. London B 82.
- DONCASTER, L. — 1911 — Gametogenesis in the gall-fly, *Neuroterus lenticularis* (*Spathaegaster baccarum*) Part II. Proceed. Royal Soc. London B 83.
- DONCASTER, L. — 1916 — Gametogenesis in the gall-fly, *Neuroterus lenticularis* (*Spathaegaster baccarum*) Part III. Proceed. Royal Soc. London B 89.
- DORDICK, I. — 1937 — Multiple chromosome versus differential maturation in sex-determination in *Habrobracon*. Genetics 22.
- DOZORCEVA, R. L. — 1936a — The morphology of chromosomes of the Ichneumon *Pteromalus puparum*. C. R. Acad. Sc. U. S. S. R. 3.
- DOZORCEVA, R. L. — 1936b — Sex-linked heredity in *Pteromalus puparum*. C. R. Acad. U. S. S. R.
- DREYFUS, A. e BREUER, M. — 1943 — Unicidade ou dualidade dos machos de "Telenomus fariai"? Rev. Bras. de Biol. 3.
- EAST, E. M. — 1929 — Self sterility. Bibl. Genetica 5.
- FROLOWA, S. — 1926 — Normale und polyploide Chromosomen-garnituren bei einigen *Drosophila*-Arten. Zeit. Zellf. mikr. Anat. 3.
- FROLOWA, S. — 1929 — Die Polyploidie einiger Gewebe bei Dipteren. Zeit. Zellf. mikr. Anat. 8.
- GIARDINA, A. — 1901 — Origine dell oociti e delle cellule nutritive nel *Dytiscus*. Monatsschr. Anat. Phys. 18.
- GRANATA, L. — 1909 — Le divisione degli Spermatociti di *Xylocopa violacea*. L. Biologia, Torino 2.
- GRANATA, L. — 1913 — Ancora sulla divisione degli spermatociti di *X. violacea*. Mon. Zool. Ital. 24.
- HASE, A. — 1922 — Biologie der Schlupfwespe *Habrobracon brevicornis* (Wesmael) Braconidae. Arb. Biol. Reichs. f. Land u. Forstwirtschaft. 2.
- HEGNER, R. W. — 1912 — The history of the germ cells in the paedogenetic larva of *Miastor*. Science 36.
- HEITZ, E. und BAUER, H. — 1933 — Beweise für Chromosomen-natur der Kernschleifen in den Knäuelkernen von *Biblio hortulanus*. Zeit. Zellf. Mikr. Anat. 17.
- HENKING, H. — 1892 — Untersuchungen über die ersten Entwicklungsvorgänge in den Eiern der Insekten III. Spezielles und Allgemeines. Zeitsch. wiss. Zool. 54.
- HOLT, C. M. — 1917 — Multiple complexes in the alimentary tract of *Culex pipiens*. Journ. Morph. 29.
- HONDA, H. — 1921 — Spermatogenesis of Aphids; the fate of the smaller secondary spermatocyte. Biol. Bull. 40.



- HUGHES-SCHRADER, S. — 1927 — Origin and differentiation of the male and female germ cells in hermaphrodite of *Icerya purchasi* (Coccidae), Zeitsch. Zellf. mikr. Anat. 6.
- HUGHES-SCHRADER, S. and RIS, H. — 1941 — The diffuse spindle attachment of coccids, verified by the mitotic behaviour of induced chromosome fragments. Journ. Exp. Zool. 87.
- INABA, F. — 1939 — Diploid males and triploid females of the parasitic wasp *Habrobracon pectinophorae* Watanabe. Cytologia 9.
- KAHLE, W. — 1908 — Die Paedogenese des Cécidomyden. Zoologica 21.
- KING, R. L. and SLIFER, E. H. — 1933 — Genetic analysis of parthenogenesis, in Nabours' grouse locust. Amer. Nat. 67.
- KOSTANECKI, K. — 1904 — Cytologische Studien an künstlich parthenogenetisch sich entwickelnden Eiern von *Maetra*. Arch. mikr. Anat. 64.
- KULAGIN, N. — 1901 — Die Entstehung der Geschlechter bei den Bienen. Moskau (em russo, análise em alemão no Zool. Zentralbl. 10, 1903).
- LAMS, H. — 1908 — Les divisions des spermatocytes chez la fourmi (*Camponotus herculeanus* L.). Arch. Zellf. 1.
- LEIBY, R. W. — 1922 — The polyembryonic development of *Copidosoma gelechiae*, with notes on its Biology. Journ. Morph. 37.
- LEIBY, R. W. — 1928 (1929) — Polyembryony in insects. IV Congr. Inter. Entomol. Ithaca.
- LEIBY, R. W. and HILL, C. C. — 1923 — The twinning and monoembryonic development of *Platygaster hiemalis*, a parasite of the Hessian fly. Journ. Agric. Res. 25.
- LEIBY, R. W. and HILL, C. C. — 1924 — The polyembryonic development of *Platygaster vernalis*. Journ. Agric. Research 28.
- LEUCKART, R. — 1858 — In Kenntniss des Generationswechsels und der Parthenogenesis bei den Insekten. Frankfurt a. M.
- LOWE, J. — 1867 — Observations on Dzierzon's Theory of parthenogenesis in the Honey-Bee, Trans. Ent. Soc. London (3) 5.
- MARCHAL, P. — 1896 — La reproduction et l'évolution des Guêpes sociales. Arch. Zool. exp. gén. (3) 15.
- MARK, E. L. and COPELAND, M. — 1906 — Some stages in the spermatogenesis of the Honey-Bee. Proceed. Amer. Acad. 52.
- MARK, E. L. and COPELAND, M. — 1907 — Maturation stages in the spermatogenesis of *Vespa*. Proceed. Amer. Acad. 53.
- MARTIN, FR. — 1914 — Zur Entwicklungsgeschichte des Polyembryonalen Chalcidiens *Agéniaspis (Encyrtus) fuscicollis* Dalm. Zeitsch. wiss. Zool. 110.
- MC CLUNG, C. E. — 1901 — Notes on the accessory chromosome. Anat. Anz. 20.
- MC CLUNG, C. E. — 1902 — Spermatocyte — divisions of the Acrididae. Kansas Univ. quart. 9.
- MC CLUNG, C. E. — 1914 — A comparative study of the chromosomes in Orthopteran spermatogenesis. Journ. Morphol. 25.
- MEHLING, E. — 1915 — Ueber die gynandromorphen Bienen des Engsterschen Stockes. Verhandl. phys.-med. Gesell. Würzb. 53.
- METZ, C. W. — 1935 — Structure of the salivary gland chromosomes in *Sciara*. Journ. Hered. 26.

- MEVES, F. — 1904 — Ueber "Richtungskörperbildung" im Hoden von Hymenopteren. Anat. Anz. 24.
- MEVES, F. — 1907 — Die Spermatocytenbildung bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.) nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. Arch. mikr. Anat. 70.
- MEVES, F. und DUESBERG, J. — 1908 — Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse (*Vespa crabro* L.). Archiv. mikr. Anat. 71.
- MEYER, O. — 1895 — Cellular-Untersuchungen an Nematodeneiern. Jena. Zeitschr. Med. Naturwiss. 29.
- MIKAILOFF, A. S. — 1931 — Über die Vererbung der Weissäugigkeit bei der Honigbiene (*Apis mellifica*). Zeit. ind. Abst.-Vererb. 59.
- MONTGOMERY, TH. — 1904 — Some observations and considerations upon the maturation phenomena of the germ cells. Biol. Bull. 6.
- MONTGOMERY, TH. — 1906 — The terminology of aberrant chromosomes and their behavior in certain Hemiptera. Sci. n. s. 23.
- MORGAN, T. H. — 1909 — A biological and cytological study of sex determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. of Exp. Zool. 7.
- MORGAN, T. H. — 1916 — The Engster gynandromorphi Bees. Amer. Natur. 50.
- NABOURS, R. K. — 1930 — Induced parthenogenesis and homozygosis. Science 71.
- NACHTSHEIM, H. — 1913 — Cytologische Studien über die Geschlechtsbestimmung bei der Honigbiene (*Apis mellifica* L.). Arch. Zellf. 9.
- NACHTSHEIM, H. — 1921 — Sind haploide Organismen (Metazoen) lebensfähig? Biol. Zentralbl. 41.
- NAWASHIN, M. S. — 1932 — The dislocation hypothesis of evolution of chromosome numbers. Zeitschr. ind. Abst.-Vererbungs. 63.
- NEWELL, W. — 1915 — Inheritance in the Honey-Bee. Science 41.
- OEHNIGER, M. — 1913 — Über Kerngrößen bei Bienen. Verhandl. phys. med. Gesell. Würzburg. N. F. 42.
- PAINTER, T. S. — 1934 — The morphology of the X chromosome in the salivary glands of *D. melanogaster* and a new type of chromosome map for this element. Genetics 19.
- PAINTER, T. S. and MÜLLER, J. H. — 1929 — The parallel cytology and genetics of induced translocations and deletions in *Drosophila*. Journ. Hered. 20.
- PAMPEL, W. — 1914 — Die weiblichen Geschlechtsorgane der Ichneumoniden. Zeit. wiss. Zool. 108.
- PARMENTER, C. L. — 1926 — The chromosomes of parthenogenetically developed young tadpoles and early cleavages of *Rana pipiens*. Anat. Rec. 34.
- PATTERSON, J. T. — 1917 — Studies on the biology of *Paracopidosomopsis* III. Maturation and fertilization. Biol. Bull. 33.
- PATTERSON, J. T. — 1921-22 — The development of *Paracopidosomopsis*. Journ. Morphol. 36.
- PATTERSON, J. T. and HAWLETT, G. W. D. — 1925 — Haploid males in *Paracopidosomopsis*. Science 89.
- PATTERSON, J. T. and PORTER, L. T. — 1917 — Studies on the

- biology of *Paracopidosomopsis* II — Spermatogenesis of males, etc. — Biol. Bull. 33.
- PAULCKE, W. — 1899 — Zur Frage der parthenogenetischen Entstehung der Drohnen (*Apis mellifica* ♂). Anat. Anz. 16.
- PEACOCK, A. D. — 1925 — Haploidy in the male saw-fly (Tenthredinidae) and some considerations arising therefrom. Nature 116.
- PÉREZ, J. — 1878 — Mémoire la Ponte de l'Abeille Reine et la théorie de Dzierzon. Ann. Sc. Nat. (6), Zool. 7.
- PETRUNKEWITSCH, A. — 1901 — Die Richtungskörper und ihr Schicksal im befruchteten und unbefruchteten Bienenei. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ont. 14.
- PETRUNKEWITSCH, A. — 1903 — Das Schicksal der Richtungskörper im Drohnenei. Zool. Jahrb. Abt. Ont. 17.
- PHILLIPS, E. F. — 1903 — A review of parthenogenesis. Proceed. Amer. Phil. Soc. 42.
- ROBERTSON, W. R. B. — 1930 — Chromosomes studies. V-Diploidy and persistent chromosome relations in partheno — produced Tettigidae (*Apotettix enrycephalus* and *Paratettix texanus*). Journ. Morph. Phys. 50.
- SCHLEIP, W. — 1908 — Die Richtungskörperbildung im Ei von *Formica sanguinea*. Zool. Jahrb. Abt. Anat. Ont. 26.
- SCHRADER, F. — 1920 — Sex determination in the White-fly (*Trialeurodes vaporarum*). Journ. Morphol. 34.
- SCHRADER, F. — 1921 — The chromosomes of *Pseudococcus nipae*. Biol. Bull. 40.
- SCHRADER, F. — 1923a — Haploidie bei einer Spinnmilbe. Arch. Mikr. Anat. 97.
- SCHRADER, F. — 1923b — A study of the chromosomes in three species of *Pseudococcus*. Arch. Zellf. 17.
- SCHRADER, F. — 1929 — Experimental and cytological investigations of the life-cycle of *Gossyparia spuria* (Coccidae) and their bearing on the problem of haploidy in males. Zeit. wiss. Zool. 144.
- SCHRADER, F. — 1935 — Notes on the mitotic behavior of long chromosomes. Cytol. 6.
- SCHRADER, F. and HUGHES-SCHRADER, S. — 1931 — Haploidy in Metazoa. Quart. Rev. Biol. 6.
- SEILER, J. — 1914 — Das Verhalten der Geschlechtschromosomen bei Lepidopteren. Arch. Zellf. 13.
- SIEBOLDT, C. T. E. von — 1843 — Über das Receptaculum seminis der Hymenopterenweibchen. Germar's Zeitschr. Entom. 4.
- SIEBOLDT, C. T. E. von — 1856 — Wahre Parthenogenesis bei Schmetterlingen und Bienen. Leipzig.
- SIEBOLDT, C. T. E. von — 1864 — Ueber Zwitterbienen. Zeit. wiss. Zool. 14.
- SIEBOLDT, C. T. E. von — 1871 — Beiträge zur Parthenogenesis der Arthropoden. Leipzig.
- SILVESTRI, F. — 1906a — Contribuzione alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. I. Biologia del *Litomastix truncatellus* (Dalm.). Annal. R. Soc. Sup. Agric. Portici 1.
- SILVESTRI, F. — 1906b — Sviluppo dell'*Ageniaspis fuscollis* (Dalm.) Thoms. (Chalcididae). Rend. R. Accad. Lincei 15.
- SILVESTRI, F. — 1909 — Contribuzione alla conoscenza biologica degli Imenotteri parassiti. II. Sviluppo dell'*Ageniaspis fuscol-*

- lis* Dalm. e note biografiche. *Annal. R. Soc. Sup. Agric. Portici* 3.
- SILVESTRI, F. — 1914 — Prime fasi di sviluppo del *Copidosoma Buyssoni* (Mayr), Imenottera Chalcididae. *Anat. Anz.* 47.
- SILVESTRI, F. — 1915 — Struttura dell'ovo e prime fasi di sviluppo di alumi. Imenottera parassiti. *Boll. Lab. Zool. Agrar. R. Scuola Agric. Portici* 10.
- SILVESTRI, F. — 1916 — Sulla maturazione dell'ovo, fecondazione e formazione del trophamnios sul *Platygaster dryomyiae* Silv. *Atti Accad. Lincei* (5), 2e. Sem., 25.
- SILVESTRI, F. — 1937 — Insect polyembryony and its general biological aspects. *Bull. Mus. Comp. Zool.* 81.
- SNELL, G. D. — 1935 — The determination of sex in *Habrobracon*. *Proc. Nat. Acad. Sc.* 21.
- SPEICHER, B. R. — 1936 — Oogenesis, fertilization and early cleavage in *Habrobracon*. *Journ. Morphol.* 59.
- SPEICHER, B. R. and SPEICHER, K. G. — 1940 — The occurrence of diploid males in *Habrobracon brevicornis*. *Amer. Nat.* 74.
- STEVENS, N. M. — 1905 — Studies in spermatogenesis with special reference to the accessory chromosome. *Publ. of the Carn. Inst. of Wash.* 36.
- STEVENS, N. M. — 1909 — An unpaired heterochromosome in the Aphids. *Journ. Exp. Zool.* 6.
- TAUSON, A. — 1924 — Die Reifungsprozesse der Parthenogenetischen Eier von *Asplanchna intermedia* Huds. *Zeit. Zellgewebe* 1.
- TAUSON, A. — 1927 — Die Spermatogenese bei *Asplanchna intermedia* Huds. *Zeit. Zellf. mikr. Anat.* 4.
- THOMSEN, M. — 1927 — Studien über die Parthenogenese bei einigen Cocciden und Aleurodiden. *Zeit. Zellf. mikr. Anat.* 5.
- THOMSEN, M. — 1928-29 — Sex-determination in *Lecanium*. *Trama. IV Inst. Congr. Entom. Ithaca.*
- TOLEDO PIZA Jr., S. de — 1929 — Determinação do sexo em *Telenomus fariai* Lima e considerações sobre alguns problemas biológicos. *Revista de Agricultura* 4.
- TORVIK, M. M. — 1931 — Genetic evidence for diploidism of biparental males in *Habrobracon*. *Biol. Bull.* 61.
- TORVIK-GREB, M. — 1935 — The chromosomes of *Habrobracon*. *Biol. Bull.* 68.
- VANDEL, A. — 1931 — La parthénogenèse. *Doin, Paris.*
- WASILLIEW, J. W. — 1904 — Ueber Parthenogenese bei den Arten der Schlupfwespengattung *Telenomus*. *Zool. Anz.* 27.
- WHITING, A. R. — 1927 — Genetic evidence for diploid males in *Habrobracon*. *Biol. Bull.* 53.
- WHITING, A. R. — 1934 — Eye colors in the parasitic wasp *Habrobracon* and their behaviour in multiple recessives and in mosaics. *Journ. Genetics* 29.
- WHITING, A. R. and ANDERSON, R. L. — 1932 — Temperature and other factors concerned in male biparentalism in *Habrobracon*. *Amer. Nat.* 66.
- WHITING, P. W. — 1918 — Sex-determination and biology of a parasitic wasp *Habrobracon brevicornis* (Wesmael). *Biol. Bull.* 34.
- WHITING, P. W. — 1928 — Mosaicism and mutation in *Habrobracon*. *Biol. Bull.* 54.

- WHITING, P. W. — 1931 — Diploid male parts in gynandromorphs of *Habrobracon*. Biol. Bull. 61.
- WHITING, P. W. — 1932 — Diploid mosaics in *Habrobracon*. Amer. Nat. 66.
- WHITING, P. W. — 1933 — Selective fertilization and sex-determination in Hymenoptera. Science 78.
- WHITING, P. W. — 1934 — Sex-determination in bees and wasps. Proc. Penns. Acad. Sc. 8.
- WHITING, P. W. — 1935 — Sex-determination in bees and wasps. Journ. Hered. 26.
- WHITING, P. W. — 1939 — Sex-determination and reproductive economy in *Habrobracon*. Genetics 24.
- WHITING, P. W. — 1940a — Multiple alleles in sex-determination of *Habrobracon*. Journal Morphol. 66.
- WHITING, P. W. — 1940b — Investigations on genetics and sex-determination in the parasitic wasp *Habrobracon*. Yearbook of Amer. Phil. Soc..
- WHITING, P. W. — 1940c — Proof of quadruple alleles in sex-differentiation of *Habrobracon*. Collet. Nat. 15.
- WHITING, P. W. — 1940d — Sex-linkage in *Pteromalus*. Amer. Nat. 74.
- WHITNEY, D. D. — 1929 — The chromosome cycle in the rotifer *Asplanchna amphora*. Journ. Morph. 47.
- WHITING, P. W. e BEUKERT, L. H. — 1934 — Azygotic ratios in *Habrobracon*. Genetics 19.
- WHITING, P. W., GREB, R. J. and SPEICHER, B. R. — 1934 — A new type of sexintergrade. Biol. Bull. 66.
- WHITING, P. W. and WHITING, A. R. — 1925 — Diploid males from fertilized eggs in Hymenoptera. Science 62.
- WHITING, P. W. and WHITING, A. R. — 1927 — Gynandromorphs and other irregular types in *Habrobracon*. Biol. Bull. 52.
- WIEMAN, H. L. — 1915 — Observations on the spermatogenesis of the gall-fly *Dryophanta erinacei* (Mayr). Biol. Bull. 28.
- WILSON, E. B. — 1905a — The chromosomes in relation to the determination of sex in Insects. Science 21.
- WILSON, E. B. — 1905b — The behavior of the idiochromosomes in Hemiptera. Journ. Exp. Zool. 2.
- WILSON, E. B. — 1906 — The sexual differences of the chromosomes in Hemiptera. Journ. Exp. Zool. 3.

### LEGENDA DAS FIGURAS

Convenções ( ♂ = macho derivado de fêmea que copulou.  
( ♂ = macho derivado de fêmea virgem.  
( ♀ = fêmea.

- Fig. 1 — Curvas mostrando a frequência do tamanho dos machos nascidos de fêmeas que copularam (a), de machos nascidos de fêmeas virgens (b) e de fêmeas (c).
- Fig. 2 — Tamanhos das vespas de acordo com o número de animais desde 4 até 21 machos nascidos de cada ovo de barbeiro.
- Fig. 3 — Esquema do desenvolvimento embrionário de *Telenomus* em suas primeiras fases. a) ovo fecundado; b) segmentação do ovo, mostrando 3 regiões; c) blástula; d) gás-

- trula; e) e f) larva jovem. Preparações totais. Col. Feulgen.
- Fig. 4 — a) ovo segmentado em 2 regiões, das quais uma vai dar o embrião e a outra, em forma de chapéu, o trofâmio; b) ovo segmentado em 3 regiões. Preparações totais. Col. Feulgen — hematoxilina férrica.
- Fig. 5 — Blástula de *T. fariai*, total. Col. Feulgen.
- Fig. 6 — Larvas masculinas e femininas, da mesma idade.
- Fig. 7 — Microfoto de corte de testículo de uma pré-pupa, mostrando citos jovens em crescimento e pequenas células derivadas das divisões das gônias e que depois degeneram. Não há mitoses. Carmim de Meyer e verde luz.
- Fig. 8 — Desenho esquemático combinado de vários cortes de testículo de pré-pupa, dos quais um é o microfoto fig. 7. Observar que nos cistos, onde os citos são maiores, já não há mais quasi células pequenas.
- Fig. 9 — Testículos e ductos genitais de uma larva, um pouco mais jovem do que as da fig. 6. Preparação total, corada pelo Feulgen. Dentro dos testículos vemos gônias e células pequenas ainda muito numerosas. Os testículos se continuam com 2 canais que se ligam a glândulas aqui ainda maciças.
- Fig. 10 — Esquema dos aspectos sucessivos apresentados pelo aparelho genital interno nas larvas e pupas. a) testículo de larva (correspondente, aproximadamente, à larva da fig. 6 e da fig. 9); b) ovário e oviducto de larva da mesma idade. Ainda não existe a parte fundida (útero) dos oviductos; c) testículos e seus ductos na pré-pupa; d) ovários e começo do oviducto da pré-pupa; e) testículos e seus ductos na pupa; f) ovários e seus ductos na pupa. Notar a mudança de posição do ovário. Oviductos muito curtos, útero longo; g) testículos e seus ductos no adulto; h) ovários e seus ductos, incluindo espermateca e seus ductos no adulto. Dentro de um dos ovários vemos um óvulo na posição normal.
- Fig. 11 — Microfoto do aparelho genital interno do macho adulto.
- Fig. 12 — a) aparelho genital interno da pupa feminina em sua posição normal; b) idem, idem, artificialmente desdobrado. Vemos os tubos ovarianos, dissociados, em número aproximado de 12 de cada lado, os oviductos muito curtos, útero longo, em cuja parte inferior se lança o canal da espermateca.
- Fig. 13 — Aparelho genital interno da fêmea adulta. Vêm-se os óvulos em sua posição normal, com a cauda virada para trás. Na parte inferior do útero, vê-se a espermateca e mais para baixo o início do aparelho ovopositor que foi deformado pela técnica.
- Figs. 14 e 15 — Espermatogônias mostrando 10 cromossomas, dos quais o maior é uma alça com braços iguais (cromossoma X) indicado pela seta. 14-orceina acética. 15-Feulgen.
- Fig. 16 — Divisão desigual da gônia, dando uma célula grande, outra pequena (orceina acética).
- Fig. 17 — Célula pequena isolada, derivada de uma divisão da gônia, como a da fig. 16 (orceina acética).
- Figs. 18 a 20 — Espermatócitos de 1.<sup>a</sup> ordem, mostrando 10 cromossomas, dos quais o maior, indicado por uma seta, é uma

- alça de braços desiguais (cromossoma Y). Carmim acético.
- Fig. 21** — Anafase de espermatogônias mostrando a divisão desigual da alça maior. Uma das células filhas (a) recebe uma alça de braços iguais (X); a outra, uma das alças de braços desiguais (Y). Orceina acética.
- Fig. 22** — Anafase da gônia, mostrando mais nitidamente do que em 21, que há mais citoplasma de um dos lados do que do outro. Orceina acética.
- Fig. 23** — Citos em período de crescimento, ligados por “Spindelrestkörper” e mostrando o aparelho reticular (idiossoma). Corte. hematoxilina férrica.
- Fig. 24** — Esquema mostrando a diferença de tamanho das gônias e dos citos I.
- Figs. 25 a 27** — Cito I mostrando aspectos semelhantes aos habitualmente observados na meiose. Nas figs. 26 e 27 contam-se 10 “pseudo-tétrades”. A seta na fig. 26 indica a alça maior. Carmim acético.
- Fig. 28** — Citos I em divisão. Metafase. Trata-se de uma mitose comum. No citoplasma vemos elementos do “Nebenkern” constituindo pontes entre as células. Corte corado pela hematoxilina férrica.
- Fig. 29** — Anafase do cito I mostrando 10 cromossomas de cada lado e a alça maior desigual (cromossoma Y) dos dois lados. Carmim acético.
- Fig. 30** — Telofase do cito I. Corte. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 31** — Telofase do cito I. Ao longo do fuso, os elementos do condrioma muito nítidos. No centro do fuso há uma placa celular. Corte. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 32** — Citos II recém-formados e ligados por elementos do condrioma. Corte. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Figs. 33 e 34** — Citos II mostrando fuso intranuclear, com centriolo único e cromossomas formando uma placa imperfeita. Corte. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 35** — Microfoto de citos II na fase de fuso intranuclear.
- Figs. 36 a 38** — Emissão do brôto citoplasmático anucleado pelo cito II. Notar as ligações que se estabelecem entre o brôto e a célula, pelo condrioma. Cortes. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Figs. 39 e 40** — Fases mais avançadas da expulsão do brôto que ainda está ligado ao cito II. Cortes. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 41** — Fase final da eliminação do brôto citoplasmático. Em uma célula, o brôto já se separou do cito II.
- Fig. 42** — Microfoto mostrando a expulsão do brôto.
- Figs. 43 e 44** — Início da espermiogênese.
- Figs. 45 e 46** — Metafases de ovogônias em divisão. Vemos 20 cromossomas, dos quais 8 são alças, 2 são J e os demais bastonetes. As 2 alças maiores, indicadas por setas, são uma alça de braços iguais (X) e outra de braços desiguais (Y). Na fig. 46 não foram desenhados todos os cromossomas. Carmim acético.
- Figs. 47 a e b** — 2 aspectos do início da meiose em ovócitos jovens. Corte. Feulgen-hematoxilina férrica.

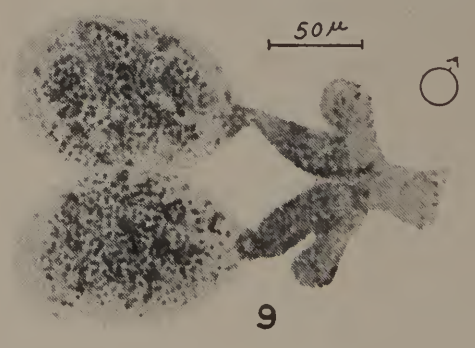
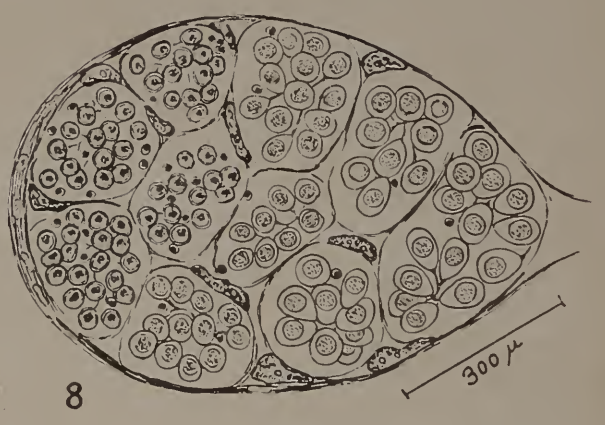
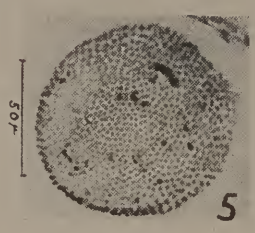
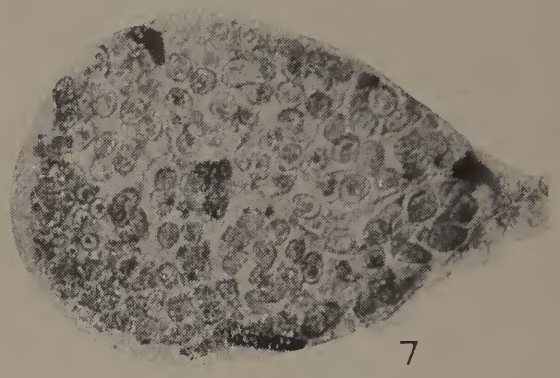
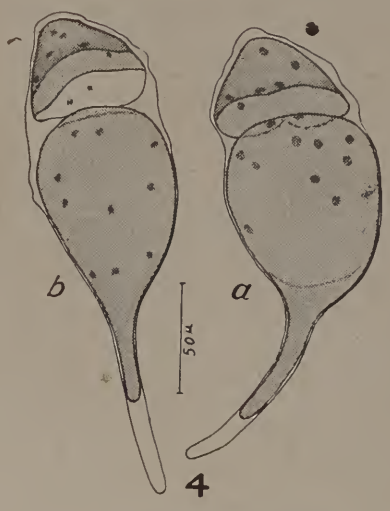
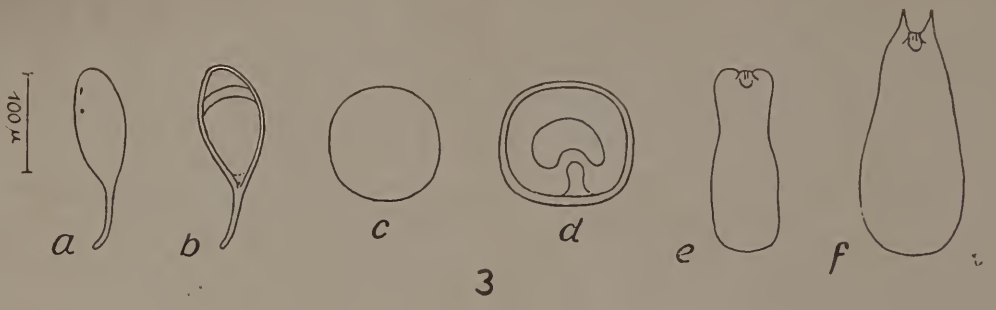
- Figs. 48 a 50 — Aspectos sucessivos da meiose em ovócitos. Podemos contar 10 tétrades. Preparados totais. Feulgen-carmin Meyer.
- Fig. 51 — Aspecto do ovócito correspondendo ao núcleo desenhado na fig. 50.
- Fig. 52 — a) ovócito um pouco mais velho, de forma mais alongada que o da fig. 51, mostrando um fuso intranuclear, mais nitidamente observável em b). Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 53 — Fuso irregular observado num ovócito mais jovem do que o da fig. 52. Além da cromatina, vêm-se grânulos hematoxilínófilos que não se coram pelo Feulgen e, mais tarde, desaparecem. Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 54 — Fuso intranuclear semelhante ao da fig. 52 b). Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 55 — Núcleo levemente amassado de ovócito na fase da fig. 52. Cromossomas vistos de frente. Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 56 — Aspecto final da evolução do fuso intranuclear. Condensação muito sensível da cromatina, fuso reduzido a dois vestígios. Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 57 — Microfoto de óvulo fecundado, mostrando o espermatozóide e o núcleo do cito I. Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 58 — Desenho do óvulo fecundado, correspondendo a microfoto fig. 57.
- Fig. 59 — Ovo fecundado. A cabeça do espermatozóide já tomou uma forma triangular. Núcleo de cito I, ainda não dividido. Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 60 — Um pouco mais tarde. Vemos o pronúcleo masculino e o núcleo do cito I dividido em 2 núcleos (A e B). Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 61 — Mais tarde ainda. Núcleo do cito dividido em 4 núcleos:  $A_1$ ,  $A_2$ ,  $B_1$  e  $B_2$ . Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Fig. 62 — Mostra a fusão de dois núcleos ( $A_2 + B_1$ ), além dos núcleos  $A_1$  e  $B_2$  e do pronúcleo masculino. Preparado total. Feulgen-hematoxilina férrica.
- Figs. 63 a 66 — Células somáticas (nervosas) em divisão, de machos. Contam-se 10 cromossomas, dos quais o maior é uma alça de braços iguais (X), aspecto comparável aos das espermatogônias (figs. 14 e 15). 66-orceína acética; 63, a 65-Feulgen.
- Figs. 67 a 69 — Células somáticas (nervosas) de fêmeas, mostrando cromossomas semelhantes aos das ovogônias (figs. 45 e 46). Os 2 cromossomas maiores são 1 alça de braços iguais (X) e outra de braços desiguais (Y). Há, além disso, mais 3 pares de alças e 1 de J. Orceína acética.
- Fig. 70 — Células somáticas (nervosas) de macho, mostrando 18 cromossomas. Orceína acética.
- Fig. 71 — Esquema da espermatogênese de tipo comum. Período de multiplicação: as células germinativas (espermatogônias) se multiplicam ativamente. Todas as mitoses são normais. Período de crescimento: cada célula que entrou em re-



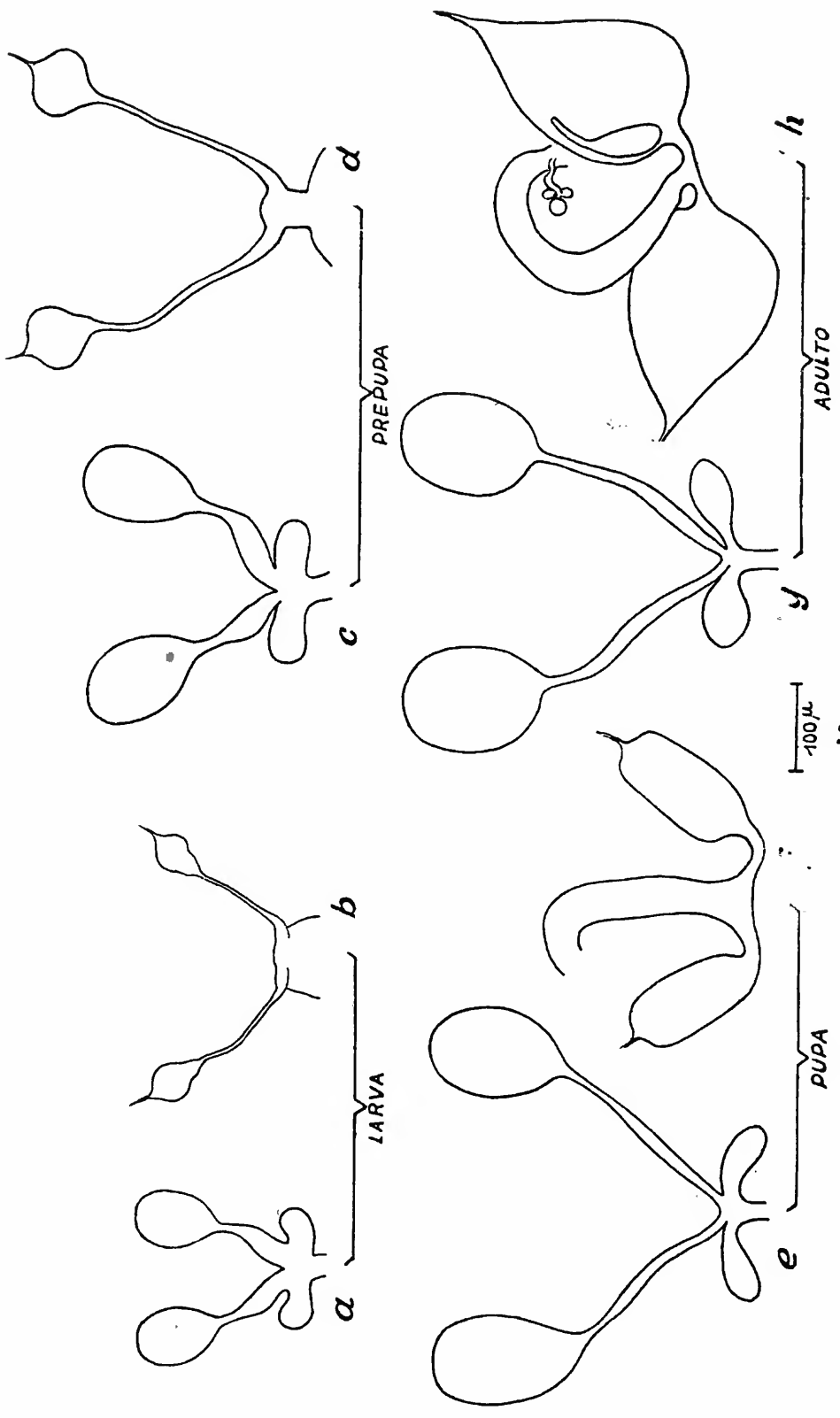
pouso cariocinético (espermatócito jovem), cresce e dá origem a um espermatócito de 1.<sup>a</sup> ordem. Período de maturação: de cada espermatócito de 1.<sup>a</sup> ordem, derivam dois espermatócitos de 2.<sup>a</sup> ordem. Cada espermatócito de 2.<sup>a</sup> ordem se divide em duas espermátides. Espermiogênese: cada espermátide se transforma em um espermatozóide. Logo, a partir de cada espermatócito de 1.<sup>a</sup> ordem se formam 4 espermatozóides.

- Fig. 72 — Esquema da espermatogênese *tipo abelha*. Forma-se um único espermatozóide, a partir de um espermatócito de 1.<sup>a</sup> ordem. As 1.<sup>a</sup> e 2.<sup>a</sup> divisões de maturação são abortivas.
- Fig. 73 — Esquema da espermatogênese *tipo vespa*. Formam-se dois espermatozóides, a partir de um espermatócito de 1.<sup>a</sup> ordem. A 1.<sup>a</sup> divisão é abortiva.
- Fig. 74 — Esquema da espermatogênese *tipo telenomus*. No período de multiplicação observa-se uma divisão diferencial das espermatogônias. A célula maior (espermatócito jovem) continua a sua evolução até se formarem 2 espermatozóides. Ao contrário do *tipo vespa*, a 2.<sup>a</sup> divisão de maturação é, aqui, abortiva.













11



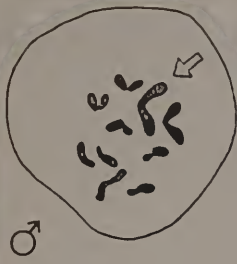
*a* ← 12 → *b*



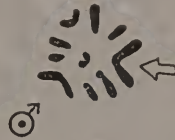
13







14



15



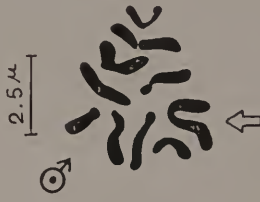
16



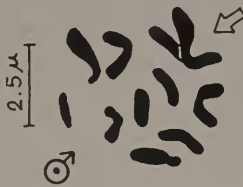
17



18



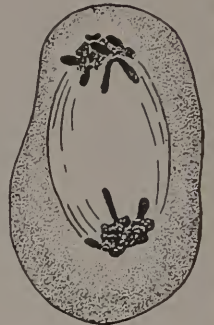
19



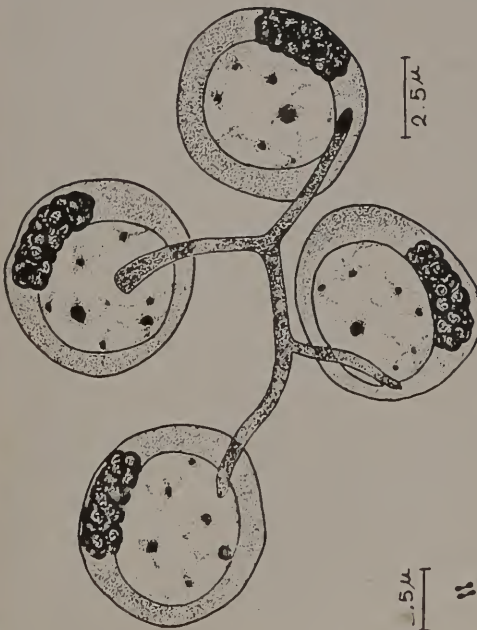
20



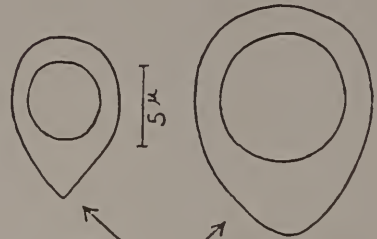
21



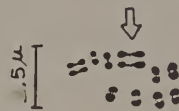
22



23



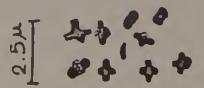
24



26

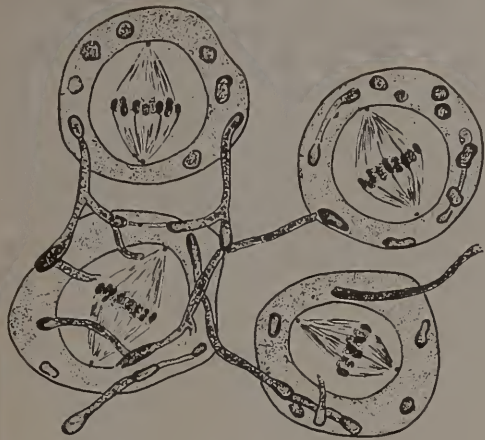


25

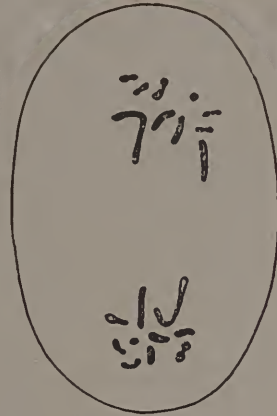


27





28



29

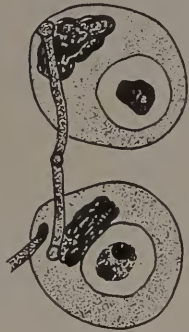
5  $\mu$



30



31



32



33



34



36



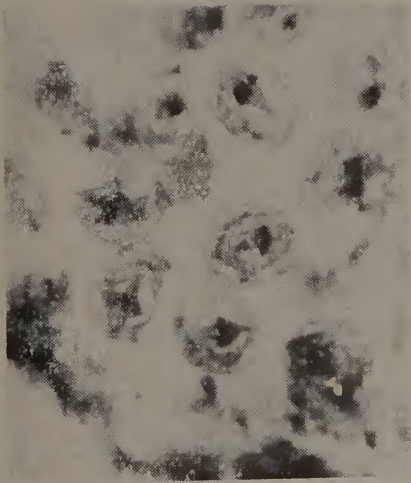
37



38



39



35

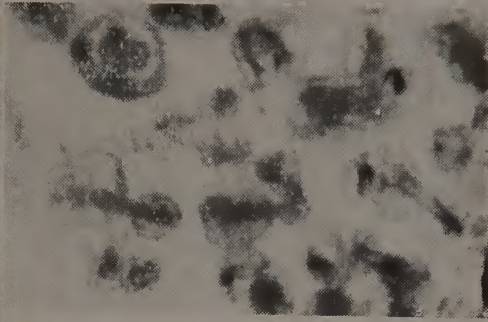


40



41





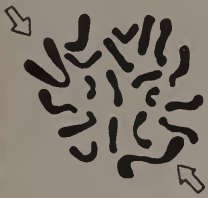
42



43



44



45



46

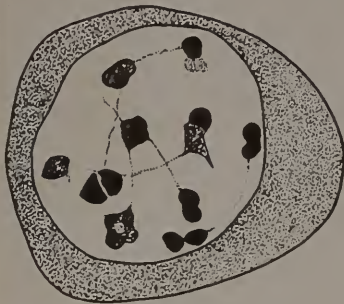


*a*



*b*

47



*a*



*b*

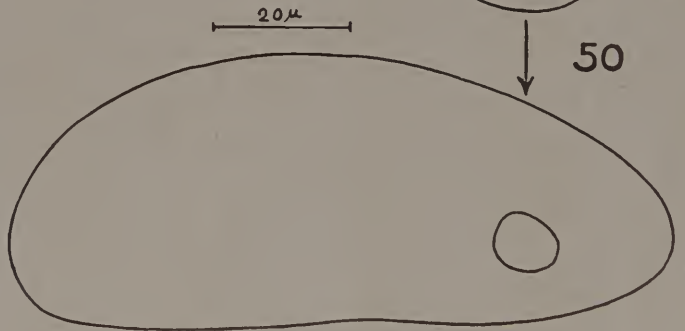
48



50



49



51

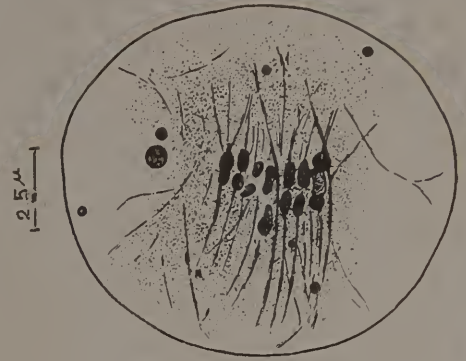




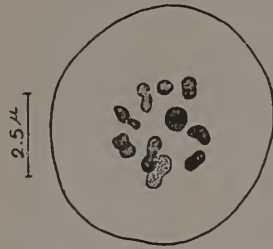
52a



52b



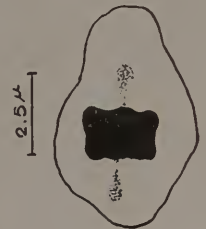
53



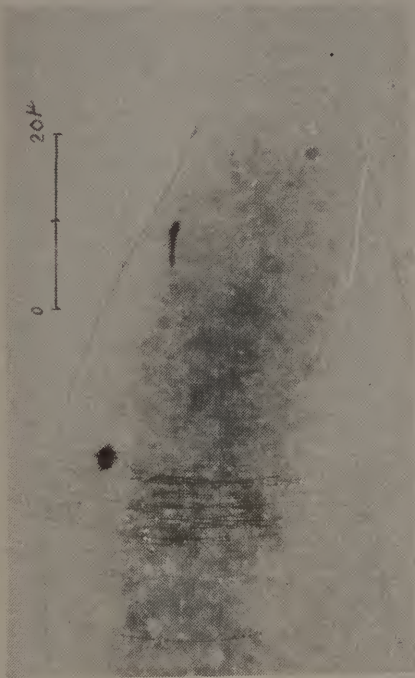
54



55



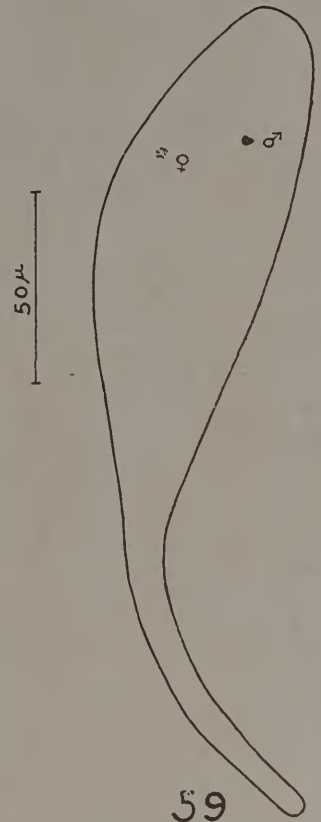
56



57



58



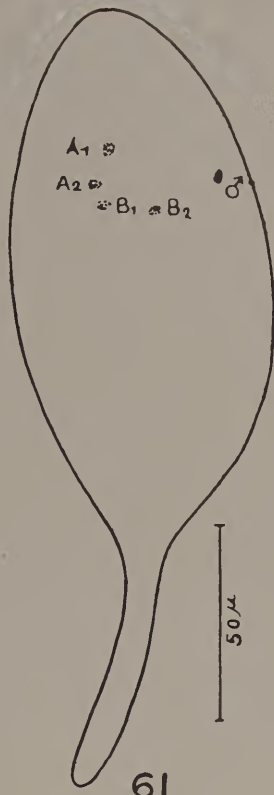
59







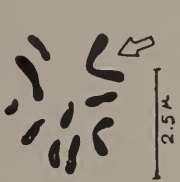
60



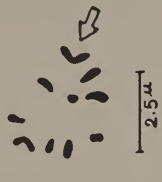
61



62



63



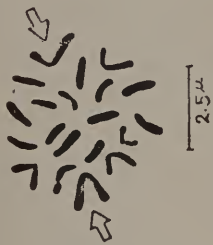
64



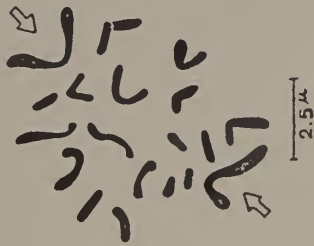
65



66



67



68



69



70

Tipo comum  
(Boveri)

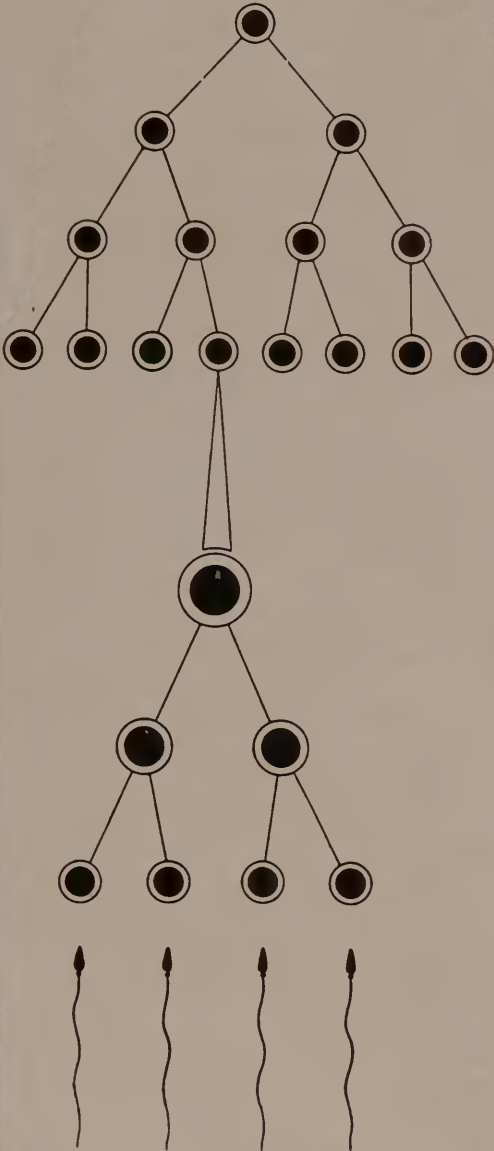


Fig. 71

Tipo abelha  
(Meves)

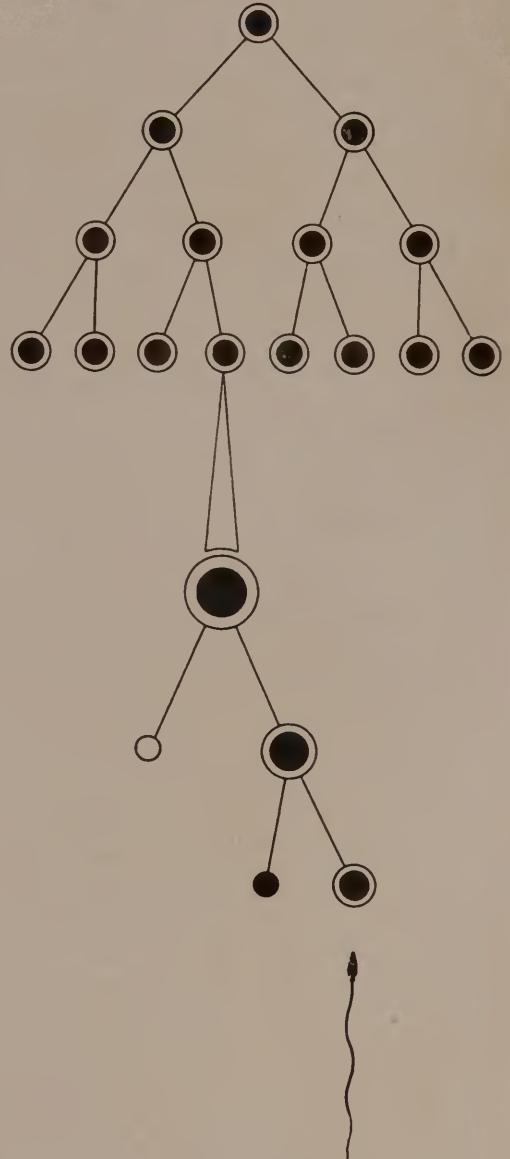


Fig. 72

Tipo vespa  
(Meves)

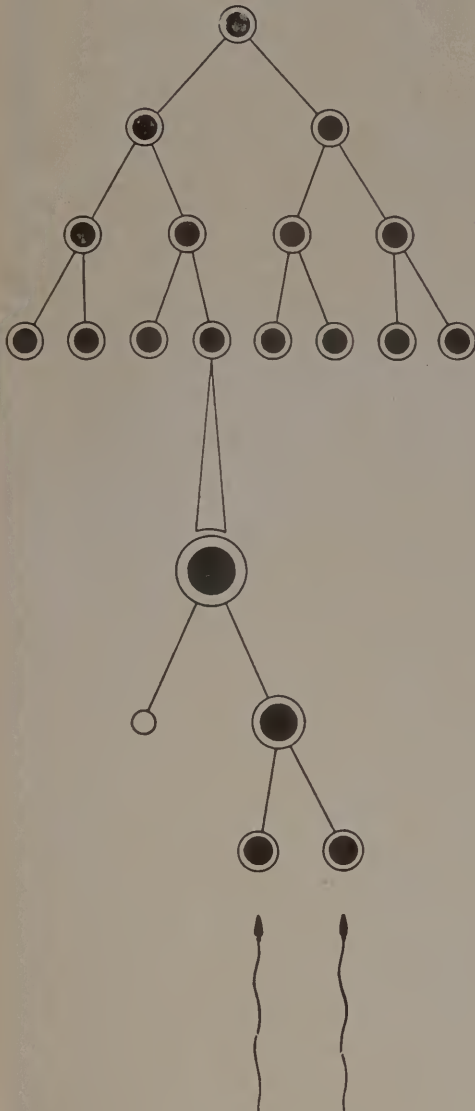


Fig. 73

Tipo telenomus.

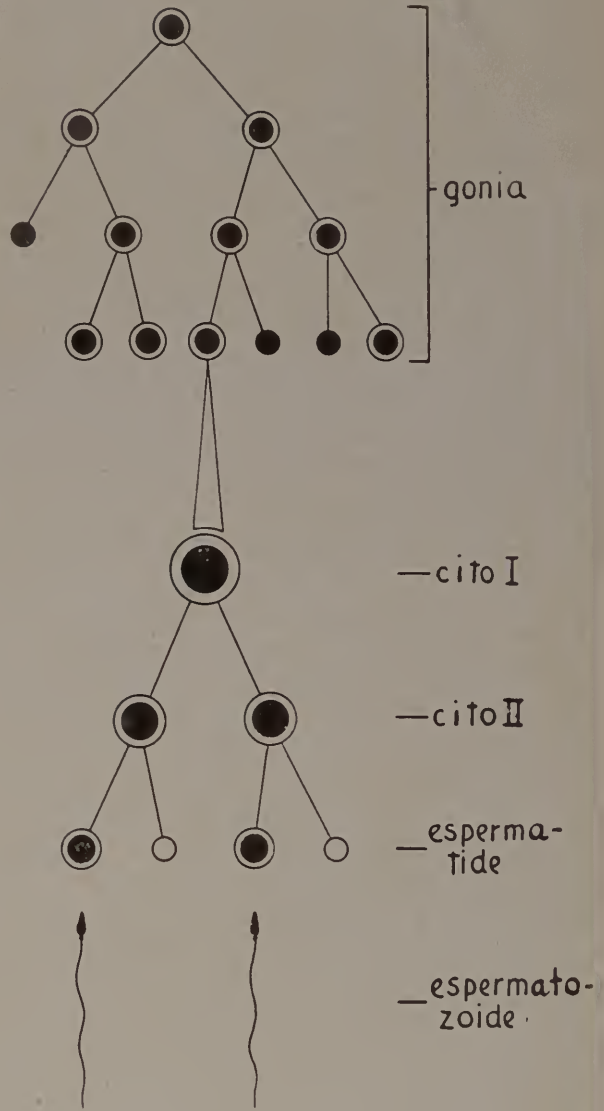


Fig. 74



BOLETINS DE BIOLOGIA GERAL JA' PUBLICADOS

Biologia Geral n.º 1

Dreyfus, A. — "Contribuição para o estudo do ciclo chromosomico e da determinação do sexo de *Rhaddias Fülleborni* Trav. 1926".

Biologia Geral n.º 2

Barrozo do Amaral, E. — Contribuição ao estudo das células de Berger.

Biologia Geral n.º 3

Dreyfus, A. e Souza Campos, J. E. — Estudos sobre cromosomas de Marsupiais Brasileiros.

Barrozo do Amaral, E. — Contribuição para o estudo da origem e natureza da célula de Leydig.

Barros, R. de — A colchicina e os paramécios.

Biologia Geral n.º 4

Dobzhansky, Th. and Pavan, C. — Studies on Brazilian species of *Drosophila*.

Barros, R. de — O parênquima de Triclades do género *Euplanaria*.



