

O SEXO NOS HIMENÓPTEROS *

A. Dreyfus

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras
Universidade de S. Paulo

Não é de hoje o interesse pelos himenópteros. ARISTÓTELES começa o capítulo IX do livro III do tratado de geração dos animais nos seguintes termos: "É bastante difícil representar-mo-nos a geração das abelhas. Se há algumas espécies de peixes que produzem seus filhos sem cópula, parece que é essa também a fórmula pela qual as abelhas se reproduzem"... O resto do capítulo mostra que ARISTÓTELES não conseguiu interpretar o assunto. Viu três categorias de indivíduos, a que chamou reis, abelhas e zangões. Fez várias hipóteses sobre a relação entre esses tipos e concluiu que as abelhas são ao mesmo tempo machos e fêmeas. Os reis dariam, sem cópula, reis e abelhas; essas dariam zangões e esses não dariam nada. Notável observação de ARISTÓTELES foi a seguinte: quando não há mais reis, certas abelhas se tornam férteis e então só dão zangões. Sabemos hoje que são operárias que põem ovos se desenvolvendo por partenogênese.

Este intrincado problema, o sexo nos himenópteros, só foi esclarecido, no entanto, 2000 anos mais tarde. O abade DZIERZON, da Sibéria, estudou bem (1845-48) o assunto. DZIERZON viu que rainhas virgens só dão zangões, isto é, machos. São, pois, seres provenientes de ovos partenogenéticos. Viu ainda que a rainha, velha, também só dá machos, por ter esgotado sua reserva de espermatozóides. Então os seres fecundados dariam rainhas ou operárias, estas últimas sendo fêmeas com seus órgãos genitais atrofiados (sabemos hoje ser isso devido à alimentação da larva, diferente segundo vai a larva feminina dar uma rainha ou uma operária). VON SIEBOLDT (1865) acreditava ter visto espermatozóides nos óvulos destinados a dar operá-

* Introdução à discussão das 8 horas do dia 24-7-43

rias, opinião que nos parece hoje pouco aceitável, dado o prazo decorrido desde a fecundação e o momento do exame. Muito mais dignas de crédito são as observações de PAULCKE (1899), PETRUNKEWITSCH (1901), KULAGIN (1901) e NACHTSHEIM (1913), que viram a presença de espermatozóides nos óvulos destinados a dar operárias e não os viram nos destinados a dar zangões.

A teoria de DZIERZON assim exposta, foi também demonstrada de modo indireto por cruzamentos. Vários pesquisadores (NEWELL, entre outros) viram que, se o macho e a fêmea são de raças diferentes, os machos são sempre do tipo materno, ao passo que as fêmeas são do tipo híbrido. Confirmam também essa teoria de DZIERZON os ginandromorfos estudados por vários pesquisadores (ENGSTER, BOVERI, etc.) e nos quais as vespas masculinas são de tipo materno puro, as femininas de tipo híbrido.

Convém referir que algumas exceções ao que acabamos de expor foram observadas várias vezes e por vários autores, desde o próprio DZIERZON, que viu alguns machos derivados do cruzamento macho italiano x fêmea alemã, apresentarem a cor amarela do pai. LOWE, ARVISET, HAMET, MATTER, J. PEREZ observaram também fatos análogos. Um dos melhores exemplos de tais machos excepcionais foi fornecido por CUÉNOT (1909). A fêmea era uma abelha preta comum, o macho um golden-bee americano. As operárias eram tôdas de tipo híbrido, ao passo que os machos eram do tipo materno, conforme a regra. No entanto 2 machos em 300 apresentaram faixas amarelas, como o pai, e outros 12 tinham, embora menos nítidos, caracteres paternos. Tais fatos costumam ser explicados admitindo-se que essas fêmeas, cujos filhos teriam herdado caracteres paternos, não fossem puras e portanto pudessem transportar os fatores determinantes daqueles caracteres supostos paternos. Conseguia-se assim salvar a teoria de DZIERZON. Veremos adiante que hoje não é mais necessário apelar para uma tal explicação. A teoria de DZIERZON é geralmente verdadeira, no entanto em casos especiais podem aparecer machos de origem biparental.

De acôrdo com o exposto, em himenópteros, a fêmea provém de óvulos fecundados, sendo pois diplóide, ($2n$), os machos sendo de origem partenogenética, serão haplóides (n) e portanto de origem exclusivamente materna. Logo, $2n =$ fêmea, $1n =$ macho. Tal era a teoria clássica sôbre o sexo nos himenópteros. Isto pôsto, vê-se logo que a espermatogênese há de ser muito especial, pois sendo o macho haplóide e também haplóides os espermatozóides (pois o espermatozóide mais o óvulo dão uma fêmea diplóide) não se poderia realizar a habitual redução do número de cromosomas, e portanto a meiose há de ser anormal.

Realmente assim é. Como se verá a seguir, resumidamente, intervém sempre, na espermatogênese dos himenópteros, um mecanismo regulador, graças ao qual o número haplóide de cromosomas dos espermatogônios é preservado, sendo encontrado sem alteração no espermatozóide.

O primeiro autor que estudou o assunto foi MEVES (1904-07) na abelha onde em resumo as cousas se passam da seguinte maneira: A primeira divisão de maturação realizada no espermatócito de 1.^a ordem, é abortiva, resultando apenas em expulsão de um brôto citoplasmático. A célula remanescente é o espermatócito de 2.^a ordem. A segunda divisão é uma mitose comum em relação à cromatina, formando-se portanto dois núcleos que recebem, cada um dêles, a totalidade dos cromosomas existentes na célula de que derivam. Um dos núcleos filhos, porém, fica com quase todo o citoplasma, constituindo um espermatídio, o outro constitue uma espécie de glóbulo polar que degenera, a seguir. Vemos pois que na abelha, de 1 espermatócito de 1.^a ordem deriva 1 único espermatozóide e não 4, como é de regra. A espermatogênese da abelha foi ainda estudada por MARK e COPELAND (1906), DONCASTER (1907) e NACHTSHEIM (1913).

Outros himenópteros apresentam um tipo de espermatogênese perfeitamente comparável ao da abelha. Tais são *Xilocopa violacea* (GRANATA, 1910-13), *Osmia cornuta* (ARMBRUSTER, 1913), etc.

Foi verificado que em outros himenópteros pode ser obser-

vado um outro tipo de espermatogênese, verificado pela primeira vez, também, por MEVES. Podemos chamá-lo tipo vespa, em oposição ao anterior que merece ser designado tipo abelha. A primeira divisão de redução dá-se aqui como no tipo anterior. Resulta portanto na formação de um bróto citoplasmático anucleado que degenera e uma célula regular, o espermatócito de 2.ª ordem. Este divide-se agora, por uma mitose de tipo perfeitamente normal, tanto no núcleo, como no citoplasma, em 2 espermatídios funcionais, que, a seguir, se transformam em outros tantos espermatozóides. Aqui, portanto, de 1 espermatócito de 1.ª ordem, resultam 2 espermatozóides. Obedecem a este tipo: *Vespa germanica* (MEVES, 1904); *Vespa crabro* (MEVES e DUESBURG, 1907); *Camponotus herculeanus* (LANS, 1908); *Paracopidosomopsis floridanus* (PATTERSON e PORTER., 1917); *Habrobacon juglandis* (TORVIK-GREB, 1935).

As idéias dominantes sobre a determinação do sexo nos himenópteros sofreram rude choque com o desenvolvimento de nossos conhecimentos sobre o assunto e especialmente com o trabalho de BRIDGES (1925) sobre *Drosophilas* inter e supersexuadas. Como é bem sabido, foi mostrado por esse autor, que todos os animais nos quais a relação entre o número de autosomas e o número de cromosomas X, é 1, são fêmeas. Assim os animais $2 A + 2 X$ (fêmea comum diplóide), $3 A + 3 X$, $4 A + 4 X$ são fêmeas, e bem assim as regiões $1 A + 1 X$ (haplóides) que podem aparecer em certos casos, como mosaicos haplóides (1925). Por outro lado seres $2 A + 1 X$ são machos (relação 2). Agora, analisando os descendentes de uma fêmea triplóide ($3 A + 3 X$) cruzada com um macho normal ($2 A + 1 X + Y$) obteve, entre outros, os seguintes animais notáveis: intersexuados ($3 A + 2 X$, relação 1,5), supermachos ($3 A + 1 X$, relação 3) e superfêmeas ($2 A + 3 X$, relação 0,66). Ficou claramente evidenciado que o sexo não depende do número absoluto de cromosomas sexuais mas da relação entre autosomas e cromosomas sexuais. Entre as diversas confirmações desse achado de BRIDGES, citemos uma única. O trabalho de DOBZHANSKY e SCHULTZ (1934), mostrando que, em *Drosophilas* intersexuadas, a introdução de

um fragmento suplementar de cromosomas X, torna êsse intersexuado tanto mais feminino, quanto maior êsse fragmento. (Seria uma fêmea normal, quando o fragmento fosse igual ao próprio cromosoma X). Por outro lado, tanto mais masculinizado será o intersexuado, quanto maior a deficiência provocada em um dos dois cromosomas X por êle transportado.

Claro é então que o esquema acima proposto, para dar conta da determinação do sexo em himenópteros, a saber $2N =$ fêmea, $1N =$ macho, não pode ser aceito, pois em ambos os animais a relação entre autosomas e cromosomas sexuais é 1. mais a relação entre autosomas e cromosomas sexuais é 1. Como explicar então o sexo nos himenópteros, sabido, como é de fato sabido, que êsses seres quando diplóides são fêmeas, quando haplóides, machos?

O esclarecimento dêsse problema, a determinação do sexo nos himenópteros, proveio, em grande parte, dos notáveis trabalhos de P. W. WHITING e seus colaboradores, feitos a partir de 1933 e que passamos a resumir brevemente. *Habrobracon juglandis* Ashmed é um Braconídeo, parasita de *Ephestia*. Foi visto que podem aparecer raros machos diplóides. Assim, cruzando-se uma fêmea de olho laranja (orange, mutação recessiva) com macho selvagem, com olhos pretos, em certos casos, isto é, quando se fazia endocruzamento entre irmãs e irmãos, ocorreram alguns machos com olhos pretos. TORVIK-GREB (1935) demonstrou que tais machos eram diplóides (20 cromosomas) e que nêles a meiose se dera como nos machos haplóides comuns, que têm 10 cromosomas. Ficou assim bem claro que o sexo não dependia da haploidia.

Em 1933, P. W. WHITING havia explicado a ocorrência, admitindo que as fêmeas fossem XY e os machos X ou Y. Os raros machos diplóides seriam XX ou YY. Por outras palavras, indivíduos puros, (haplóides ou diplóides) seriam sempre machos, híbridos, sempre fêmeas.

Brilhante confirmação dessa teoria foi dada pelos machos mosaicos ginandromorfos, seres derivados de um óvulo binucleado. As células que derivam do núcleo X, bem como as do outro lado do animal, derivadas do núcleo Y, dão regiões mas-

culinas. Agora, na região onde as células X e Y entram em contacto, por causa da interação das substâncias por elas fabricadas, encontram-se aspectos femininos, especialmente se a linha de demarcação passa pela região genital.

WHITING explica os fatos acima expostos, admitindo que a maturação do óvulo é seletiva. Assim, se a fecundação for exercida por um espermatozóide X, no óvulo XY, um núcleo com o cromosoma X é que será eliminado (aqui a maturação do óvulo se dá depois da entrada do espermatozóide) ao contrário com o espermatozóide Y, o núcleo eliminado será Y.

Ficava no entanto difícil explicar a formação de machos diplóides, no caso de "inbreeding", machos êsses que nas condições normais nunca aparecem. SNELL (1935) e DORDICK (1937) sugeriram uma explicação que a seguir foi abandonada em consequência da crítica de BOSTIAN (1939) e substituída pela seguinte de P. W. WHITING (1939) e BOSTIAN (1939). Trata-se do seguinte: *Habrobracon* possuiria uma série de cromosomas sexuais alelos entre si. Chamemo-los X 1 X 2 X 3 X 4, etc. Todos os seres heterozigotos X 1 X 2, X 1 X 3, X 1 X 4, X 2 X 3, etc., serão fêmeas. Todos os puros, X 1 X 1, X 2 X 2, etc., bem como, evidentemente, os haplóides X 1, X 2, etc., serão machos. Então com 6 alelos, X 1 - X 6, teremos 6 classes de machos haplóides e 15 classes de fêmeas diplóides. Se a fecundação se dá ao acaso, a probabilidade de transportarem o macho e a fêmea um mesmo tipo de cromosoma sexual será pequena e tanto menor quanto maior o número de alelos em jogo. Assim, se se encontrarem um macho X 1 e uma fêmea X 3 X 5, os ovos partenogénéticos X 3 e X 5 darão machos, os fecundados X 1 X 3, X 1 X 5, fêmeas. Agora, se houver endocruzamento entre irmãos, o macho será, por exemplo, X 3 e sua irmã X 1 X 3. Então, metade dos seres diplóides serão X 3 X 3, isto é, machos. Na verdade o número de machos diplóides realmente observados é muito menor do que o previsto, por causa da grande inviabilidade desses seres.

Citemos outro himenóptero, *Pteromalus puparum*, Calchidíneo estudado por DOZORCEVA (1936). Aqui a fêmea tem 10 cromosomas, constituindo 4 pares de tipo comum e 1 par de

cromosomas desiguais, uma alça em forma de V e outra em forma de J. Haveria pois dois tipos de machos haplóides. Em recente trabalho (1940) P. W. WHITING mostrou que os fatos observados em *Pteromalus quadram* com sua explicação em termos de alelos múltiplos para cromosoma sexual.

Temos assim uma concepção, a de WHITING, que está de acôrdo com os fatos gerais relativos à determinação do sexo, e com os fatos especiais observados nos himenópteros, inclusive os referidos acima, quanto a machos excepcionais observados na abelha, que apresentam também caracteres paternos e que possivelmente são machos diplóides.

Referiremos, para terminar, aquilo que nos foi dado observar noutro himenóptero, *Telenomus fariai* Lima, Cellionideo parasita endófago de ovos de Hemípteros do gênero *Triatoma*.

Devemos a COSTA LIMA (1927) a descrição dessa vespa, devemos-lhe ainda interessantes dados sôbre sua biologia (1928). Um dos fatos mais curiosos observados por COSTA LIMA foi que há, aparentemente, duas categorias de machos nesta espécie. Assim, se a vespinha foi fecundada, seus ovos dão nascimento a machos e fêmeas, sendo menores do que os provenientes de fêmeas virgens, quando o ovo de barbeiro dá nascimento somente a machos. Admitiu então COSTA LIMA que houvesse, em *Telenomus*, duas classes de machos, os primeiros diplóides, pequenos, nascidos de fêmea fecundada de tipo $2A + X$, os segundos partenogenéticos, maiores, haplóides, de tipo $A + X$. (As fêmeas seriam $2A + 2X$).

S. DE TOLEDO PIZA Jor. (1929) criticou esta interpretação de COSTA LIMA, mostrando algumas dificuldades da teoria.

Resolvemos então analisar objetivamente êste problema, que nos conduziu a um trabalho extenso sôbre o ciclo cromosômico e biológico de *Telenomus* e especialmente a espermatogênese e determinação do sexo, neste animal.

Duvidamos desde logo da suposta "diploidia" dos machos menores, pois seria duplamente estranho que os machos haplóides, que são excepcionais (pois geralmente as fêmeas são fe-

cundadas) fossem mais robustos do que os machos comuns. Duplamente estranho, pois, os excepcionais seriam mais robustos do que os regulares e porque não se conhece ser haplóide mais robusto do que o correspondente diplóide.

Abordamos o problema por vários lados: a) Demonstramos que as duas classes de machos não são na verdade distintas, pois além de terem todos os machos a mesma morfologia, diferindo somente no tamanho, esta diferença no tamanho é apenas uma diferença estatística. Com efeito, numerosas medidas mostraram que, em média, os machos que têm irmãs, são menores do que os que não as têm. O importante, porém, é que os maiores machos da classe dos pequenos, são maiores do que os menores da classe dos grandes; b) foi visto que as duas supostas categorias funcionam da mesma maneira: qualquer fêmea fecundada por qualquer macho, dá uma mesma prole: uma grande maioria de filhas e um ou poucos filhos; c) esta última afirmação nos conduz a outra objeção à teoria de COSTA LIMA, a saber, que a fêmea controla o sexo de seus filhos. Geralmente de todos os ovos postos por uma fêmea em um único ovo de barbeiro, nascem uma grande maioria de fêmeas e apenas um ou poucos machos. Se, como quer COSTA LIMA, o sexo depende de um cromossoma sexual especial (fecundação por espermatozóide X = fêmea, por espermatozóide O = macho), o sexo não pode ser controlado pela fêmea, pois depende do tipo de espermatozóide que fecundou, isto é, do acaso. Ao contrário, se os machos são sempre derivados de óvulos partenogênicos e as fêmeas de óvulos fecundados, é fácil compreender que segundo a posição tomada pela vespa durante a postura (ou por outro qualquer mecanismo equivalente) teremos a possibilidade ou impossibilidade de passarem espermatozoides da espermateca para o oviduto e portanto, a fecundação ou não do ovo por ela posto; d) finalmente foi-nos dado fornecer a prova decisiva da igualdade das duas supostas classes de machos, contando-lhes os cromosomas, que são sempre em número de 10.

Fica assim bem claro que, em *Telenomus*, todos os machos são haplóides e têm 10 cromosomas. Poderemos ser acusados

de arrojados dizendo **todos**, pois, não serão também possíveis alguns machos diplóides excepcionais? Adeante se verá que parece justificada a resposta **não**. Machos diplóides não existem, nem podem existir em *Telenomus*. Antes, porém, de esclarecer este ponto, expliquemos o porque dessa dualidade de tamanho dos machos. Nada mais fácil. Estudando o desenvolvimento da larva do *Telenomus*, vimos que a larva feminina se desenvolve mais depressa do que a masculina. Assim sendo, quando o macho tem que se desenvolver na presença de suas irmãs, encontra as reservas do ovo do barbeiro já fortemente utilizadas e por isso não pode crescer muito. Ao contrário, se o ovo de barbeiro foi parasitado por uma fêmea virgem, então tôdas as larvas são masculinas, e embora se desenvolvendo mais lentamente, não têm que se defrontar com a concorrência de fêmeas e por isso podem crescer mais.

Interessante problema foi o da obtenção de fêmeas virgens. No comêço foi isso impossível. Esperavamos o nascimento espontâneo das vespinhas. Utilizando tais fêmeas, isoladas ao nascerem, vimos com grande surpresa que já estavam fecundadas, pois de seus ovos nasceram machos e também fêmeas muito mais numerosas! Foi então necessário recorrer ao seguinte método: Quando as vespas estão a ponto de nascer, abre-se o ovo parasitado e isolam-se os pequenos animais. Então, sim, obtêm-se fêmeas virgens. Conclusão: o macho (ou machos) presente no ovo, fecunda suas irmãs, antes de sua saída do ovo do barbeiro! Compreende-se assim que o número de machos seja sempre muito menor do que o de fêmeas; o macho, a bem dizer, não servindo para mais nada, depois de sua saída do ovo do barbeiro. Esta afirmação não exclue a ocorrência, muito rara, é verdade, de fêmeas virgens, depois de saírem do ovo do barbeiro. **Há, assim, em *Telenomus*, como regra, um cruzamento praticamente obrigatório entre irmãos.** Guardemos bem este fato e passemos à espermatogênese. Como se trata aqui de um estudo muito superficial, diremos apenas que dois fatos principais chamam nossa atenção durante esse processo: a) os espermatogônios, apresentam antes de darem espermátócitos, uma divisão muito particular. O citoplasma se distribue desi-

gualmente dando uma célula grande, o espermatócito de 1.ª ordem e uma célula pequena que a seguir degenera. Examinando-se os cromosomas dos espermatogônios, comparativamente com os dos espermatócitos, verifica-se uma importante diferença entre êles. No espermatogônio, há 10 cromosomas, dos quais um, o maior, é uma alça com dois braços iguais. No espermatócito I há também 10 cromosomas, porém o maior dêles é uma alça com braços desiguais. Dêsse fato podemos concluir que na última divisão dos gônios, a alça maior, a que chamaremos cromosoma X, se divide desigualmente dando uma alça igual à ela ou seja X e outra, X menos uma parcela a que chamaremos Y ($X - a = Y$). A célula que recebeu X degenera, a outra é o espermatócito de 1.ª ordem; b) a primeira divisão de redução, ao contrário do que se observa em todos os himenópteros até hoje estudados, é uma mitose normal. Embora possam ser observadas, algumas figuras que simulam a prófase da meiose, tal não se dá e cada célula filha recebe os mesmos 10 cromosomas da célula mãe. E' na segunda divisão que se observa a eliminação do brôto citoplasmático, geralmente eliminado na primeira. Temos assim em *Telenomus*, um terceiro tipo de espermatogênese de himenópteros muito próximo ao tipo vespa, porém com a mitose abortiva deslocada para a segunda divisão maturativa, processo êsse que, como no tipo vespa, conduz à formação de 2 espermatozóides funcionais. Certas particularidades citológicas observáveis nesta mitose abortiva podem ser omitidas aqui. Diremos apenas que ao mesmo tempo que se dá a expulsão do brôto citoplasmático, surge dentro do núcleo um fuso regular com um único centríolo, os cromosomas aparecem e se colocam no equador do fuso quase tão regularmente como numa divisão comum. Não há porém desaparecimento da membrana nuclear e o núcleo volta ao repouso seguindo-se logo depois da expulsão do brôto citoplasmático, a espermiogênese.

Estudando agora os cromosomas somáticos verifica-se que no macho as células que apresentam 10 cromosomas, mostram, como os espermatogônios o maior dêles sob a forma de uma alça com braços iguais (X). Podemos encontrar células com

mais de 10 cromosomas, pois, como é sabido de há muito, a polissomia e mesmo poliploidia é comum nas células somáticas dos himenópteros, tanto machos como fêmeas. Quanto às células somáticas da fêmea, têm elas 20 cromosomas, dos quais os dois maiores são alças que constituem um par desigual, pois uma delas tem os dois braços iguais (X) e a outra os tem desiguais (Y). Os demais 18 cromosomas formam 9 pares de aspecto regular.

Diante desses fatos como interpretaremos a determinação do sexo em *Telenomus*?

Ficou bem claro que o macho é sempre haplóide e X, ao passo que a fêmea é sempre diplóide e XY. Como todos os machos são X, deduziremos que todos os óvulos são X, logo em *Telenomus* deve haver maturação seletiva na ovogênese, de tal maneira que o núcleo com cromosoma Y é sempre eliminado.

Como todas as fêmeas são XY, fica também claro que todo espermatozóide há de ser Y, pois fecundando um óvulo X dá a fêmea XY.

Como será possível que um macho somaticamente X, possa formar espermatozóide Y? Já mostramos o mecanismo todo especial que regula isso. O gônio X divide-se desigualmente em uma célula X, que degenera e outra X — a = Y que é o cito I. Será fácil compreendermos agora, o sentido de tal mecanismo regulador do sexo. Havendo "inbreeding" em *Telenomus*, formar-se-ia, em consequência, para cada fêmea, um macho diplóide, de muito baixa viabilidade. Seria pouco provável que uma espécie, dotada de um tal "handicap" na luta pela vida, pudesse sobreviver. Então, aqueles indivíduos que desenvolveram um mecanismo capaz de prevenir essa fabricação de machos diplóides, foram provavelmente, os únicos que puderam sobreviver.

Concluiremos, portanto, atribuindo à seleção a responsabilidade da fixação de um mecanismo especial, e parece-nos, até agora único, graças ao qual, fica evitada a consequência altamente inconveniente que o "inbreeding" traria para *Telenomus*, a saber, a formação, para cada fêmea que se constituísse, de um macho diplóide, pouco viável ou inviável.