

UMA NOVA MODALIDADE DE SEXO-DETERMINAÇÃO NO GRILO SUL-AMERICANO E NEOPTERA SURINAMENSIS

S. de Toledo Piza Jor.

Prof. de Zoologia, Anatomia e Fisiologia
Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"
Universidade de São Paulo

ÍNDICE

Introdução	70	Cromossômios somáticos da	
Material e métodos	70	fêmea	81
Espermatogônios	70	Resultado das observações ..	81
Espermatócitos primários ..	73	Discussão	81
Segunda divisão	76	Summary and conclusions ..	85
Espermatídios	79	Literatura citada	87

INTRODUÇÃO

Os Ortópteros (*) constituem, sem dúvida, um dos grupos de Insetos mais bem estudados sob o ponto de vista do mecanismo sexo-determinante. A facilidade de se obter material abundante e variado e o tamanho geralmente considerável dos cromossômios fizeram deles um dos objetos mais apropriados para pesquisas e demonstrações. A espermatogênese tem sido estudada num grande número de espécies filiadas a diferentes famílias, achando-se a literatura repleta de trabalhos, notas e comunicações sobre o assunto. Resultou daí a notável constatação da uniformidade com que o mesmo tipo de sexo-determinação se repete dentro do grupo. Podemos assim dizer, que salvo reduzidas exceções, os machos dos Ortópteros são XO e as fêmeas XX. Fogem à regra apenas os Mantídeos estudados por OGUMA (1921), KING (1931), ASANA (1934) e WHITE (1941), os Acridídeos estudados por McCLUNG (1917) e por KING & BEAMS (1938), os Grilóidea estudados por MAKINO (1932) e por McKLUNG & ASANA (1933) e os Grilotalpídeos estudados por diversos autores (PAYNE 1916, DE WINIWAR-TER 1927, STEOPE 1939), cujos machos são do tipo sexual X1X2 Y ou XY. Um resumo da questão até 1928 encontra-se em SCHRADER.

Conforme veremos ao discutir o assunto, o tipo de sexo-determinação que passarei a descrever é inteiramente novo para os Ortópteros, sobretudo no que se refere ao comportamento dos cromossômios sexuais, não encontrando paralelo mesmo fora da Ordem.

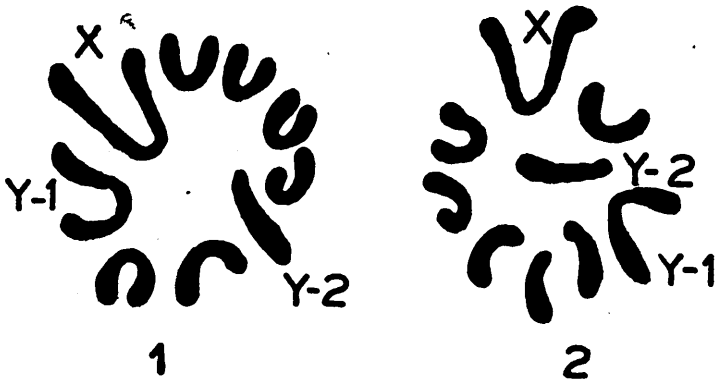
MATERIAL E MÉTODOS

A espécie estudada no presente trabalho, *Eneoptera surinamensis* De Geer, pertence à família Eneopteridae, da superfamília Grylloidea. Machos e fêmeas foram dissecados sob Ringer, os testículos fixados em Allen-Bouin (modificação de Baur) e Flemming forte e os ovários apenas no primeiro desses fixadores. Os cortes foram feitos com 10 e 12 micra e coloridos pela hematoxilina de Heidenhain.

ESPERMATOGÔNIOS

Os espermatogônios são providos de 9 cromossômios, sendo 6 recurvados em forma de U, mais ou menos do mesmo ta-

(*) Considero, por mera comodidade, os Mantídeos incluídos nessa Ordem.



Figs. 1 e 2 — Metáfases dos espermatogônios em vista polar.
(X 3500)

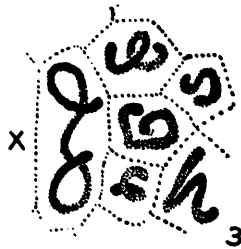
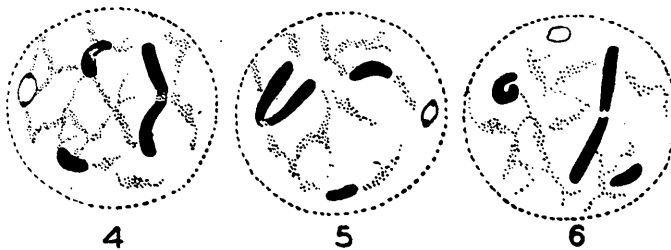


Fig. 3 — Espermatogônio em prófase, vendo-se o cromossômio X e alguns autossômios no interior de vesículas. (X 2800).



Figs. 4, 5 e 6 — Espermatócitos primários antes do período de crescimento, mostrando os três cromossômios sexuais e o plasmossômio. (X 3500).

manho, um em forma de maçã, que se pode apresentar direito ou recurvado, aproximadamente igual aos precedentes, e dois grandes elementos em forma de V, um dos quais é maior do que o outro. (Figs. 1 e 2). Com exceção do cromossômio que tem forma de maçã e que é telocêntrico (Y2), todos os outros são mediocêntricos. Na metáfase os cromossômios se dispõem em círculo na placa equatorial, com os vértices geralmente voltados para o centro, porém, aparentemente, sem nenhuma ordem. Dadas a forma e as dimensões dos 6 elementos menores, torna-se impossível identificar os membros de cada par, mesmo quando eles se arranjam como na Fig. 1. A posição do cromossômio em maçã pode ser qualquer, o mesmo se verificando com os dois elementos em V, que tanto se podem encontrar juntos (Fig. 1), como separados (Fig. 2). No final da metáfase os cromossômios se apresentam inteiramente divididos no sentido longitudinal, sendo frequentes as vistas polares em que se podem notar duas placas simétricas sobrepostas. Em algumas células de cromossômios mais contraídos do que habitualmente, os dois Vs se apresentam quase do mesmo tamanho.

Do meio para o final da prófase os cromossômios se encontram no interior de vesículas de seção poligonal e de contornos bem nítidos, parecendo que cada uma é uma pequena célula provida de um único cromossômio. (Fig. 3). Ai eles se apresentam recurvados, torcidos, dobrados e longitudinalmente divididos na maior parte da sua extensão. Nesse período do ciclo espermatogonial o cromossômio correspondente ao V maior da metáfase sobrepuja enormemente a todos os outros. (X, Fig. 3). As vesículas cromossomais vão perdendo a sua nitidez à medida que a metáfase se aproxima, para então se tornarem indistintas.

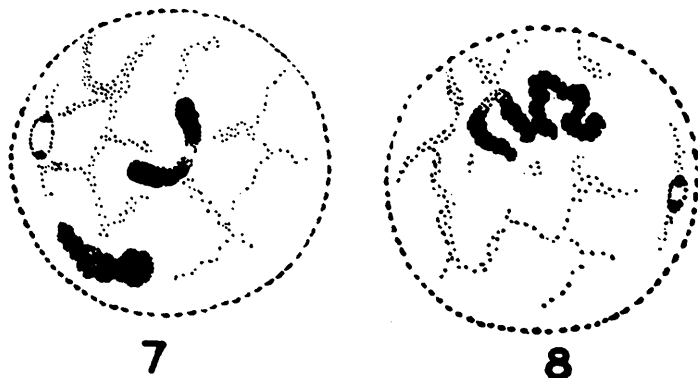
Os três cromossômios sem parceiros, isto é, os dois elementos em forma de V e o elemento em forma de maçã, podem desde já ser considerados como cromossômios sexuais, pois que teremos disso a confirmação ao estudar o seu comportamento na melose.

Da última telófase espermatogonial para a intercinese os 6 autossômios perdem a sua individualidade, permanecendo, porém, em estado de heteropicnose, os três cromossômios do sexo. (Figs. 4, 5 e 6). Dêstes, o que corresponde ao V maior tem dimensões consideráveis e exhibe uma ampla constrição primária submediana, podendo apresentar-se dobrado dos modos os mais diversos ou distendido. Dos outros dois, que são bem menores, o que corresponde ao outro V apresenta-se geralmente recurvado ou dobrado, ao passo que o terceiro — o correspon-

dente ao sexo-cromossômio em forma de maça — mostra-se como um espesso e curto bastonete. Um plasmossômio do tipo anfinucleolar acha-se também presente.

ESPERMATÓCITOS PRIMÁRIOS

O comportamento dos autossômios durante o período de crescimento do espermatócito é confuso. Nenhuma das fases que precedem ao estado diplotene pode ser analisada com precisão, em virtude da pequena basicidade dos autossômios. Os sexo-cromossômios conservam-se em estado de heteropiconose, sofrendo diferentes modificações. Um dos cromossômios se-



Figs. 7 e 8 — Espermatócitos primários antes da fase diplotene com apenas dois dos sexo-cromossômios em estado de heteropiconose. Em 7 eles estão separados e em 8 unidos pela extremidade. (X 3300).

xuais desaparece e os dois restantes muitas vezes se confundem numa espessa e complicada trama. Porém, mesmo quando presentes em estado individualizado, o que constitui o caso geral, torna-se muito difícil identificá-los com segurança. Um deles se apresenta como um corpo alongado de forma irregular, ora mais denso, ora menos, quase sempre nas proximidades da membrana nuclear. (Figs. 7 e 9). Também pode apresentar-se com uma forma mais ou menos cilíndrica e alongada e reurvado de diferentes maneiras. (Figs. 8, 10, 11 e 12). O outro conserva a forma de U mais ou menos aberto, cujos ramos são ligados por um segmento eucromático de extensão variável

umas vezes inteiramente invisível, outras vezes assinalado por alguns grânulos heterocromáticos. (Figs. 7 a 12). Êsses dois cromossômios sexuais tanto podem apresentar-se separados (Figs. 7, 9 e 10), como muito aproximados e nesse caso ligados por conectivos heterocromáticos. (Figs. 8, 11 e 12). A ligação pode dar-se pelas extremidades (Fig. 8) ou por diferentes regiões do corpo de ambos. (Figs. 11 e 12).

O anfinucléolo é mais ou menos alongado e em geral se apresenta com os pólos opostos fortemente cromatinizados. Algumas vezes se mostra inteiramente colorido.

Diplotene e diacinese — Nestas fases as cousas tornam-se bem mais claras. Aparecem no núcleo três diplonemas de tipo ortodoxo e três monovalentes que correspondem aos três cromossômios sexuais. (Fig. 13). Embora êstes três últimos elementos possam com facilidade ser reconhecidos, é somente com dificuldade que se consegue identificá-los, pois que os três podem se apresentar dobrados ou distendidos, variando a sua espessura. Os dois sexo-cromossômios que se mantiveram sempre visíveis nas fases precedentes, podem mostrar-se, também aqui, unidos. (Fig. 14). No final da fase diplotene, entretanto, (Fig. 15), e na diacinese, isso se consegue com certa facilidade.

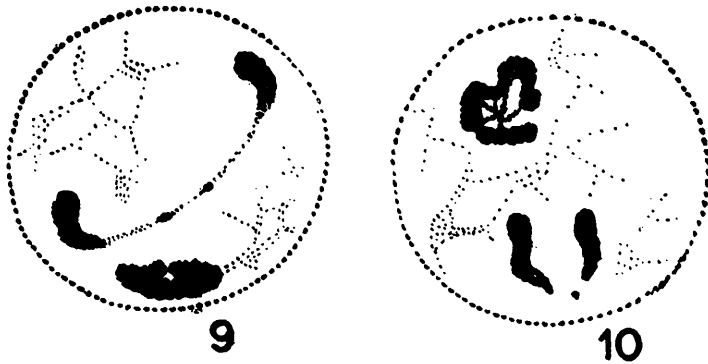
No estado de máxima contração os sexo-cromossômios distinguem-se entre si pela configuração e pelo tamanho. Nessas condições um dêles tem a forma de bastonete e os dois outros a forma de V. Nas melhores células um dos Vs mostra-se nitidamente maior que o outro. Em muitas, porém, não se consegue distinguir um V do outro, principalmente em virtude das múltiplas posições em que êles se podem apresentar aos olhos do observador, o que impossibilita a comparação.

Metáfase — Nesta fase as tétrades se orientam como de ordinário na placa equatorial, ficando os sexo-cromossômios desorientados, em qualquer posição. Na maior parte das boas figuras representando vistas laterais, o V maior é encontrado de um lado da placa autossomal e o menor, acompanhado do bastonete, do lado oposto. (Figs. 16 e 18). Em algumas, entretanto, constatou-se a presença tanto do bastonete (Fig. 17), como de qualquer dos Vs, no plano do equador, havendo casos em que os três sexo-cromossômios podem achar-se ao mesmo tempo nesse plano. Raramente os dois Vs foram encontrados do mesmo lado; em oposição ao bastonete. (Fig. 19).

O cinetocore do V maior pode se apresentar como uma pe-

quena protuberância eucromática que se destaca da constrição. (Figs. 31 e 32).

Anáfase — Nas figuras anafásicas sempre se nota o V maior perto de um dos pólos e o V menor juntamente com o bastonete perto do outro pólo, porém, bem separados um do outro. (Figs. 20 e 21). Desde muito cedo, autossômios e sexo-cromossômios se dividem, ficando unidos apenas pelo ponto de inserção. E como os dois cromatídios resultantes da divisão longitudinal dos Vs podem em alguns casos ficar em perfeita sobreposição e, de outro lado, os cromatídios provenientes da di-

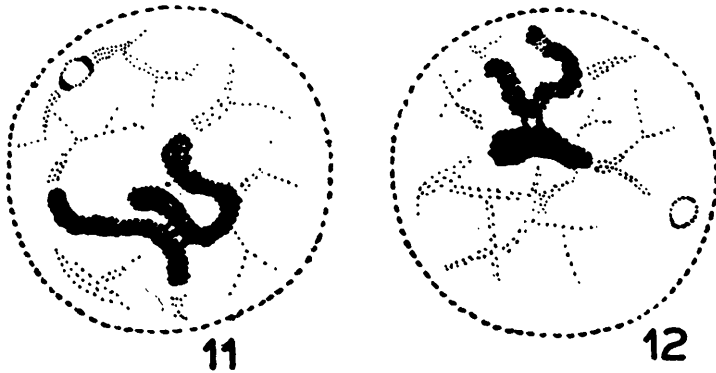


Figs. 9 e 10 — Espermatócitos primários antes da fase diplotene. Em 9 um dos sexo-cromossômios apresenta os seus braços ligados por um longo segmento eucromático em que se notam alguns grânulos heterocromáticos. Em 10 um dos cromossômios sexuais se acha encurvado e diversos de seus pontos ligados por conectivos heterocromáticos e o outro apresenta os seus braços ligados por um segmento invisível, apenas assinalado por um grânulo heterocromático. (X 3300).

visão do bastonete podem se apresentar em ângulo mais ou menos aberto, ser-se-la levado a pensar que os dois Vs tivessem passado para o mesmo pólo e isso principalmente nas figuras incompletas. Porém, em tôdas as figuras consideradas boas para estudo, o V maior se encontra na frente de uma das placas anafásicas e o bastonete com o V menor na frente da outra. Não fica, entretanto, excluída, como a Fig. 19 sugere, a possibilidade da passagem dos dois Vs para o mesmo pólo e bem assim da passagem do bastonete para o pólo em que se encontra o V maior.

Telófase — Nas vistas polares da telófase verifica-se que todos os cromossômios têm quatro braços reunidos pelo cinetocore e que se podem apresentar em diferentes posições. Apenas o bastonete se mostra com a forma de V. (Fig. 22).

Autossômios e sexo-cromossômios se vão distendendo e descolorindo e a membrana nuclear se reconstitui sem que o núcleo chegue a entrar na fase de repouso. Os cromossômios, que não tinham perdido a sua forma, entram de novo a se contrair, encaminhando-se para a metáfase da segunda divisão.



Figs. 11 e 12 — Espermatócitos primários antes da fase diplote-
ne, vendo-se os sexo-cromossômios ligados por diversos
conectivos. (X 3300).

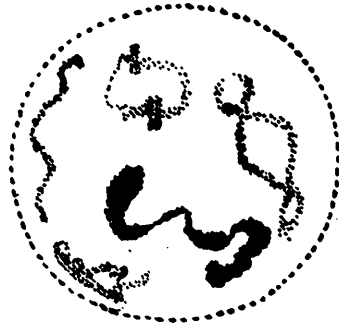
SEGUNDA DIVISÃO

Metáfase — Nas metáfases secundárias se encontram com facilidade espermatócitos de 4 e de 5 cromossômios. Nos de 4 pode-se reconhecer o V maior (Fig. 23) e nos de 5 o bastonete (Fig. 24). Todos os elementos se apresentam unidos apenas pelo cinetocore. O aspecto individual dos cromossômios, porém, depende da posição relativa dos seus braços. As vistas laterais mostram que os cromossômios têm a forma de X, com o cinetocore no plano equatorial.

Anáfase — Nos espermatócitos secundários de 4 cromossômios verifica-se que todos os componentes das placas anafásicas têm a forma de V, sendo um deles bem maior que os demais. Nos de 5 cromossômios reconhece-se em cada placa

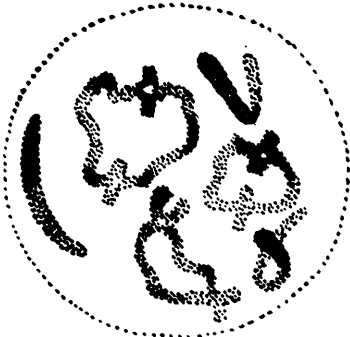


13



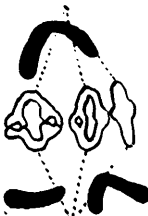
14

Figs. 13 e 14 — Espermatócitos primários em diplotene exibindo 3 tétrades e 3 cromossômios sexuais. Em 13 os sexo-cromossômios estão separados e em 14 dois deles se acham unidos pela extremidade. (X 3300).

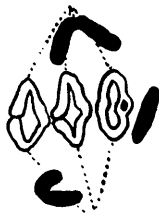


15

Fig. 15 — Espermatócito primário no final da fase diplotene, com 3 tétrades e 3 cromossômios sexuais. (X 3100).



16



17



18

Figs. 16, 17 e 18 — Vistas laterais da metáfase dos espermatócitos primários. Os sexo-cromossômios em negro. (X2250).

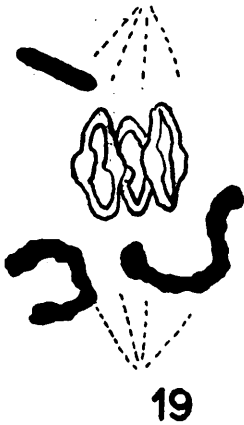
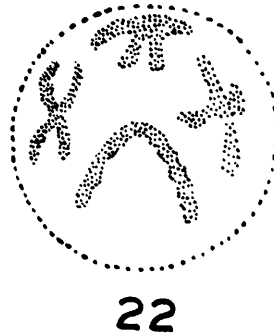


Fig. 19 — Vista lateral de um espermatócito primário em metáfase, mostrando os dois sexo-cromossomos em forma de V do mesmo lado. (X 3250).



Figs. 20 e 21 — Espermatócitos primários em anáfase. (X 3100).

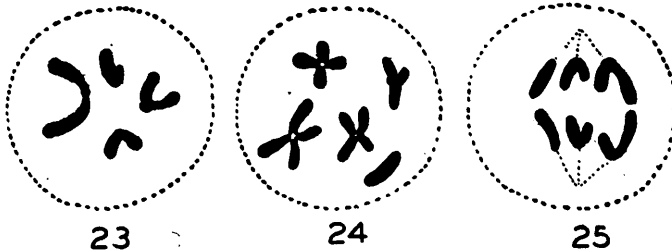
Fig. 22 — Espermatócito secundário em interfase. O elemento em forma de U corresponde ao sexo-cromossômio em forma de bastonete. (X 3800).



um bastonete e um V maior que os outros três. (Fig. 25). Os cromossômios sexuais podem pois ser reconhecidos também nesta fase da divisão.

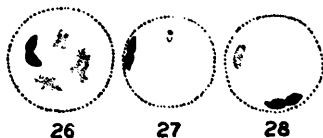
ESPERMATÍDIOS

Após a reconstituição da membrana nuclear os autossômios vão desaparecendo até se sumirem de uma vez. (Fig. 26). Um dos sexo-cromossômios também desaparece dos espermatídios de 5 cromossômios. O resultado é que todos os espermatídios exibem, no interior de um núcleo óticamente vazio em que só se distingue um pequeno plasmosômio, um cromossômio sexual. (Fig. 27). Este é constituído por duas metades pri-

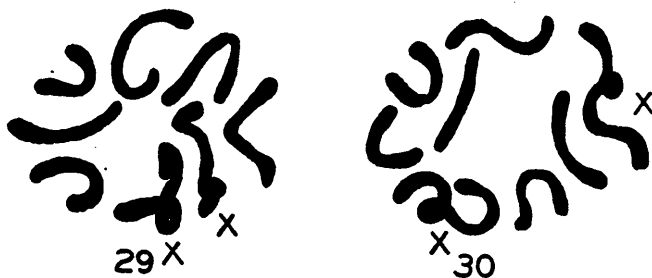


Figs. 23, 24 e 25 — Espermatócitos secundários. 23 — Vista polar do espermatócito de 4 cromossômios, sendo que tanto o sexo-cromossômio como os autossômios apresentam os braços mais ou menos sobrepostos. 24 — Espermatócito de 5 cromossômios, todos, com exceção do sexo-cromossômio em bastonete, com os braços bem separados. 25 — Vista lateral da anáfase do espermatócito de 5 cromossômios, vendo-se à esquerda os bastonetes e à direita os Vs menores. (1200).

formes opostas pela base e se localiza logo abaixo da membrana nuclear, permanecendo visível por muito tempo. Embora com a mesma forma em todos os espermatídios, em uns é corresponde ao V maior e em outros ao menor. Poucas vezes, em espermatídios mais jovens, foi possível constatar a presença do elemento correspondente ao sexo-cromossômio em forma de bastonete, o que indica que esse elemento entra muito rapidamente em dissolução. (Fig. 28). Muito raramente o cromossômio sexual pode fragmentar-se pela constrição mediana, o que acarreta confusões. A presença de um sexo-cromossômio da mesma forma em todos os espermatídios mais evoluídos, não permite o reconhecimento das duas classes.



Figs. 26, 27 e 28 — Espermatídios. 26 — Espermatídio jovem, com os autossômios ainda visíveis. (X 1550). 27 — Espermatídio em que apenas se vê um cromossômio sexual. (X 1650). 28 — Espermatídio com um dos cromossômios sexuais em via de desaparecimento. (X 1350).



Figs. 29 e 30 — Cromossômios do folículo ovárico. (X 4200).



Figs. 31 e 32 — O sexo-cromossômio maior mostrando o cinetocore em forma de uma pálda protuberância. (Muito aumentado).

CROMOSSÔMIOS SOMÁTICOS DA FÊMEA

No folículo ovárico foram encontradas diversas células em metáfase em que os cromossômios puderam ser estudados. A contagem não é fácil, pois muitas vezes eles se apresentam aproximados e em parte sobrepostos. Além disso, a constrição primária, ampla e pronunciada, pode levar-nos ao erro de se contarem como cromossômios distintos os dois braços de um mesmo cromossômio. Poucas foram porisso as células que permitiram uma análise segura. Nestas foram sempre contados 8 cromossômios, dois dos quais são bem maiores que os outros 6 e se apresentam, as mais das vezes, dobrados ou contorcidos das mais variadas maneiras. (Figs. 29 e 30). Esses elementos são considerados como sendo os cromossômios sexuais. A fêmea assim se apresenta, como de regra, provida de um par de sexo-cromossômios.

RESULTADO DAS OBSERVAÇÕES

Os fatos acima descritos levam-me a considerar o macho de *Eneoptera surinamensis* como sendo $XY_1 Y_2$ e a fêmea XX , sendo X o elemento que foi considerado como o V maior, Y_1 o V menor e Y_2 o bastonete.

DISCUSSÃO

Os machos dos Ortópteros são em geral do tipo sexual XO . McCLUNG (1917) descobriu, porém, alguns Acridídeos dos gêneros *Hesperotettix* e *Mermira*, cujo mecanismo sexo-determinante passou de XO a XY em virtude de uma fusão do primitivo X com um autossômio. A heteropiconose somente num dos ramos do cromossômio X , que tem a forma de V , é apontada como prova de que isso de fato se deu. Nesse caso o autossômio homólogo daquele que se soldou ao X ficou sendo o cromossômio Y . (Cf. WHITE 1940). *Gryllotalpa vulgaris* (Gryllotalpidae) e *Oecanthus longicauda* (Oecanthidae), estudados respectivamente por DE WINIWARTER (1927) e por MAKINO (1932), que também pertencem ao tipo sexual XY , diferem dos Acridídeos acima referidos, por possuírem o cromossômio X simples, isto é, não soldado a qualquer outro elemento, e um Y diminuto, de forma granular.

Já pelo número dos cromossômios sexuais presentes, já pela sua estrutura e pelo seu comportamento na meiose, nenhum

dos casos que acabei de citar se pode comparar ao de *Eneoptera*, razão pela qual deixarei de discuti-los aqui.

Um outro tipo de sexo-determinação dos Ortópteros que foge à regra e que é mais complicado que os precedentes é o chamado $X_1 X_2 Y$, encontrado em *Gryllotalpa borealis* (PAYNE 1916), no Acridídeo *Paratylotropidia brunneri* (KING & BEAMS 1938) e em diversas espécies de Mantídeos. Em todos esses casos há uma tríade de cromossômios sexuais em jogo. *Eneoptera surinamensis*, porém, difere dos outros Ortópteros providos de três sexo-cromossômios, na maneira desses elementos se comportarem na meiose. Assim, *Gryllotalpa borealis* é único no fato de um dos cromossômios sexuais não entrar em contacto com os dois outros, que se apresentam unidos na metáfase da primeira divisão. Dos três elementos sexuais, portanto, apenas dois se paream. Em *Paratylotropidia* e em todos os Mantídeos providos de três sexo-cromossômios ($X_1 X_2 Y$) esses três elementos formam um grupo trivalente na metáfase dos espermatócitos primários, sendo que ambos os Xs (X_1 e X_2) se unem ao Y. Por ocasião da anáfase X_1 e X_2 vão livremente para um dos pólos e Y para o outro. Em *Paratenodera* e *Sphodromatis* WHITE (1941) assinalou um bom número de casos em que tanto X_1 como X_2 deixa de se parear com Y, comportando-se os sexo-cromossômios tal como no caso de *Gryllotalpa borealis*. Apenas, nos Mantídeos, como era de se esperar, por se tratar de um mero acidente o elemento que fica livre tanto passa para um como para outro pólo, dando origem a espermatócitos secundários contendo Y indiferentemente associado a X_1 ou a X_2 . Isso, se de fato não se dá no Gryllotalpídeo estudado por PAYNE, como parece, é, provavelmente, por se tratar de um processo natural de disjunção determinada que se estabeleceu através de uma longa evolução. Entretanto, a possibilidade de uma outra distribuição dos sexo-cromossômios não fica de todo excluída.

Em todos os Ortópteros até agora estudados cujos machos são providos de três cromossômios sexuais, esses cromossômios formam um grupo trivalente na metáfase, sendo, pois, a segregação, sempre precedida de um contacto. O único caso de segregação determinada que se conhece é o do *Gryllotalpa borealis*, no qual apenas dois dos sexo-cromossômios, como foi dito acima, se unem para formar um bivalente, ficando o outro inteiramente livre num dos pólos. Esse caso, porém, não tem absoluta segurança, não só por não estar ainda suficientemente analisado, como por assemelhar-se inteiramente ao caso da *Drosophila miranda* descrito por DOBZHANSKY (1935), o

qual, segundo mostraram MacKNIGHT e COOPER (1944), é perfeitamente normal, entrando ambos os Xs em contacto com o Y, tal como se dá com os Acridídeos e Mantídeos do tipo $X_1 X_2 Y$. É de se esperar que o mesmo aconteça também com *Gryllotalpa borealis*, ainda mais, que segundo assinalou MacKNIGHT (1939), uma das figuras de PAYNE mostra conexão do bivalente desigual (X_1 e Y) com o univalente (X_2). Fica dêsse modo *Eneoptera surinamensis* como sendo o único Ortóptero provido de três cromossômios sexuais, que, sem formarem na metáfase um complexo trivalente ou sequer se aproximarem como se verifica nos Hemípteros, segregam de maneira regular, indo o cromossômio X para um dos pólos e os cromossômios Y_1 e Y_2 para o outro.

Fora da Ordem Orthoptera só se conhecem duas espécies cujo sexo heterogamético é igualmente do tipo $XY_1 Y_2$. São elas a *Drosophila virilis americana* (HUGHES 1939) e o Lepidóptero Noctuídeo *Phragmatobia fuliginosa* (SEILER 1925). Há, porém, em ambas, formação de grupos metafásicos.

Uma vez que se pode pôr em dúvida a segregação determinada de *Gryllotalpa borealis*, principalmente depois do que foi assinalado por MacKNIGHT (1939), e que na *Drosophila miranda*, segundo mostraram MacKNIGHT e COOPER (1944), também não existe segregação determinada, isto é, separação sem prévio contacto, como fôra admitido por DOBZHANSKY, fica *Eneoptera surinamensis* o representante típico e provavelmente exclusivo dêsse enigmático mecanismo de separação dos cromossômios sexuais. E isso, porque, dos poucos casos restantes, uns são muito irregulares, variáveis e confusos para poderem ser analisados e classificados, tal como se dá com o Neuroptero *Ascalaphus libelluloides* (NAVILLE & BEAUMONT 1939); noutros, como em *Perla* (Plecoptera-Perlidae), *Syromastes* (Hemiptera-Coreidae) e em diversas espécies de aranhas, não havendo o cromossômio Y , todos os sexo-cromossômios, unidos por uma afinidade ainda incompreendida, passam para o mesmo pólo e portanto não efetuam segregação de espécie alguma; noutros, finalmente, como nos Nematóides, o material, pela sua natureza, não permite qualquer conclusão segura.

O comportamento dos cromossômios sexuais dos Hemípteros providos de um Y e dois ou mais X s pode ser considerado como intermediário entre a segregação precedida de contacto e a segregação determinada, visto que naqueles insetos os sexo-cromossômios aproximam-se todos entre si por ocasião da metáfase.

Comportamento dos sexo-cromossômios de Eneoptera surinamensis. — Os cromossômios sexuais de Eneoptera, no final da diacinese, se distribuem ao acaso na célula, ficando sempre bem separados. Quando o fuso se instala e as tétrades se orientam, X procura alojar-se nas proximidades de um dos pólos, enquanto Y1 e Y2, bem distanciados um do outro, procuram o pólo oposto. Em vista disso, na anáfase, eles se apresentam em precessão, X na frente de uma das placas e os dois Ys na frente da outra. O fato de se haver algumas vezes observado metáfases em que X se encontra de um lado, Y1 do outro e Y2 no plano equatorial ou então X e Y1 em oposição a Y2, não prova que a distribuição final seja diferente daquela que foi descrita, porquanto, antes da anáfase, sempre se pode esperar que os cromossômios sexuais acabem por se colocar nas situações habituais. Entretanto, essas figuras sugerem a possibilidade da passagem de X e Y1 ou X e Y2 para o mesmo pólo. Se isso acontecer, devemos considerar os gâmetas anormais como sendo inviáveis ou dando produtos que se não desenvolvem.

A união de X com Y1 observada com bastante frequência nos estados que precedem a metáfase parece-me destituída de significação especial. Em primeiro lugar porque com igual frequência esses dois sexo-cromossômios se podem apresentar separados em fases correspondentes e em segundo porque a reunião se realiza por contacto direto das mais variadas partes de ambos ou por meio de conectivos heterocromáticos idênticos àqueles que se observam ligando duas ou mais partes do corpo do mesmo sexo-cromossômio quando este se apresenta dobrado. Atração de pontos, significando homologia de partes, parece que decididamente não existe. A aproximação pode ser meramente casual e a união uma simples consequência do estado físico-químico dos cromossômios. Entretanto, pode-se admitir uma pequena afinidade entre esses dois elementos, capaz de favorecer a sua aproximação e união. Se essa afinidade existe, nada se pode dizer da sua natureza.

Na metáfase parece que não há repulsão especial entre os sexo-cromossômios, ficando X ora mais perto de Y1, ora de Y2. Na anáfase, porém, a repulsão entre X e qualquer dos Ys é maior que a repulsão entre os dois Ys, de sorte que estes últimos ficam em oposição ao primeiro. Essa repulsão é uma repulsão global e desorientada, quer dizer, os sexo-cromossômios que se repelem ficam em qualquer posição.

O sexo-cromossômio Y2 parece não ter completado ainda a sua evolução, exibindo propriedades de cromossômio sexual e de autossômios. É assim que nos espermatócitos que vão en-

trar em período de crescimento êle se mostra tão heteropicnótico como os dois outros cromossômios, para na prófase da meiose desaparecer inteiramente, tornando-se indistinto como os autossômios. Só mais tarde, quando os bivalentes se deixam distinguir, no estado diplotene, é que êle reaparece.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

The male of *Eneoptera surinamensis* (Orthoptera-Eneopteridae) is provided with 9 chromosomes, that is, with 3 pairs of autosomes and 3 sex chromosomes.

Spermatogonia. — The autosomes of the spermatogonia are of the same size and U-shaped. One of the sex chromosomes approximately equalling the autosomes in size is telocentric, while the other two are much larger and V-shaped. One of the latter is smaller than the other. The sex chromosomes as showed in Figs. 1 and 2 are designated by X, Y1 and Y2, X being the larger V, Y1 the smaller one and Y2 the rod-shaped.

Primary spermatocytes. — Before the growth period of the spermatocytes all the three sex chromosomes are visible in a state of strong heteropycnosis. X is remarkable in this stage in having two long arms well separated by a wide commissural segment. (Figs. 4, 5 and 6). During the growth period Y2 disappears, while X and Y1 remain in a condensed form until metaphase. These may be separated from one another or united in the most varied and irregular manner. (Fig. 7 to 12). In the latter case the segments in contact seem to be always different so that we cannot recognize any homology of parts in the sense of genetics.

At diplotene Y2 reappears together with the autosomal tetrads. X and Y1 may again be seen as separate or united elements. (Figs. 13 and 14). At later diakinesis and metaphase the three sex chromosomes are always independent from each other, Y2 being typically rod-shaped, X and Y1 V-shaped, X being a little larger than Y1. (Fig. 15 to 18).

At metaphase the three condensed tetrads go to the equatorial plane, while the sex chromosomes occupy any position at both sides of this plane. In almost all figures which could be perfectly analysed X appeared at one side of the autosomal plate an Y1 together with Y2 far apart at the other side. (Figs. 16 and 18). Only a few exceptions have been found. (Figs. 17 and 19).

At anaphase X goes in precession to one pole, Y1 and Y2 to the other (Figs. 20 and 21). As it is suggested by the few figures in which a localization of the sex chromosomes different from the normal has been observed, the possibility of other types of segregation of these elements cannot be entirely precluded. But, if this does happen, the resulting gametes should be inviable or give inviable zygotes.

Early in anaphase autosomes and sex chromosomes divide longitudinally, being maintained united only by the kinetochore. (Figs. 20 and 21).

At metaphase the three sex chromosomes seem to show no special repulsion against each other, X being found in the proximity of Y1 or Y2 indifferently. At anaphase, however, the evidences in hand point to a stronger repulsion between X on the one side and both Ys on the other, so that in spite of the mutual repulsion of the latter they finish by going to the same pole.

Secondary spermatocytes. — At telophase of the primary spermatocytes all the chromosomes enter into distension without disappearing of view. A nuclear membrane is formed around the chromosomes. All the chromosomes excepting Y2 which has two arms, are four-branched. (Fig. 22). Soon the chromosomes enter again into contraction giving rise to the secondary metaphase plate. Secondary spermatocytes provided as expected with four and five chromosomes are abundantly found. (Figs. 23 and 24). In the former all chromosomes are X-shaped while in the latter there is one which is V-shaped. This is the rod-shaped Y2. In the anaphase of the spermatocytes with four chromosomes all the chromosomes are V-shaped, one of them (X) being much larger than the others. In those with five there is one rod-shaped chromosome (Y2). (Fig. 25).

Spermatids. Two classes of spermatids are produced, one with X and other with Y1 and Y2. All the autosomes as well as Y2 soon enter into solution, X remaining visible for long time in one class and Y1 in the other. (Figs. 26 and 27). Since both are very alike at this stage, one cannot distinguish the two classes of spermatids.

Somatic chromosomes in the female. — In the follicular cells of the ovary 8 chromosomes were found, two of which are much larger than the rest. (Figs. 29 and 30). These are considered as being sex chromosomes.

Conclusion — *Eneoptera surinamensis* has a new type of sex-determining mechanism, the male being X Y1 Y2 and the female XX. The sex chromosomes segregate without entering into contact at metaphase or forming group. After a review of the other known cases of complex sex chromosome mechanism the author held that *Eneoptera* is the unique representative of a true determinate segregation of sex chromosomes. Y2 behaving as sex chromosome and as autosome is considered as representing an intermediary state of the evolution of the sex chromosomes.

LITERATURA CITADA

- ASANA, J. J. 1934 — Studies on the chromosomes of Indian Orthoptera. IV. The idiochromosomes of *Hierodula* sp. *Cur. Sci.* 2: 244-245.
- DOBZHANSKY, Th. 1935 — *Drosophila miranda*, a new species. *Genetics* 20: 377-391.
- HUGHES, R. D. 1937 — The chromosomes in the hybrid between *Drosophila virilis virilis* and *Drosophila virilis americana* Spencer. *Genetics* 24: 99.
- KING, R. L. 1931 — Chromosomes of three species of Mantidae. *J. Morph.* 52: 523-533.
- KING, R. L. & H. W. BEAMS 1938 — The multiple chromosomes of *Paratylotropidia brunneri* Scudder (Orthoptera-Acrididae). *J. Morph.* 63: 289-299.
- MacKNIGHT, R. H. 1939 — The sex-determining mechanism of *Drosophila miranda*. *Genetics* 24: 180-201.
- MacKNIGHT, R. H. & K. W. COOPER 1944 — The synopsis of the sex-chromosomes of *Drosophila miranda* in relation to their directed segregation. *Proc. Nat. Ac. Sci.* 30: 384-387.

- MAKINO, S. 1932 — An unequal pair of idiochromosomes in the tree-cricket *Aecanthus longicauda* Mats. **J. Fac. Sci. Hokk. Univ. Ser. VI**, 2: 1-35.
- McKLUNG, C. E. 1917 — The multiple chromosomes of *Hesperotettix* and *Mermira*. **J. Morph.** 29: 519-605.
- McLUNG, C. E. & J. J. ASANA 1933 — The chromosomes of *Schizodactylus monstruosus*. **J. Morph.** 55: 185-191.
- NAVILLE, A. & J. de BEAUMONT 1933 — Recherches sur les chromosomes des Névroptères. **Arch. Anat. Microsc.** 29: 199-243.
- OGUMA, K. 1921 — The idiochromosomes of the Mantis. **J. Col. Agric. Sapp.** 10: 1-27.
- PAYNE, F. 1916 — A study of the germ-cells of *Gryllotalpa borealis* and *Gryllotalpa vulgaris*. **J. Morph.** 28: 287-327.
- SCHRADER, F. 1928 — Die Geschlechtschromosomen. Borntraeger, Berlin. VI-194 ps. 43 fgs.
- SEILER, J. 1925 — Ergebnisse aus Kreuzungen von Schmetterlingsrassen mit verschiedener Chromosomenzahl. **Arch. Klauss. Stift. Vererb. Forsch.** 1: 63-117.
- STEOPE, I. 1939 — Nouvelles recherches sur la spermatogénèse chez *Gryllotalpa vulgaris* de Rumanie. **Arch. Zool. Exp. Gén.** 80: 445-464.
- WHITE, M. J. D. 1940 — The origin and evolution of multiple sex-chromosome mechanisms. **J. Genetics** 40: 303-336.
- WHITE, M. J. D. 1941 — The evolution of sex chromosomes. I. The XO and X1 X2 Y mechanism in raying Mantids. **J. Genetics** 42: 143-172.
- WINIWARTER, H. de 1927 — Étude du cycle chromosomique chez diverses races de *Gryllotalpa*. **Arch. Biol.** 37: 515-572.