


LUIZ FERNANDO GOMES

UFV	BIBLIOTECA	BBT	CDDA	RG000511910
	CLASSIFICAÇÃO	T 595.790415 / G633e		
TÍTULO Estudos citogenéticos em vespas do gênero				
				
102618 BBT				

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM VESPAS DO GÊNERO *Trypoxylon*
(HYMENOPTERA, SPHECIDAE, LARRINAE, TRYPOXYLONINI)

Federal de Viçosa, como Parte das
Exigências do Curso de Genética e
Melhoramento, para Obtenção do
Título de "Magister Scientiae".

APROVADA: 13 de abril de 1994

Tese Apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como Parte das
Exigências do Curso de Genética e
Melhoramento, para Obtenção do
Título de "Magister Scientiae".

T
595.790415
G633e
1995
ex. 1

BIBLIOTECA CENTRAL - U F V -
102.618
17.11.94

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
FEVEREIRO - 1995

DOAÇÃO

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

G633e
1995

Gomes, Luiz Fernando, 1965-

Estudos citogenéticos em vespas do gênero
Trypoxylon (Hymenoptera, Sphecidae, Larrinae,
Trypoxylonini) / Luiz Fernando Gomes. - Viçosa : UFV, 1995.
80p. : il.

Orientador: Lúcio Antônio de Oliveira Campos.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal
de Viçosa.

1. Vespa - Citogenética. 2. Vespa - Cariótipos.
3. Vespa - Heterocromatina. 4. *Trypoxylon*. I.
Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 18.ed. 595.790415

CDD 19.ed. 595.790415

LUIZ FERNANDO GOMES

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM VESPAS DO GÊNERO *Trypoxylon*
(HYMENOPTERA, SPHECIDAE, LARRINAE, TRYPOXYLONINI)

Tese Apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como Parte das
Exigências do Curso de Genética e
Melhoramento, para Obtenção do
Título de "Magister Scientiae".

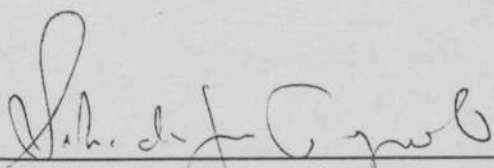
A Deus.

Aos meus pais, Nizein Adler Gomes e José Ribamar Gomes.

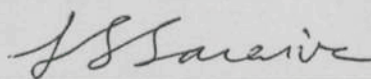
Aos meus irmãos, aos meus sobrinhos e à minha namorada.

APROVADA: 13 de abril de 1994

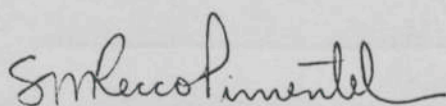
*estas, pelo apoio e pelo incentivo
constantex.*



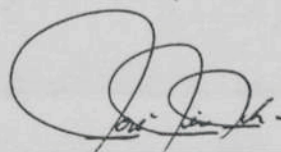
Profª Silvia das Graças Pompolo
(Conselheira)



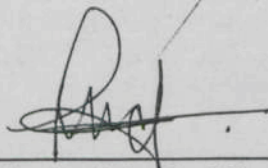
Prof. Luiz Sérgio Saraiva
(Conselheiro)



Profª Shirlei Maria Recco Pimentel



Prof. José Lino Neto



Prof. Lúcio Antônio de Oliveira Campos
(Orientador)

A Deus.

Aos meus pais, Nizeth Adler Gomes e José Ribamar Gomes.

Caminhar *Aos meus irmãos, aos meus sobrinhos e à minha namorada,
Georgete Lopes Freitas, pelo apoio e pelo incentivo
constantemente.*

AGRADECIMENTOS

As pessoas e instituições que colaboraram para a realização deste trabalho.

"O que vale na vida não é o ponto de partida e sim a caminhada. Caminhando e semeando, no fim, terás o que colher."
Campos, orientador e amigo, pela orientação segura, pelo apoio e pelo incentivo.
Cora Coralina.

A professora Sílvia das Graças Pompolo, pelo incentivo, pelas sugestões, pela colaboração direta no decorrer de todo o trabalho e pela amizade.

Aos demais membros da banca, professores Luiz Sérgio Saraiva, José Lino Neto e Shirlei Maria Recco Pimentel, pelas valiosas sugestões apresentadas.

Ao especialista Sérgio Tullio Pires Amarante (MZUSP), pela identificação das espécies de *Tryparylen* estudadas neste trabalho.

Aos professores Eldo Antônio Monteiro da Silva e Aristéia Alves de Azevedo, pelo livre acesso permitido no uso do laboratório de fotomicroscopia e pela amizade.

A Iris Stanciola, Geraldo Paiva e José Estevão, pela ajuda sempre que requisitada.

A todos os companheiros do laboratório 319-L, pela amizade e pelos momentos divertidos compartilhados.

A Universidade Federal de Viçosa e à Universidade Federal do Maranhão, pela oportunidade de realização do Curso.

AGRADECIMENTOS

Às pessoas e instituições que colaboraram para a realização deste trabalho.

À CAPES, ao CNPq e à FAPEMA, pelo suporte financeiro.

Ao professor Lúcio Antônio de Oliveira Campos, orientador e amigo, pela orientação segura, pelo apoio e pelo incentivo.

À professora Silvia das Graças Pompolo, pelo incentivo, pelas sugestões, pela colaboração direta no decorrer de todo o trabalho e pela amizade.

Aos demais membros da banca, professores Luiz Sérgio Saraiva, José Lino Neto e Shirlei Maria Recco Pimentel, pelas valiosas sugestões apresentadas.

Ao especialista Sérgio Túlio Pires Amarante (MZUSP), pela identificação das espécies de *Trypoxylon* estudadas neste trabalho.

Aos professores Eldo Antônio Monteiro da Silva e Aristeia Alves de Azevedo, pelo livre acesso permitido no uso do laboratório de fotomicroscopia e pela amizade.

A Iris Stanciola, Geraldo Paiva e José Estevão, pela ajuda sempre que requisitada.

A todos os companheiros do laboratório 319-I, pela amizade e pelos momentos divertidos compartilhados.

À Universidade Federal de Viçosa e à Universidade Federal do Maranhão, pela oportunidade de realização do Curso.

BIOGRAFIA

LUIZ FERNANDO GOMES, filho de José Ribamar Gomes e de Nizeth Adler Gomes, nasceu em 17 de outubro de 1965, em São João Batista-Ma.

Em fevereiro de 1991, graduou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Maranhão.

Em março de 1991, ingressou no Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa, tendo defendido tese em 13 de abril de 1994.

CONTEÚDO

BIOGRAFIA

LUIZ FERNANDO GOMES, filho de José Ribamar Gomes e de Nizeth Adler Gomes, nasceu em 17 de outubro de 1965, em São João Batista-Ma.

Em fevereiro de 1991, graduou-se em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Maranhão.

Em março de 1991, ingressou no Curso de Mestrado em Genética e Melhoramento na Universidade Federal de Viçosa, tendo defendido tese em 13 de abril de 1994.

2.1. Variabilidade Cariotípica dentro da Ordem Hymenoptera	6
2.1.1. Subordem Symphyta	6
2.1.2. Subordem Apoerita-Parasítica (Terebrantia)	7
2.1.3. Subordem Apoerita-Aculeata	7
2.2. Alterações Cromossômicas nos Hymenoptera	9
2.2.1. Rearranjos Robertsonianos (Fusão e Fissão Centríca)	9
2.2.2. Fusões em Tandem	13
2.2.3. Inversões	14
2.2.4. Heterocromatias Constitutivas	16
2.2.5. Cromosomas B	18

	Página
2.2.5. Translocação	20
2.3. Evolução do Cariótipo nos Hymenoptera	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Material	24
CONTEÚDO	
3.2. Métodos	26
3.2.1. Obtenção do Material	26
3.2.2. Preparação Citogenética do Material	27
3.2.3. Técnica de Bandamento-C	28
3.2.4. Análise do Material	29
4. RESULTADOS	32
4.1. Descrição dos Cariótipos	32
EXTRATO	ix
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Considerações Gerais sobre os Hymenoptera	1
1.2. Noções a Respeito da Citogenética em Alguns Grupos de Hymenoptera	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	6
2.1. Variabilidade Cariotípica dentro da Ordem Hymenoptera	6
2.1.1. Subordem Symphyta	6
2.1.2. Subordem Apocrita-Parasítica (Terebrantia)	7
2.1.3. Subordem Apocrita-Aculeata	7
2.2. Alterações Cromossômicas nos Hymenoptera	9
2.2.1. Rearranjos Robertsonianos (Fusão e Fissão Cêntricas)	9
2.2.2. Fusões em Tandem	13
2.2.3. Inversões	14
2.2.4. Heterocromatina Constitutiva	16
2.2.5. Cromossomos B	18

	Página
2.2.6. Translocação	20
2.3. Evolução do Cariótipo nos Hymenoptera	22
3. MATERIAL E MÉTODOS	24
3.1. Material	24
3.2. Métodos	26
3.2.1. Obtenção do Material	26
3.2.2. Preparação Citogenética do Material	27
3.2.3. Técnica de Bandamento-C	28
3.2.4. Análise do Material	29
4. RESULTADOS	32
4.1. Descrição dos Cariótipos	32
4.1.1. Subgênero <i>Trypoxylon</i>	32
4.1.1.1. <i>Trypoxylon (Trypoxylon) sp1</i>	32
4.1.1.2. <i>Trypoxylon (Trypoxylon) asuncicola</i>	35
4.1.1.3. <i>Trypoxylon (Trypoxylon) fabricator</i>	37
4.1.2. Subgênero <i>Trypargilum</i>	37
4.1.2.1. <i>Trypoxylon (Trypargilum) nitidum</i>	37
4.1.2.2. <i>Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse</i>	40
4.1.2.3. <i>Trypoxylon (Trypargilum) sp3</i>	43
4.1.2.4. <i>Trypoxylon (Trypargilum) sp2</i>	43
4.1.2.5. <i>Trypoxylon (Trypargilum) sp4</i>	46
4.1.2.6. <i>Trypoxylon (Trypargilum) albitarse</i>	49
5. DISCUSSÃO	54
5.1. Variabilidade Cariotípica no Gênero <i>Trypoxylon</i>	54
5.2. Comparação dos Cariótipos de Espécies dos Subgêneros <i>Trypargilum</i> e <i>Trypoxylon</i>	64

	Página
5.3. Evolução do Cariótipo em <i>Trypoxylon</i> de Acordo com a Hipótese da Interação Mínima	66
6. RESUMO E CONCLUSÕES	70
BIBLIOGRAFIA	72

EXTRATO

GOMES, Luiz Fernando, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 1995. Estudos Citogenéticos em Vespas do Gênero *Trypoxylon* (Hymenoptera, Sphecidae, Larrinae, Trypoxylonini). Professor Orientador: Lúcio Antônio de Oliveira Campos. Professores Consoelheiros: Sílvia das Graças Pumpolo e Luiz Sérgio Saraiva.

Com o objetivo de fornecer mais dados para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na evolução do cariótipo dos Hymenoptera e dos *Trypoxylon* em particular, foram realizados estudos citogenéticos em algumas espécies de vespas do referido gênero.

As vespas do gênero *Trypoxylon* estão biologicamente divididas em dois tipos, quanto ao modo de nidificação: as que fazem ninhos exterosos, de barro, e as que nidificam em cavidades preexistentes. As coletas das espécies que constroem ninhos exterosos foram feitas mediante a procura direta nos locais de nidificação, como paredes e grotas. As coletas das espécies que nidificam em cavidades preexistentes foram realizadas por meio da técnica de sondagem com alça, sendo que as câmaras de nidificação são construídas por blocos de barro perfurados de dentro, de comprimento e diâmetro variáveis, nos quais as vespas constroem os galhos de seus

... foram colocados em vários locais da região de Viçosa-MG, e eram periodicamente inspecionados e coletados sempre que estavam nidificados. No laboratório, os indivíduos na fase de prepupa ou pupa de cor branca foram submetidos às preparações citogenéticas, sendo que pelo menos um indivíduo de cada ninho foi deixado emergir, os quais foram mantidos em diferentes coleções entomológicas, identificados e depositados no Museu de Entomologia da UFV.

EXTRATO

Foram estudadas 256 exemplares, pertencentes a nove espécies. A variação de distribuição do complemento cromossômico haplóide (n) foi de 15 a 17 e a do número diplóide de cromossomos (2n), de 34 a 60.

GOMES, Luiz Fernando, M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 1995. **Estudos Citogenéticos em Vespas do Gênero *Trypoxylon* (Hymenoptera, Sphecidae, Larrinae, Trypoxylonini)**. Professor Orientador: Lúcio Antônio de Oliveira Campos. Professores Conselheiros: Silvia das Graças Pompolo e Luiz Sérgio Saraiva.

Com o objetivo de fornecer mais dados para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na evolução do cariótipo dos **Hymenoptera** e dos *Trypoxylon* em particular, foram realizados estudos citogenéticos em algumas espécies de vespas do referido gênero.

As vespas do gênero *Trypoxylon* estão biologicamente divididas em dois tipos, quanto ao modo de nidificação: as que fazem ninhos externos, de barro, e as que nidificam em cavidades preexistentes. As coletas das espécies que constroem ninhos externos foram feitas mediante a procura direta nos locais de nidificação, como paredes e portas. As coletas das espécies que nidificam em cavidades preexistentes foram realizadas por meio da técnica de ninhos-armadilhas. Estes eram constituídos por blocos de madeira perfurada ou bambu, de comprimento e diâmetro variáveis, nos quais as vespas construía seus ninhos. Esses

blocos foram colocados em vários locais da região de Viçosa-MG, e eram periodicamente inspecionados e coletados sempre que estavam nidificados. No laboratório, os indivíduos na fase de prepupa ou pupa de olho branco foram submetidos às preparações citogenéticas, sendo que pelo menos um indivíduo de cada ninho foi deixado emergir, os quais foram montados em alfinetes entomológicos, identificados e depositados no Museu de Entomologia da UFV.

Foram estudados citogeneticamente 256 exemplares, pertencentes a nove espécies. A variação de distribuição do complemento cromossômico haplóide (n) foi de 15 a 17 e a do número diplóide de braços ($2AN$), de 34 a 60.

As técnicas citogenéticas empregadas, coloração convencional e de banda-C, proporcionaram uma excelente caracterização numérica, morfológica e dos padrões de distribuição da heterocromatina constitutiva, além de fornecer subsídios para inferências dos mecanismos cromossômicos envolvidos na evolução do cariótipo das diferentes espécies.

Rearranjos dos tipos fissões e fusões cêntricas, inversões pericêntricas e paracêntricas, mudança do centrômero funcional, adição e deleção de heterocromatina constitutiva foram os prováveis mecanismos responsáveis pela constituição cariotípica das espécies estudadas neste trabalho. A evolução do cariótipo do gênero *Trypoxylon*, diante das espécies aqui analisadas, é completamente consistente com a hipótese da interação mínima, sendo os principais mecanismos moldadores da evolução atribuídos às fissões cêntricas, ao crescimento em 'tandem' da heterocromatina constitutiva e às inversões pericêntricas.

poucas espécies, nos Hymenoptera existe na quase totalidade das espécies, o que indica que esse mecanismo determinador do sexo é muito primitivo nessa ordem (KERR, 1932; CROZIER, 1977; CRUZ-LANDIM, 1984).

A tribo Trypoxylonini (Sphecidae, Larrinae) possui cinco gêneros (*Trypoxylon*, *Pison*, *Pisonopsis*, *Aulacophilus* e *Pisoxylon*) e mais de 500 espécies descritas. Possui distribuição cosmopolita, mas apresenta maior diversidade na região neotropical (MENKE, 1976). Tanto em termos de estrutura como de biologia, é considerada como um grupo derivado dentro da subfamília Larrinae.

1. INTRODUÇÃO

Dentre os Sphecidae, *Trypoxylon* é o segundo maior gênero em

1.1. Considerações Gerais sobre os Hymenoptera

RICHARDS (1934), com base em caracteres morfológicos, dividiu o gênero

A ordem **Hymenoptera** é constituída de duas subordens: **Symphyta** e **Apocrita**. A última subordem compreende dois grupos: **Terebrantia** (parasítica) e **Aculeata**, na qual se encontram as vespas, abelhas e formigas (WILSON, 1971). Trata-se de uma ordem bastante grande e que possui um número notável de características, tais como a grande variedade de comportamentos, que inclui desde formas solitárias até eussociais. Com relação ao comportamento social, é interessante destacar que esse surgiu várias vezes ao longo da evolução do grupo (CROZIER, 1977).

O sistema de determinação do sexo ocorre por partenogênese arrenótoca, isto é, os machos são haplóides e se originam de ovos não-fecundados e as fêmeas são diplóides e provêm de ovos fecundados. A arrenotoquia é conhecida em quatro ordens de insetos: **Coleoptera**, **Homoptera**, **Thysanoptera** e **Hymenoptera**. Enquanto nas três primeiras ordens citadas a partenogênese arrenótoca é conhecida em uma ou em

poucas espécies, nos **Hymenoptera** existe na quase totalidade das espécies, o que indica que esse mecanismo determinador do sexo é muito primitivo nessa ordem (KERR, 1952; CROZIER, 1977; CRUZ-LANDIM, 1984).

A tribo Trypoxylonini (Sphecidae, Larrinae) possui cinco gêneros (*Trypoxylon*, *Pison*, *Pisonopsis*, *Aulacophilus* e *Pisoxylon*) e mais de 500 espécies descritas. Possui distribuição cosmopolita, mas apresenta maior diversidade na região neotropical (BOHART e MENKE, 1976). Tanto em termos de estrutura como de biologia, é considerada como um grupo derivado dentro da subfamília Larrinae.

Dentre os Sphecidae, *Trypoxylon* é o segundo maior gênero em número de espécies (355 espécies descritas (BOHART e MENKE, 1976). RICHARDS (1934), com base em caracteres morfológicos, dividiu o gênero em dois subgêneros: *Trypoxylon* e *Trypargilum*, tendo observado a existência de diferenças tanto em nível morfológico quanto biológico. O subgênero *Trypargilum* é restrito ao hemisfério sul ocidental e contém aproximadamente 99 espécies, que são relativamente uniformes morfolologicamente (BOHART e MENKE, 1976; COVILLE, 1982; AMARANTE, 1991). Esse subgênero tem maior diversidade de espécies na região neotropical, enquanto o subgênero *Trypoxylon* é cosmopolita, tem maior número de espécies e possui vários grupos de espécies morfolologicamente distintas.

Todos os *Trypoxylon* aprovicionam seus ninhos com aranhas. Algumas espécies constroem ninho de barro, outras utilizam cavidades tubulares preexistentes, dividindo-as em uma série linear de células, com partições de barro. Como a maioria dos Sphecidae, os *Trypoxylon* são solitários, e a fêmea constrói e aproviciona seu próprio ninho. Em *Trypoxylon* (subgênero *Trypargilum*), os machos se acasalam com as

fêmeas durante a construção e o provisionamento do ninho, guardando-o até que seja concluído (COVILLE, 1982).

1.2. *Noções a Respeito da Citogenética em Alguns Grupos de Hymenoptera*

Os primeiros estudos citogenéticos em **Hymenoptera** consistiam basicamente na determinação do número cromossômico, o que nem sempre era completamente viável, em virtude da ineficiência das técnicas empregadas - técnicas convencionais de esmagamento, que geralmente utilizavam células em divisão meiótica - (HOSHIBA e ONO, 1984).

Nas últimas décadas, com o aprimoramento e o emprego de técnicas mais adequadas, houve um grande avanço nos estudos citogenéticos, tanto em animais como em vegetais.

As técnicas citogenéticas atuais consistem em pré-tratamento do material com colchicina e citrato de sódio, o que possibilita um acúmulo de maior número de células em metáfase, para uma determinação mais segura do número de cromossomos dos organismos em estudo (HUNG et alii, 1981).

Os resultados obtidos por meio de técnicas antigas têm-se mostrado distintos dos encontrados recentemente com o uso dessas técnicas novas. O reestudo da citogenética de muitos grupos que foram estudados no passado se faz necessário, com o uso de técnicas mais apuradas.

HOSHIBA e ONO (1984), utilizando tais técnicas, obtiveram, em vespas, resultados diferentes dos de MACHIDA (1934), que utilizou células em divisão meiótica com o emprego de técnicas convencionais, ao estudar as mesmas espécies.

Antes da introdução das técnicas de bandamento, na década de 70, a confecção do cariótipo baseava-se principalmente em caracterizar o número, a variação dos tamanhos cromossômicos e a posição do centrômero. Com o advento das técnicas de bandamento, tornou-se mais precisa a identificação dos complementos cromossômicos. Atualmente, as técnicas de bandamento mais empregadas nos estudos citogenéticos dos **Hymenoptera** são as de banda-C e as de banda-G. Contudo, outras técnicas menos empregadas nos estudos desses organismos também podem ser utilizadas: bandas-Q, bandas-R, bandas-NOR etc.

A citogenética constitui uma ferramenta a mais nos estudos dos mecanismos envolvidos nos processos evolutivos do cariótipo. Sua aplicação é de extraordinária importância para os estudos a respeito da filogenia, do mecanismo de especiação e da variabilidade genética.

Quando se pretende realizar estudos sobre a evolução de determinados grupos, do ponto de vista citogenético, é de vital importância o emprego de técnicas que ofereçam confiabilidade na caracterização dos cariótipos. Os estudos citogenéticos em **Hymenoptera** têm obtido um grande avanço, por meio do emprego de técnicas modernas e com a utilização de tecidos apropriados.

Embora nos últimos anos tenha se acumulado um grande número de informações sob os aspectos da biologia e ecologia de *Trypoxylon* (RICHARDS, 1934; KROMBEIN, 1967; COVILLE, 1979, 1981, 1982; COVILLE e COVILLE, 1980; COVILLE e GRISWOLD, 1983, 1984; AMARANTE, 1991; GOBBI et alii, 1991), apenas quatro espécies foram estudadas, até o momento, em nível citogenético (HOSHIBA e IMAI, 1993).

O presente estudo teve como principais objetivos:

1) Caracterizar o cariótipo de algumas espécies de vespas do gênero *Trypoxylon*, visando contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na evolução do cariótipo desse grupo em particular, e dos **Hymenoptera** em geral.

2) Analisar as inter-relações cariotípicas entre as diferentes espécies do grupo, com base nos mecanismos de rearranjos cromossômicos.

3) Contribuir com dados adicionais para a taxonomia (citotaxonomia) do grupo.

2.1. Variabilidade Cariotípica Dentro da Ordem Hymenoptera

Na citogenética animal, o estudo dos Hymenoptera vem ocupando um lugar de destaque, em virtude do aumento do número de espécies analisadas cariotipicamente e da utilização de novas técnicas que evidenciam estruturas importantes para o reconhecimento de homologies cromossômicas, dos mecanismos envolvidos nos rearranjos e das variações que ocorrem em nível inter e intra-específico, além das variações intrapopulacionais.

Atualmente, cerca de 950 espécies, pertencentes a 11 superfamílias, já foram analisadas citogeneticamente, a maior parte apresentando uma grande variabilidade cariotípica.

2.1.1. Subordem Symphyta

Esta subordem, representada pela superfamília Tenthredinoidea, família Tenthredinidae, apresenta aproximadamente 200 espécies,

distribuídas em cinco subordens comumente designadas. O número cromossômico varia de 2 a 22, 11 sendo o número mais encontrado em *Pseudohemiteles* e *Phaenocarpa* e 22 em *Phaenocarpa* sp. (n=22), sendo o número médio de cromossomos igual a 12. Quando as diferenças subfamiliares são analisadas, o número varia entre 7 e 10 (CROZIER, 1975; NAITO, 1976; NAITO, 1978).

2. REVISÃO DA LITERATURA

Este grupo está representado pelas superfamílias Proctotrupoidea com n=11, em uma espécie analisada; Ichneumenoidea com n=10-15, em

2.1. Variabilidade Cariotípica Dentro da Ordem Hymenoptera

Na citogenética animal, o estudo dos **Hymenoptera** vem ocupando um lugar de destaque, em virtude do aumento do número de espécies analisadas cariotipicamente e da utilização de novas técnicas que evidenciam estruturas importantes para o reconhecimento de homologies cromossômicas, dos mecanismos envolvidos nos rearranjos e das variações que ocorrem em nível inter e intra-específico, além das variações intrapopulacionais.

Atualmente, cerca de 950 espécies, pertencentes a 11 superfamílias, já foram analisadas citogeneticamente, a maior parte apresentando uma grande variabilidade cariotípica.

2.1.1. Subordem Symphyta

Esta subordem, representada pela superfamília **Tenthredinoidea**, família **Tenthredinidae**, apresenta aproximadamente 200 espécies,

distribuídas em cinco subfamílias conhecidas citogeneticamente. O número haplóide (n) variou de 5 a 22. O menor número foi encontrado em *Pseudohemitaxonus dryopteris* ($n=5$) e o maior em *Aglaostigma sp* ($n=22$), sendo o número modal da família igual a 10. Quando as diferentes subfamílias são analisadas separadamente, esse valor varia entre 7 e 10 (CROZIER, 1975; NAITO, 1978a, b, 1982).

2.1.2. Subordem Apocrita-Parasítica (*Terebrantia*)

Este grupo está representado pelas superfamílias **Proctotrupoidea** com $n=11$, em uma espécie analisada; **Ichneumonoidea** com $n=10-15$, em sete espécies analisadas; **Cynipoidea** com $n=9-14$, em 20 espécies analisadas; e **Chalcidoidea** com $n=3-10$, em 19 espécies analisadas. O menor valor de n nesta última superfamília foi detectado em *Brachymeria intermedia* com $n=3$ (HUNG, 1986) e o maior, em *Callirhytis palmiformis* com $n=10$ (GOODPASTURE, 1975) e em *Copidosoma truncatellum* com $n=10$ (HUNTER e BARTLETT, 1975).

2.1.3. Subordem Apocrita-Aculeata

Deste grupo, foram estudadas citogeneticamente seis superfamílias: **Bethyloidea** com $n=19$, em uma espécie analisada; **Pompiloidea** com $n=15$, em duas espécies analisadas; **Sphecoidea** com $n=3-24$, em 18 espécies analisadas; **Vespoidea** com $n=5-34$, em 55 espécies analisadas; **Apoidea** com $n=3-28$, em 127 espécies analisadas; e **Formicoidea** com $n=1-48$, em mais de 500 espécies analisadas.

A família **Sphecidae** tem 18 espécies analisadas citogeneticamente, distribuídas entre quatro subfamílias, com o complemento haplóide (n)

que varia de 3 a 24. O menor número foi encontrado em *Microstigmus arlei* e *M. luederwaldti* (**Pemphredoninae**), ambas com $n=3$ (COSTA et alii, 1993), e o maior em *Chalybion japonicum* (**Sphecidae**), com $n=24$ (HOSHIBA e IMAI, 1993).

Os estudos citogenéticos na superfamília **Vespoidea** compreendem a análise de 55 espécies, distribuídas em duas famílias: **Eumenidae** e **Vespidae** (MISRA e SRIVASTAVA, 1971; GOODPASTURE, 1974; HUNG et alii, 1981; HOSHIBA e ONO, 1984; HOSHIBA e YAMAMOTO, 1985; HOSHIBA, 1985a, b, 1986; HOSHIBA et alii, 1989; POMPOLO e TAKAHASHI, 1986, 1987, 1990a, b; HOSHIBA e IMAI, 1993). A família **Vespidae** é dividida em duas subfamílias (**Vespinae** e **Polistinae**). O número cromossômico haplóide (n) dentro da superfamília varia de 5 a 34. O valor de $n=5$ foi detectado em *Euodynerus quadrifasciatus* (**Eumenidae**) (HOSHIBA e IMAI, 1993) e o de $n=34$, em *Mischocyttarus sp* (**Vespidae, Polistinae**) (POMPOLO e TAKAHASHI, 1990).

A citogenética na superfamília **Apoidea** é conhecida em seis famílias: **Andrenidae**, **Apidae**, **Anthophoridae**, **Colletidae**, **Halictidae** e **Megachilidae**, num total de 127 espécies cariotipadas, com o complemento haplóide (n) que varia de 3 a 28. O menor valor ($n=3$) foi encontrado em *Andrena togashii* (**Andrenidae**) e o maior ($n=28$), em *Hylaeus sp2* (**Colletidae, Colletinae**) (HOSHIBA e IMAI, 1993).

Os estudos citogenéticos na família **Formicidae** inclui oito subfamílias, sendo essa a mais representativa tanto em número de espécies cariotipadas (mais de 500) como em relação aos processos envolvidos na evolução do cariótipo. A variação do número haplóide de cromossomos (n) nessa família é a maior dentro da ordem **Hymenoptera**, indo de 1 a 48, com número nodal igual a 11 e média igual a 15. O menor valor foi registrado em *Myrmecia pilosula* (**Myrmecinae**), que apresentou $n=1$

(CROSLAND e CROZIER, 1986; IMAI e TAYLOR, 1989), e o maior foi detectado em *Nothomyrmecia macrops* (Nothomyrmecinae), com $n=47$ (IMAI et alii, 1990).

2.2. Alterações Cromossômicas nos Hymenoptera

A constância do cromossomo como unidade estrutural reside em sua capacidade de reproduzir-se a cada divisão celular, com extraordinária precisão. Contudo, os cromossomos podem alterar-se espontaneamente (SWANSON et alii, 1981).

A variação cromossômica pode ocorrer entre diferentes células do indivíduo, entre indivíduos diferentes da mesma população, ou entre populações da mesma espécie (SWANSON et alii, 1981).

As variações cariotípicas podem ser de três tipos: variação que envolve alteração do número de cromossomos (aneuploidia e euploidia), variação que envolve a estrutura do cromossomo (deficiências, duplicações, inversões e translocações) e variação que envolve o número e a estrutura cromossômica (fissão e fusão).

2.2.1. Rearranjos Robertsonianos (Fusão e Fissão Cêntricas)

Estes rearranjos levam a alterações no número e na estrutura cromossômica. Alteram o número diplóide, mas não alteram o número fundamental.

Dois cromossomos acrocêntricos ou telocêntricos podem unir-se, formando um de dois braços, isto é, metacêntrico ou submetacêntrico, por meio de uma fusão cêntrica. Quando um cromossomo de dois braços

dissocia-se em dois, cada um com um único braço, o mecanismo é chamado de fissão cêntrica.

Há controvérsias quanto à origem da fusão e fissão cêntricas. A maioria dos citogeneticistas é favorável à hipótese de WHITE (1973), de que a única forma de fusão seria por meio de uma translocação recíproca entre dois cromossomos acrocêntricos, decorrente de quebras próximas ao centrômero, com formação de dois produtos: um cromossomo maior de dois braços (meta ou submetacêntrico) e dois fragmentos, um cêntrico e outro acêntrico, que se unem e, geralmente, são perdidos. Da mesma forma, o autor só admite a fissão como um processo em que um cromossomo metacêntrico necessitaria de um outro cromossomo como doador de telômero e centrômero para poder fissionar-se. Ainda segundo o autor, também não existem cromossomos telocêntricos, e que os casos assim descritos seriam na realidade dotados de um pequeno braço, de difícil visualização.

A descrença entre os citogeneticistas na hipótese da fissão é devida, principalmente, aos argumentos descritos anteriormente. Entretanto, a existência de cromossomos telocêntricos foi demonstrada em estudos de microscopia eletrônica, por COMINGS e OKADA (1970), os quais não visualizaram braços curtos em cromossomos supostamente acrocêntricos de cabras e ovelhas.

HSU et alii (1975) admitem que a fusão cêntrica pode ocorrer sem a perda do centrômero de um dos acrocêntricos envolvidos no processo. O suporte para essa aceitação consiste na estabilidade dos cromossomos dicêntricos, quando os centrômeros estão próximos um do outro, funcionando como um só, sendo que a probabilidade de inativação de um deles é proporcional à distância que os separa.

Na espécie humana, vários casos de cromossomos dicêntricos com inativação centromérica já foram descritos (NEIBUHR, 1972; THERMAN et alii, 1974).

Dentre os rearranjos robertsonianos, as fissões cêntricas são os principais mecanismos envolvidos no processo evolutivo dos **Hymenoptera** e, em especial, de certos grupos da família **Formicidae**, em que um número razoavelmente grande de espécie já foi estudado.

Um exemplo clássico de evolução cariotípica por fissões cêntricas é observado no gênero *Oligomyrmex*, em que três espécies, *Oligomyrmex* sp5 ($2n=26$, $2K=26M$), *Oligomyrmex* sp4 ($n=16$, $K=6A+10M$) e *Oligomyrmex* asinus ($2n=44$, $2K=36A+8M$), diferem em número cromossômico ($n=13$, 16 e 22), mas não diferem com relação aos seus números de braços, isto é, todas apresentam $2AN=52$, o que evidencia que a diferença no número de cromossomos é resultado de fissão cêntrica, uma vez que o número de braços é o mesmo em todas as espécies (IMAI et alii, 1984a).

As diferenças cariotípicas observadas entre as espécies *Parathechina largicornis* ($2n=16$, $2K=2A+14M$, $2AN=30$), *Parathechina* sp3 ($2n=30$, $2K=30A$, $2AN=30$) e *P. indica* ($2n=30$, $2K=28A+2M$, $2AN=32$) são decorrentes de rearranjos do tipo fissão cêntrica, além de inversões pericêntricas, como podem ser claramente observados em razão da pequena variação do número diplóide de braços ($2AN=30-32$), em oposição à grande variação do número de cromossomos ($2n=16-30$) (IMAI et alii, 1984a).

O polimorfismo robertsoniano do tipo fusão cêntrica foi encontrado em *Camponotus crassisquamis*, como pode ser observado em razão da diferença na constituição dos dois cariótipos ($2n=40$, $2K=40A$, $2AN=40$ e $2n=39$, $2K=38+1M$, $2AN=40$), sendo o cariótipo com $2n=39$

cromossomos, resultado de uma fusão cêntrica entre dois cromossomos do cariótipo com $2n=40$ cromossomos acrocêntricos. Já em *Camponotus sp9* ($2n=34$, $2AN=39$ e $2n=35$, $2AN=40$), a diferença do número de cromossomos foi resultado de polimorfismo do tipo fissão-inversão (IMAI et alii, 1984a).

Vários casos de polimorfismo cromossômico do tipo fissões cêntricas foram descritos entre sete colônias de *Rhytidoponera metallica*, sendo o seguinte o número de cromossomos encontrados em cada colônia: colônia 1 ($2n=36$, $2K=26A+10M$ e $2n=37$, $2K=28A+9M$); colônia 2 ($2n=41$, $2K=36A+5M$ e $2n=42$, $2K=38A+4M$); colônia 3 ($2n=43$, $2K=40A+3M$); colônia 4 ($2n=43$, $2K=40A+3M$ e $2n=42$, $2K=40A+2M$) e colônias 5, 6 e 7 ($2n=46$, $2K=46A$). Em virtude dessa variação do número diplóide de cromossomos e do número de cromossomos com dois braços ($2n=36$ ($26A+10M$) e $2n=46$ ($46A+0M$) e da constância do número diplóide de braços ($2AN=46$), fica comprovado que a variabilidade cariotípica é devida a fissões cêntricas (IMAI et alii, 1977). A variabilidade cariotípica nessa espécie já havia sido descrita anteriormente por CROZIER (1969), ao estudar populações de outras localidades, em que encontrou $n=17$, 19 e 21 , $AN=23$; $2n=41$, 42 e 43 , $2AN=46$, sendo a variabilidade encontrada nessa população o produto dos mesmos mecanismos descritos para a população estudada por IMAI et alii (1977).

Outra série de variabilidade cariotípica robertsoniana foi encontrada em *Rhytidoponera maniae*. Um estudo realizado com três colônias apresentou variação no número diplóide de $2n=39$ ($11M$), 44 ($6M$), 45 ($5M$), 46 ($4M$), 47 ($3M$) e 48 ($2M$). Essa variabilidade no número de cromossomos foi detectada tanto intra como intercolônia, enquanto o número diplóide de braços ($2AN=50$) foi o mesmo em todos os organismos

de todas as colônias, o que comprova ser esse o resultado de fissão cêntrica (IMAI et alii, 1977).

Outros polimorfismos robertsonianos que envolvem fissões cêntricas foram descritos para *Aphaenogaster longiceps* ($2n=45$ e 46), *Myrmecia forficata* ($2n=50$ e 51), *Pheidole nodus* ($n=17, 18, 19$ e 20 ; $2n=37, 38$ e 39) (IMAI e KUBOTA, 1972, 1975; IMAI et alii, 1977).

Outro caso de diferenciação cariotípica atribuída ao rearranjo do tipo fissão cêntrica foi encontrado em duas espécies de abelhas do gênero *Leurotrigona*. A espécie *L. muelleri* ($2n=16, 2K=14SM/M+2T, 2AN=30$) apresentou heterocromatina constitutiva restrita à região centromérica, enquanto em *L. pusila* ($2N=30, 2K=16SM/M+14A/T, 2AN=46$), a heterocromatina provavelmente ocupe um dos braços dos cromossomos SM/M (POMPOLO, 1992). Com base na hipótese da interação mínima de IMAI et alii (1986, 1988a, b) e diante dessas observações, a autora supôs que a diferenciação do cariótipo entre as duas espécies foi decorrente de sete fissões cêntricas, seguida de aumento da heterocromatina constitutiva.

Essa suposição se torna mais consistente quando se analisa o número de braços eucromáticos entre as duas espécies, em que se observa que ambas apresentam o mesmo número, ou seja, 30 braços cromossômicos eucromáticos.

2.2.2. Fusões em Tandem

As fusões em tandem são um tipo especial de translocação, que envolve a união de dois ou mais cromossomos, como se segue: translocação centrômero-centrômero (C-C), translocação centrômero-telômero (C-T) e translocação telômero-telômero (T-T) (HSU et alii, 1975). Recentemente, IMAI et alii (1988a, b) propuseram um sistema de

nomenclatura diferente para fusão em tandem, usando os termos braço eucromático (E) e braço heterocromático (H), e os três tipos de fusões mencionados anteriormente foram designados, respectivamente, como fusão HH, fusão EE e fusão EH. A fusão HH é sinônimo de fusão cêntrica.

Esse tipo de rearranjo é considerado raro na evolução do cariótipo, em animais (WHITE, 1973). Contudo, parece provável que alguns casos de translocação detectados em formigas possam ser explicados por esse tipo de rearranjo, como no caso de *Myrmecia pilosula* (IMAI et alii, 1984b) e em espécies do gênero *Iridomyrmex*, estudadas por CROZIER (1975). Esse rearranjo foi também sugerido por HOSHIDA et alii (1989), para explicar a origem dos cromossomos metacêntricos em espécies de vespas do gênero *Vespula* (Vespidae).

2.2.3. Inversões

As inversões são rearranjos que envolvem duas quebras em um cromossomo, seguidas de reinserção do fragmento originado de maneira invertida, alterando a ordem gênica. Quando as quebras envolvem o centrômero, a inversão é dita pericêntrica, resultando, geralmente, em modificações na morfologia cromossômica, que alteram o número fundamental, sem alteração do número diplóide. Se as quebras ocorrem no mesmo braço cromossômico, isto é, sem envolver o centrômero, a inversão é dita paracêntrica. Neste caso, não ocorrem mudanças nem na morfologia nem no número cromossômico. Existem quatro tipos, teoricamente possíveis, de inversões pericêntricas (inversões AA, AM, MA e MM),

as quais são designadas como: p.i. AA, p.i. AM, p.i. MA; e p.i. MM¹ (IMAI e MARUYAMA, 1978).

As inversões, especialmente as pericêntricas, são freqüentemente observadas em **Hymenoptera**, as quais constituem, juntamente com os rearranjos robertsonianos e o crescimento em tandem de heterocromatina constitutiva, os principais mecanismos envolvidos na evolução cariotípica de certos grupos de **Hymenoptera** (CROZIER, 1970b; IMAI e KUBOTA, 1972, 1975; IMAI et alii, 1977, 1984a, b; HOSHIBA e IMAI, 1993).

IMAI et alii (1984a), encontraram um polimorfismo que envolve inversão paricêntrica em uma colônia de *Meranoplus bicolor* ($2n=16$). O par 8 é heteromórfico e consiste de um cromossomo metacêntrico e de outro acrocêntrico (A/M), enquanto no cariótipo normal (homomórfico), esse par consiste de dois cromossomos acrocêntricos (A/A). Outro caso de polimorfismo atribuído à inversão pericêntrica foi encontrado em *Crematogaster subnuda* ($n=18$; $2N=36$), com a variação do número diplóide de braços entre 68 e 72 ($2AN=68-72$). Essa variação é também atribuída ao crescimento em tandem de heterocromatina constitutiva.

Outro caso típico de polimorfismo que envolve inversão pericêntrica foi observado em um dos cromossomos do par 1 de *Myrmecia pilosula* ($2n=10$). Os dois cromossomos desse par são subtelocêntrico nos indivíduos de uma das colônias analisadas, mas nos organismos da outra colônia esse par é constituído de um cromossomo subtelocêntrico e de outro metacêntrico (IMAI et alii, 1984a).

Em *Rhytidoponera metallica* ($2n=24$), o par 10 é heterozigoto para inversão pericêntrica, com um dos cromossomos metacêntrico e o outro submetacêntrico (M/SM). Outros exemplos de polimorfismo de inversão

¹ (i.p. AA) = inversão pericêntrica de cromossomos acrocêntricos para acrocêntricos;
 (i.p. AM) = inversão pericêntrica que converte cromossomos acrocêntricos em metacêntricos;
 (i.p. MA) = inversão pericêntrica que converte cromossomos metacêntricos em acrocêntricos e
 (i.p. MM) = inversão pericêntrica de cromossomos metacêntricos para metacêntricos.

paricêntrica foram detectados em *Monomorium sp2*, *Amblyopone australis* (IMAI et alii, 1977), *Iridomyrmex gracilis* (CROZIER, 1968), *Tapinona sessile* (CROZIER, 1970b).

2.2.4. Heterocromatina Constitutiva

O termo heterocromatina constitutiva foi proposto por Heitz (1929), citado por BIANCHI (1978), para indicar regiões dos núcleos interfásicos que apresentavam um maior grau de condensação (heteropicnose positiva).

BROWN (1966) classificou a heterocromatina em dois tipos: constitutiva e facultativa. A heterocromatina constitutiva está presente desde as primeiras divisões do óvulo fecundado, e está localizada simultaneamente nas mesmas porções dos cromossomos homólogos. A heterocromatina facultativa, contudo, aparece somente em um dos cromossomos do par e em certas etapas do desenvolvimento. O caso típico é o observado na inativação de um dos cromossomos X das fêmeas de mamíferos.

Ainda em relação à heterocromatina constitutiva, ressalta-se que essa nem sempre se localiza simultaneamente nas mesmas porções dos cromossomos homólogos, pois vários casos de polimorfismos de banda-C têm sido descritos (CELLA, 1987; IMAI et alii, 1988a, b).

A heterocromatina constitutiva é caracterizada de acordo com as seguintes propriedades: replicação tardia, ausência de genes estruturais, inatividade gênica (apresenta-se condensada durante todo o ciclo celular), DNA altamente repetitivo, tendência à associação, susceptibilidade a quebras, evidenciação pela técnica de banda-C. Entretanto, essas

propriedades nem sempre estão todas presentes ou são exclusivas da heterocromatina constitutiva (HSU, 1975; BIANCHI, 1978).

A heterocromatina constitutiva apresenta-se preferencialmente localizada nas regiões centroméricas e pericentroméricas dos cromossomos da maioria dos organismos, sendo também encontrada intersticialmente, nos telômeros, nos braços inteiros e até mesmo em todo o cromossomo (HSU, 1975; IMAI, 1991; HOSHIBA e IMAI, 1993).

Quanto à função da heterocromatina constitutiva, destacam-se: proporcionar a ocorrência de rearranjos cromossômicos, manter a estrutura cromossômica, manter a ordem estrutural do núcleo celular, favorecer o pareamento dos cromossomos homólogos na meiose e proteger as regiões geneticamente ativas (BIANCHI, 1978; VERMA, 1988). Segundo BIANCHI (1978), todas essas atribuições possuem argumentos tanto a favor como contra.

A heterocromatina constitutiva tem tido uma importante função na evolução do cariótipo dos **Hymenoptera** (IMAI, 1991; IMAI et alii, 1977, 1984a, b, 1986, 1988a, b, 1993; HOSHIBA e IMAI, 1993). Algumas diferenças cariotípicas entre espécies de **Hymenoptera** são devidas às variações na quantidade e na localização desta heterocromatina.

A diferença no número de braços cromossômicos entre as espécies *Oligomyrmex sp2* e *O. asinus*, ambas com o mesmo número de cromossomos ($2n=44$), é devida ao aumento do número de braços curtos por crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva (IMAI et alii, 1984a).

IMAI et alii (1984a) encontraram cariótipos diferentes, ao analisar duas colônias de uma espécie do grupo *Camponotus variegatus*; uma das colônias apresentou constituição cariotípica $2n=26$, $2K=6A+20M$, enquanto a outra, $2n=26$, $2K=26M$. A diferença entre as duas colônias

consiste no número diplóide de braços ($2AN=46$ na primeira e $2AN=52$ na segunda), a qual é devida à adição de heterocromatina constitutiva.

A variabilidade cariotípica em razão da flutuação no número de braços por crescimento em tandem de heterocromatina constitutiva foi também detectada em *Crematogaster subnuda* ($2n=36$). Nesta espécie, foi encontrada uma variação de até cinco no número de braços cromossômicos, em virtude da presença ou ausência de heterocromatina. Nos cariótipos em que a heterocromatina está presente, os cromossomos são metacêntricos, com um dos braços totalmente heterocromáticos, e quando ausente, os cromossomos são acrocêntricos.

Em *Solenopsis germinata*, em cinco colônias analisadas, foi observado que todas apresentavam o mesmo número cromossômico ($2n=32$), mas apresentaram variação quanto ao número de braços ($2AN=58$ a 62) (IMAI et alii, 1977, 1984a). CROZIER (1970a) descreveu essa espécie com $2n=32$ e $2AN=46$. A variabilidade do número de braços detectada nessa espécie é função da presença ou ausência da heterocromatina constitutiva em alguns cromossomos.

Outros polimorfismos de banda-C são descritos em *Myrmecia pilosula*, *Myrmecia brevinoda*, *Vallenhovia sp3*, *Podomyrma adelaidae* e *Bothroponera sp2* (IMAI et alii, 1977, 1988a).

2.2.5. Cromossomos B

Várias espécies de animais e plantas apresentam cromossomos adicionais ao do complemento básico. BATTAGLIA (1964) cita uma lista de vários nomes pelos quais são denominados tais cromossomos, entre os quais cromossomos B, cromossomos acessórios e cromossomos supernumerários. Segundo esse autor, os cromossomos B são, assim,

sumariamente caracterizados: são geralmente menores que o menor cromossomo do complemento normal, podendo, entretanto, variar bastante de tamanho; são, em geral, totalmente heterocromáticos, podendo, entretanto, ser parcialmente ou, até mesmo, totalmente eucromático; são, no mínimo, desprovidos de genes importantes para a sobrevivência; podem estar presentes ou ausentes em indivíduos de uma mesma espécie; variam entre populações, indivíduos, tecidos e células; não segregam de acordo com as leis mendelianas, apresentando comportamento instável, tanto na meiose como na mitose.

A origem dos cromossomos supernumerários é um assunto bastante controverso. VOLOBUJEV (1981) relata que existem duas hipóteses para explicar a origem de cromossomos B. Uma admite que tais cromossomos são remanescentes de rearranjos estruturais que ocorreram na evolução do cariótipo da forma ancestral. A outra admite que eles podem resultar de não-disjunção dos cromossomos autossomais ou sexuais, seguida da inativação gênica.

São poucos os casos descritos de cromossomos supernumerários em **Hymenoptera**, e parece pouco provável que eles tenham contribuído significativamente para a evolução cariotípica deste grupo.

Entre as formigas, os cromossomos B foram encontrados em *Leptothorax spinosior* (IMAI, 1974), *Aphaenogaster rudis* (CROZIER, 1975), *Podomyrma adelaidae* (IMAI et alii, 1977), *Pseudolasius sp2* e *Prenolepis jerdoni* (IMAI et alii, 1984a). PALOMEQUE et alii (1993) descreveram a presença de um segmento cromossômico supernumerário em *Aphaenogaster iberica* (n=17) e *A. senilis* (n=16).

O sistema de cromossomos supernumerários foi também encontrado na abelha sem ferrão *Partamona cupira*, com até três cromossomos B presentes (COSTA et alii, 1992).

2.2.6. Translocação

Em virtude do alto índice de gametas aneuplóides em heterozigotos, a ocorrência de polimorfismo de translocação recíproca do tipo não-robertsoniano é considerada rara (WHITE, 1973). Apesar disso, esse rearranjo tem sido freqüentemente detectado em formigas.

IMAI et alii (1988a) sugeriram que a translocação talvez seja menos deletéria em formigas do que em outros animais.

Em *Ponera scabra*, por exemplo, uma translocação heterozigota tem sido observada por mais de 15 anos na população de Manuzuru. O cariótipo normal é constituído de quatro cromossomos submetacêntricos ($n=4$, $K=4SM$), enquanto o cariótipo mutante é constituído de dois cromossomos submetacêntricos e um metacêntrico ($n=3$, $K=2SM+1M$), decorrente de uma translocação entre o braço curto do cromossomo 3 e o braço longo do cromossomo 4 do cariótipo normal. O cromossomo mutante é simbolizado por T(3,4) (IMAI e KUBOTA, 1972; IMAI et alii, 1988a).

IMAI et alii (1984a) detectaram, em *Tetramorium sp3*, o que eles chamaram de um complicado polimorfismo cromossômico. Em três colônias analisadas, todas apresentaram número cromossômico ímpar ($2n=35$), sendo o cariótipo diplóide constituído de 12 pares de cromossomos acrocêntricos, três pares de metacêntricos e os outros cinco cromossomos restantes (3M e 2A) não pareiam. Em uma das colônias, foi observada uma célula com um diminuto cromossomo metacêntrico (m), assim, $2n=36$. Esse polimorfismo é decorrente de duas fissões cêntricas e uma fusão cêntrica, o que resulta em trocas de braços entre cromossomos não-homólogos e na eliminação de um diminuto cromossomo (m).

Outro exemplo típico de polimorfismo de translocação foi encontrado em *Myrmecia piliventris*. Da análise de uma colônia, três

indivíduos, sendo dois machos e uma fêmea, apresentaram variação no número de cromossomos. Um dos machos tinha o cariótipo constituído de dois grandes cromossomos subtelocêntricos e um pequeno metacêntrico ($n=3$, $K=2ST+1M$). O cariótipo da fêmea era constituído por quatro grandes cromossomos subtelocêntricos e dois pequenos metacêntricos ($2n=6$, $2K=4ST+2M$). Já o outro macho tinha um cariótipo completamente diferente do primeiro, tanto numericamente quanto morfológicamente, sendo constituído por um cromossomo metacêntrico extremamente grande, dois pequenos telocêntricos e um pequeno metacêntrico ($n=4$, $K=2ST+2M$). A análise de banca-C revelou que o braço longo dos pequenos telocêntricos é inteiramente banda-C positiva e que o braço eucromático do grande metacêntrico e o braço longo heterocromático dos dois pequenos telocêntricos no cariótipo do macho ($n=4$), juntos, correspondem aproximadamente, em tamanho, àquela região de eucromatina e heterocromatina dos grandes subtelocêntricos do cariótipo do macho ($n=3$). O macho mutante ($n=4$) é resultado de uma translocação recíproca incompleta, a qual ocorreu entre os braços longos dos dois grandes subtelocêntricos do cariótipo do macho ($n=3$) (IMAI et alii, 1984a).

A variabilidade cariotípica em razão do polimorfismo de translocação foi também detectada em *Camponotus dolensis*, *C. mitis*, *Iridomyrmex sp15*, *Pheidole sp29*, *P. sp30*, *Triglyphothrix lanuginosa*, *T. walsi*, *Monomorium indicum*, *Brachyponera sp*, *Thyridoponera metallica*, *Myrmecia pilosula* (IMAI e KUBOTA, 1972; IMAI et alii, 1977, 1984a, b; GONI et alii, 1983; CROSLAND e CROZIER, 1986).

2.3. Evolução do Cariótipo nos *Hymenoptera*

A primeira hipótese para explicar a variação do número cromossômico dentro da ordem **Hymenoptera** foi proposta por KERR (1952, 1969), com relação às abelhas sociais. O autor enfatizou a possibilidade de variação cromossômica por poliploidia, fusões robertsonianas e duplicação como os principais mecanismos envolvidos nas alterações cromossômicas nos apídeos sociais. Posteriormente, KERR (1972), KERR e SILVEIRA (1972), SILVEIRA (1971, 1972) e TARELHO (1973), com base, principalmente, em dados de **Meliponinae**, forneceram mais argumentos que reforçam a hipótese. A hipótese pressupõe que o cariótipo das abelhas sociais e, provavelmente, o de todas as demais tenham n (número haplóide de cromossomos) igual a 8, e que as mudanças que ocorreram no cariótipo, quer sejam numéricas ou estruturais, foram ocasionadas principalmente por poliploidia, sendo secundariamente atribuídas aos rearranjos robertsonianos.

Uma segunda hipótese foi proposta por IMAI et alii (1986, 1988a), com base, principalmente, nas observações dos dados citogenéticos obtidos na família **Formicidae**, que inclui 95 gêneros e mais de 500 espécies (CROZIER, 1975; IMAI et alii, 1977, 1984a, b, 1986, 1988a; IMAI, 1971, 1986; CROSLAND e CROZIER, 1986), em que foi observado uma distribuição não-aleatória de polimorfismo de translocação e robertsoniano nas espécies com número cromossômico baixo ($n \leq 12$) e alto ($n > 12$), respectivamente.

Diante de tal situação, esses autores propuseram a hipótese denominada de "hipótese da interação mínima", segundo a qual os eucariotos têm evoluído no sentido de minimizar os riscos genéticos ocasionados por mutações cromossômicas espontâneas, principalmente a

translocação recíproca, que tende a reduzir o "fitness" em heterozigotos. Isto é, os organismos estão evoluindo em direção ao aumento do número de cromossomos, por rearranjos robertsonianos do tipo fissão cêntrica, diminuindo, assim, o tamanho dos cromossomos, e, conseqüentemente, as interações entre si.

Como já foi mencionado anteriormente (página 10), o mecanismo da fissão cêntrica, no qual essa hipótese se baseia, foi muito questionado. Contudo, os argumentos mais fortes contra esse mecanismo já não oferecem mais obstáculos, uma vez que foram comprovados serem inexistentes (COMINGS e OKADA, 1970). No entanto, um ponto ainda questionado é quanto à estabilidade do telômero de cromossomos telocêntricos. Acredita-se, ainda hoje, que de fato o telômero desses cromossomos confira uma certa instabilidade, mas que esses cromossomos são capazes de se manterem na população por algumas gerações, até que ocorra algum mecanismo no sentido de reestabelecer a sua estabilidade.

De acordo com a hipótese da interação mínima, o mecanismo para reestabelecer a estabilidade do telômero de cromossomos telocêntricos, após terem sido originados de outro tipo de cromossomo (meta ou submetacêntricos), por fissão cêntrica, seria o crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva, que o converteria para acrocêntrico, e, em alguns casos, para submetacêntrico, metacêntrico ou mesmo em um cromossomo onde o braço heterocromático seja maior que o eucromático, isto é, cromossomo pseudo-acrocêntrico (A^M), e a inversão pericêntrica e a deleção de heterocromatina constitutiva converteriam esses cromossomos em outros tipos, sendo que o ciclo se iniciaria outra vez.

Família: Sphecidae

Subfamília: Larrinae

Tribo: Trypoxiloini

Gênero: *Trypoxylon*

Subgênero: *Trypoxylon* Latreille, 1796

Trypoxylon sp1

Trypoxylon azuacicola Strand, 1910

Trypoxylon fabricator F. Smith, 1973

3. MATERIAL E MÉTODOS

Subgênero: *Trypargilum* Richards, 1934

Trypoxylon nitidum F. Smith, 1856

Trypoxylon laciniarse Saussure, 1867

Trypoxylon sp3

3.1. Material

Foram estudados citogeneticamente 256 exemplares de vespas da família **Sphecidae** (gênero *Trypoxylon* - subgêneros: *Trypoxylon* e *Trypargilum*), pertencentes a nove espécies, procedentes dos Estados do Amazonas, Minas Gerais e São Paulo. A posição taxonômica dos organismos estudados é apresentada a seguir, de acordo com BOHART e MENKE (1976):

Filo: **Arthropoda**

Classe: **Insecta**

Subclasse: **Pterygota**

Ordem: **Hymenoptera**

Subordem: **Apocrita**

Superfamília: **Sphecoidea**

Família: **Sphecidae**

Subfamília: **Larrinae**

Tribo: **Trypoxylonini**

Gênero: *Trypoxylon*

Sugênero: *Trypoxylon* Latreille, 1796

Trypoxylon sp1

Trypoxylon asuncicola Strand, 1910

Trypoxylon fabricator F. Smith, 1973

Subgênero: *Trypargilum* Richards, 1934

Trypoxylon nitidum F. Smith, 1856

Trypoxylon lactitarse Saussure, 1867

Trypoxylon sp3

Trypoxylon sp2

Trypoxylon sp4

Trypoxylon albitarse Fabricius, 1804.

A determinação taxonômica dos espécimes foi feita pelo MS. Sérgio Túlio Pires Amarantes (Museu de Zoologia, USP), e esses estão depositados na coleção entomológica do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa.

3.2. Métodos

3.2.1. Obtenção do Material

Este trabalho foi executado na cidade de Viçosa-MG. As coletas de espécies que constroem ninhos externos foram feitas mediante a procura em paredes, portas, janelas, lustres, caibros de madeiras e fiações elétricas de prédios e casas do meio urbano e rural. As coletas de espécies que nidificam em cavidades preexistentes foram realizadas por meio de técnica de ninhos-armadilhas (KROMBEIN, 1967). Esses são constituídos por blocos de madeira perfurada ou bambu, de comprimento e diâmetro variáveis, nos quais as vespas constroem seus ninhos. Esses blocos foram colocados em diferentes locais da Região de Viçosa, tendo sido periodicamente inspecionados. Após localizados, cada ninho foi observado, para saber se estava ativo ou não, ou se estavam em fase de construção. Somente ninhos ativos e operculados foram coletados e levados para o laboratório, onde foram selecionados os indivíduos na fase de prepupa, para realização dos estudos citogenéticos.

Os ninhos coletados com larvas ainda muito jovens (que não tinham atingido a fase de prepupa) foram mantidos no laboratório, em estufa incubadora a 28° C, até atingirem a fase desejada. O mesmo procedimento foi feito com os ninhos onde os indivíduos estavam em diapausa, fenômeno muito comum durante os meses mais frios do ano.

Os ninhos obtidos de outros locais do Brasil também foram incluídos neste trabalho.

De cada ninho, pelo menos um indivíduo foi deixado emergir, para, posteriormente, ser identificado por especialista.

3.2.2. Preparação Citogenética do Material

Para obtenção de metáfase com boa definição, foram empregados os procedimentos técnicos desenvolvidos por IMAI et alii (1988a), que têm sido os mais eficientes para insetos da ordem **Hymenoptera**.

A seguir, são descritos esses procedimentos:

- sob um estereomicroscópio, as larvas que já defecaram são dissecadas com o auxílio de estiletos, sobre lâmina para microscopia, em solução hipotônica (solução de citrato de sódio 1%) ou diretamente em solução de colchicina-hipotônica 0,005% (0,5 ml de solução de colchicina a 0,1% / 9,5 ml de solução de citrato de sódio a 1%). O gânglio cerebral e, ou, as gônadas são retirados, removendo-se ao máximo o corpo gorduroso associado;
- esses órgãos são transferidos para uma solução de colchicina hipotônica, deixando-os de três a quatro horas;
- com o auxílio de uma pipeta Pasteur, transfere-se, individualmente, cada órgão para uma lâmina de microscopia (virgem - previamente limpa em solução sulfocrômica, lavada em detergente neutro e seca), inclinando-a num ângulo de 10 a 20 graus, para drenar o máximo de solução colchicina-hipotônica. Com a lâmina inclinada, pingam-se várias gotas de fixador I (três partes de etanol: três partes de ácido acético: quatro partes de água destilada) sobre o material e por toda a lâmina, removendo o dreno com papel-filtro;
- sob estereomicroscópio, com a lâmina na horizontal, aplicam-se mais duas gotas de fixador I diretamente sobre o material. Em seguida, dissocia-se rapidamente o órgão, com o uso de um estilete de dissecação, para separar as células e espalhar o material pela lâmina;

- antes que o fixador I seque, pingam-se duas gotas do fixador II (etanol absoluto: ácido acético, 1:1) sobre o material, e com papel-filtro remove-se o fixador I, que é empurrado para as bordas da lâmina pelo fixador II;

- assim que o fixador II ocupar toda a superfície da lâmina e estiver parcialmente evaporado, aplicam-se duas gotas do fixador III (ácido acético 100%), e com papel-filtro remove-se o fixador II, que é empurrado para as bordas da lâmina pelo fixador III. A lâmina é deixada secar completamente, à temperatura ambiente, sendo, posteriormente, mantida protegida de poeira. Após 24 horas, a preparação é coroadada com solução de Giemsa, em tampão Sørensen, pH 6,8, na proporção de 1:30, respectivamente, por 20 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, lava-se cuidadosamente em água corrente. As lâminas a serem submetidas à técnica de bandamento são guardadas por três dias, sem serem coroadas.

3.2.3. Técnica de Bandamento-C

Os procedimentos usados para a obtenção de bandas-C foram os de SUMMER (1972), de acordo com as modificações propostas por POMPOLO e TAKAHASHI (1990a). Esses procedimentos envolvem os seguintes tratamentos:

Após decorridos os três dias de preparação, as lâminas são:

1. hidrolisadas, mergulhando-as em solução de HCl 0,2 N, à temperatura ambiente, por tempo variável (3 a 5 minutos);
2. lavadas em água destilada, por aproximadamente 30 segundos;
3. mergulhadas em solução de $\text{Ba}(\text{OH})_2$ 5%, em banho-maria, a 60° C, por tempo variável (5 a 7 minutos);

4. lavadas em HCl 0,2 N por cerca de 30 segundos e, em seguida, em água destilada;
5. mergulhadas em solução de 2 X SSC (solução salina de citrato de sódio e cloreto de sódio), pH 7,0, em banho-maria, a 60° C, por tempo variável (6 a 8 minutos), e, em seguida, em água destilada;
6. coroadas com solução de Giemsa (MERCK), em tampão fosfato (0,01 M), pH 6,8, a 8%. Em seguida, lavadas cuidadosamente em água corrente.

Vale ressaltar que algumas bandas-C foram obtidas a partir de lâminas preparadas em coloração convencional. Depois de analisadas e fotografadas, as lâminas foram postas inclinadas sobre papel-filtro, para drenar o óleo de imersão, e posteriormente lavadas numa bateria de três frascos com xilol, por 5 minutos em cada um, deixando-as completamente limpas. Depois de secas, as lâminas foram submetidas aos procedimentos descritos anteriormente, para obtenção de bandas-C, sendo que a descoloração é realizada quando a mesma é mergulhada na solução de HCl 0,2 N, referente ao primeiro procedimento da técnica, seguindo-se normalmente os demais procedimentos.

3.2.4. *Análise do Material*

As lâminas foram analisadas em um microscópio, sob objetiva de imersão. A análise minuciosa de metáfases completas foi feita, desenhando-as esquematicamente e identificando os cromossomos quanto à sua morfologia. Foram selecionadas as melhores metáfases, que foram fotografadas. Para isso, foi utilizado um fotomicroscópio Zeiss, em objetiva de imersão, com optovar de 1,25, com ou sem filtro verde. O filme utilizado foi AGFA

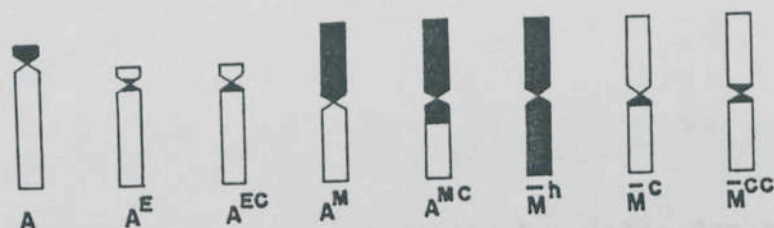
COPEX PAN A.H.U. As revelações foram feitas em D-72, à temperatura ambiente. Os negativos foram ampliados, todos na mesma proporção, e copiados em papel KODABROMIDE F-3, tendo sido usado o revelador já mencionado.

A documentação dos cariótipos foi feita a partir de complementos cromossômicos completos, obtidos por meio de fotos, recortados e dispostos em forma de cariograma, tendo sido levados em conta a morfologia e o tamanho dos cromossomos. A caracterização morfológica foi feita com base na posição bem-definida dos centrômeros. O cariótipo foi montado, ao dispor os cromossomos em ordem decrescente de tamanho das regiões eucromáticas:

Para a descrição da morfologia dos cromossomos, foi seguido o sistema de classificação usado por IMAI (1991) (Figura 1). Para a descrição do número de cromossomos e de braços, foram usados os termos propostos por IMAI e CROZIER (1980) e por IMAI et alii (1984a), em que 2N e 2AN correspondem ao número cromossômico diplóide e ao número diplóide de braços, respectivamente, e N e AN, aos casos haplóides.

FONTE: IMAI (1991).

FIGURA 1 - Representação Esquemática e Nomenclatura Unida para os Tipos de Cromossomos Encontrados nas Espécies de *Trypoxylon* Estadenses. De Acordo com o Padrão de Distribuição de Heterocromatina Esquematizada.



- A Cromossomo acrocêntrico com braço curto heterocromático.
- A^E Cromossomo acrocêntrico com ambos os braços eucromáticos.
- A^{Ec} Cromossomo acrocêntrico com heterocromatina na região proximal do centrômero do braço maior.
- A^M Cromossomo acrocêntrico (pseudo-acrocêntrico) com o braço curto altamente desenvolvido, em razão do crescimento da heterocromatina constitutiva, podendo ser muitas vezes maior que o braço eucromático.
- A^{Mc} Cromossomo acrocêntrico (pseudo-acrocêntrico) com um dos braços totalmente heterocromático e com bloco de heterocromatina na região proximal do centrômero do braço eucromático.
- \overline{M}^h Cromossomo meta ou submetacêntrico totalmente heterocromático.
- \overline{M}^c Cromossomo meta ou submetacêntrico com bloco de heterocromatina na região proximal do centrômero de um dos braços.
- \overline{M}^{cc} Cromossomo meta ou submetacêntrico com bloco de heterocromatina na região proximal do centrômero de ambos os braços.

FONTE: IMAI (1991).

FIGURA 1 - Representação Esquemática e Nomenclatura Usada para os Tipos de Cromossomos Encontrados nas Espécies de *Trypoxylon* Estudadas, de Acordo com o Padrão de Distribuição de Heterocromatina Constitutiva.

4. RESULTADOS

Inicialmente, serão apresentadas as descrições dos cariótipos de cada uma das espécies estudadas, e posteriormente será feita uma análise conjunta e comparativa entre elas. Serão apresentadas alguns cariogramas, devendo ser ressaltado que a montagem não seguiu um padrão convencional, uma vez que a disposição que foi adotada pareceu ser a mais adequada para a análise comparativa dos cariótipos das espécies. No sistema de classificação dos cromossomos, não foi considerado o tipo telocêntrico, sendo os assim prováveis considerados como acrocêntricos.

4.1. *Descrição dos Cariótipos*

4.1.1. *Subgênero Trypoxylon*

4.1.1.1. *Trypoxylon (Trypoxylon) sp1*

Para o estudo citogenético desta espécie, foram utilizados três indivíduos fêmeas, oriundos de um único ninho. A determinação do

complemento diplóide de $2n=32$ cromossomos resultou da análise de 65 células metafásicas. O cariótipo é constituído de seis cromossomos pseudo-acrocêntricos A^M (pares 1, 8 e 10) e 26 acrocêntricos A , com a seguinte fórmula cariotípica: $2K=6A^M + 26A$, e o número diplóide de braços é $2AN=38$ (Figura 2 e Quadro 1).

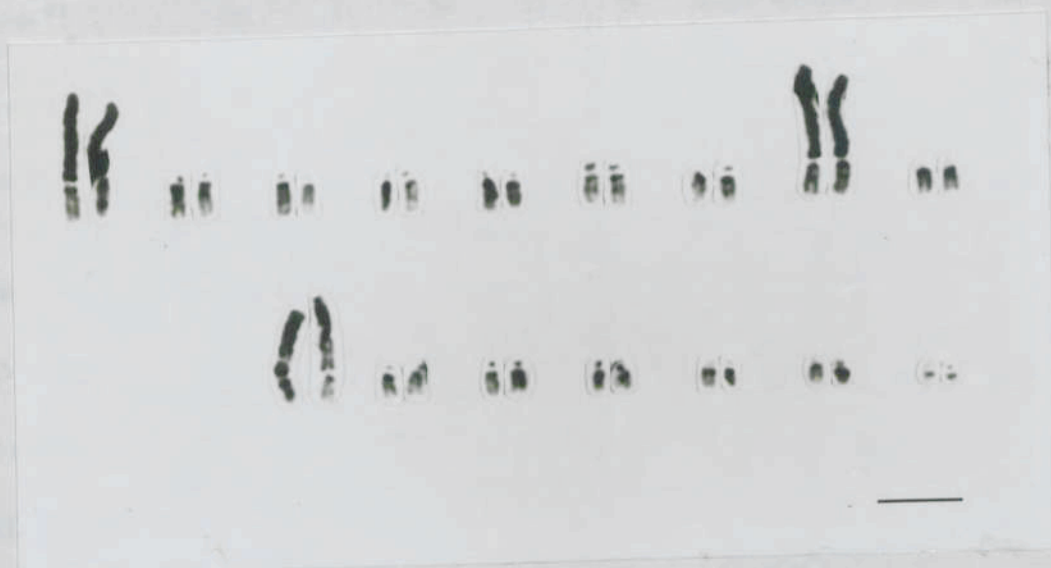


FIGURA 2 - *Trypoxylon (Trypoxylon) sp1*. Cariótipo de Fêmea ($2n=32$ Cromossomos), em Coloração Convencional (Barra = 5 μ m).

Em decorrência da dificuldade de obter um maior número de indivíduos dessa espécie, não foi possível fazer a análise de banda-C. Contudo, mesmo em preparação convencional, pode-se inferir sobre a distribuição da heterocromatina constitutiva, uma vez que os cromossomos apresentaram regiões com tonalidade de coloração diferenciada. Os padrões de coloração diferenciada indicam que a heterocromatina constitutiva está localizada em toda a extensão de um dos braços (braços maiores) nos cromossomos pseudo-acrocêntricos A^M e no braço curto e na

QUADRO 1 - Dados Referentes aos Locais de Coletas, ao Número de Ninhos, de Indivíduos e de Cromossomos, à Fórmula Cariotípica e ao Número de Braços, em Nove Espécies de Vespas do Gênero *Trypoxylon*

Espécies	Nº de Ninhos	Nº de Indivíduos		Nº de Cromossomos		Fórmula Cariotípica	Nº de Braços
		♂	♀	(n)	(2n)		
<i>T. sp1</i> *4	1	-	3	-	32	$2K=6A^M+26A$	2AN = 38
<i>T. asuncicola</i> *1-3	8	12	20	16	32	$2K=4A^M+2A^{Mc}+2\overline{M}^c+24A$	2AN = 40
<i>T. fabricator</i> *1	2	2	6	16	32	$2K=14A^M+4A^{Mc}+12A+2\overline{M}^h$	2AN = 52
<i>T. nitidum</i> #1	11	11	30	15	30	$2K=10A^M+18A+2\overline{M}^{cc}$	2AN = 42
<i>T. lactitarse</i> #1	14	18	30	15	30	$2K=28A^{Mc}+2\overline{M}^{cc}$	2AN = 60
<i>T. sp3</i> #1	1	2	-	15	-	$K=3A^M+10A+2\overline{M}^{cc}$	AN = 20
<i>T. sp2</i> #1	2	-	9	-	32	$2K=2A^M+18A^{Mc}+12A$	2AN = 52
<i>T. sp4</i> #1	1	2	4	16	32	$2K=2A^{Mc}+30A$	2AN = 34
<i>T. albitarse</i> #1-2-5	24	29	38	16-17	32 e	$2K=28A+2A^M+2\overline{M}^h$	2AN = 36
					34	$2K=28A+2A^M+4\overline{M}^h$	2AN = 40

Locais:**Subgêneros:****Siglas:**

Viçosa-MG (1)

Trypoxylon (*)

AN = número de braços do cariótipo haplóide.

Juiz de Fora (2)

Trypargilum (#)

2AN = número de braços do cariótipo diplóide.

Mariana-MG (3)

K = para representar a fórmula cariotípica do cariótipo haplóide.

Manaus-AM (4)

2K = para representar a fórmula cariotípica do cariótipo diplóide.

São Paulo-SP (5)

região pericentrométrica nos cromossomos acrocêntricos A (Figura 5(A)).

Em outras espécies, para as quais foi empregada a técnica de banda-C, ficou confirmado que quando em coloração convencional os cromossomos exibiam tonalidades de coloração diferenciada; as regiões mais escuras correspondiam às de heterocromatina constitutiva.

4.1.1.2. *Trypoxylon (Trypoxylon) asuncicola*

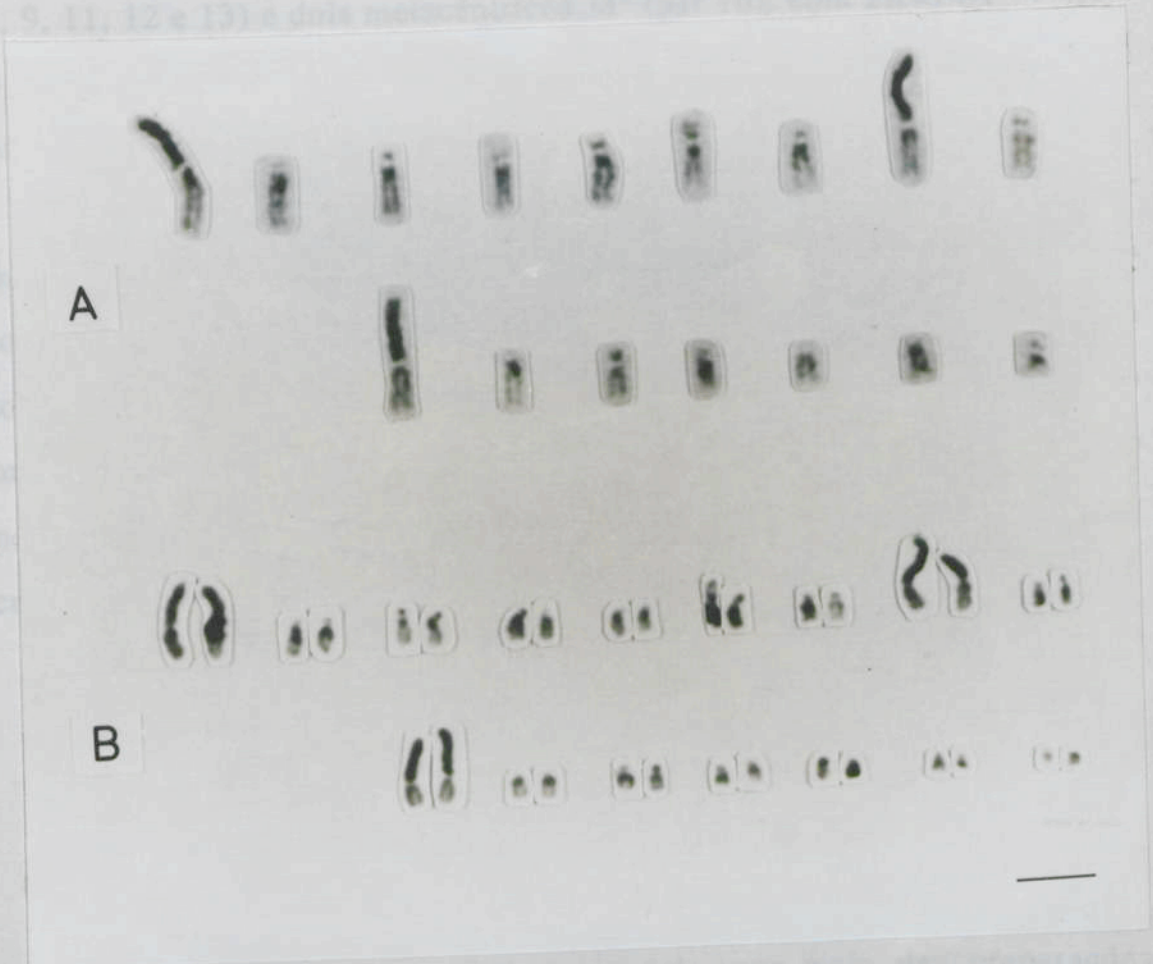
Desta espécie, foram analisados oito ninhos, totalizando 32 indivíduos (12 machos e 20 fêmeas). De cada indivíduo, foram analisadas no mínimo 15 células metafásicas. Foi determinado que essa espécie apresenta número cromossômico $n=16$ e $2n=32$. O cariótipo consiste de seis cromossomos pseudo-acrocêntricos, sendo quatro A^M (pares 8 e 10) e dois A^{Mc} (par 1), dois submetacêntricos \overline{M}^c (par 6) e 24 acrocêntricos A, com a seguinte fórmula cariotípica: $2K = 4A^M + 2A^{Mc} + 2\overline{M}^c + 24A$, e $2AN=40$ é o número diplóide de braços (Figura 3(A, B) e Quadro 1).

A identificação de todos os pares cromossômicos foi determinada com maior precisão por meio dos padrões de bandas-C. A análise desses padrões revelou que a heterocromatina constitutiva ocupa toda a extensão de um dos braços dos cromossomos A^M , toda a extensão de um dos braços e a região proximal do centrômero do outro braço nos cromossomos A^{Mc} , a região proximal do centrômero de um dos braços do par metacêntrico \overline{M}^c e o braço curto e a região pericentrométrica na maioria dos cromossomos acrocêntricos (A) (Figuras 3(A, B) e Figura 5(B)).

4.1.13. *Trypoxylon (Trypoxylon) fabricator*

O estudo citogenético para esta espécie consistiu na análise de oito indivíduos (dois machos e seis fêmeas), provenientes de dois ninhos.

Foram analisadas 144 células metafásicas, aproximadamente 18 por indivíduo, e foi determinado para essa espécie um complemento haploide igual a 16 e diplóide, igual a 32 cromossomos. O cariótipo é constituído de 18 cromossomos pseudo-acrocêntricos, sendo 14 A^B (pares 1, 2, 3, 4, 5, 8 e 13) e 4 A^{AB} (pares 14 e 15), 12 acrocêntricos A (pares 6, 7, 9, 11, 12 e 13) e dois metacêntricos B^B (par 16), com $2K+14A^B+12A+2B^B$.



A) Padrões de bandas-C, no cariótipo de macho ($n = 16$). B) Cariótipo de fêmea ($2n = 32$), em coloração convencional (Barras = $5 \mu m$).

FIGURA 3 - *Trypoxylon (Trypoxylon) asuncicola*.

4.1.1.3. *Trypoxylon (Trypoxylon) fabricator*

O estudo citogenético para esta espécie consistiu na análise de oito indivíduos (dois machos e seis fêmeas), provenientes de dois ninhos.

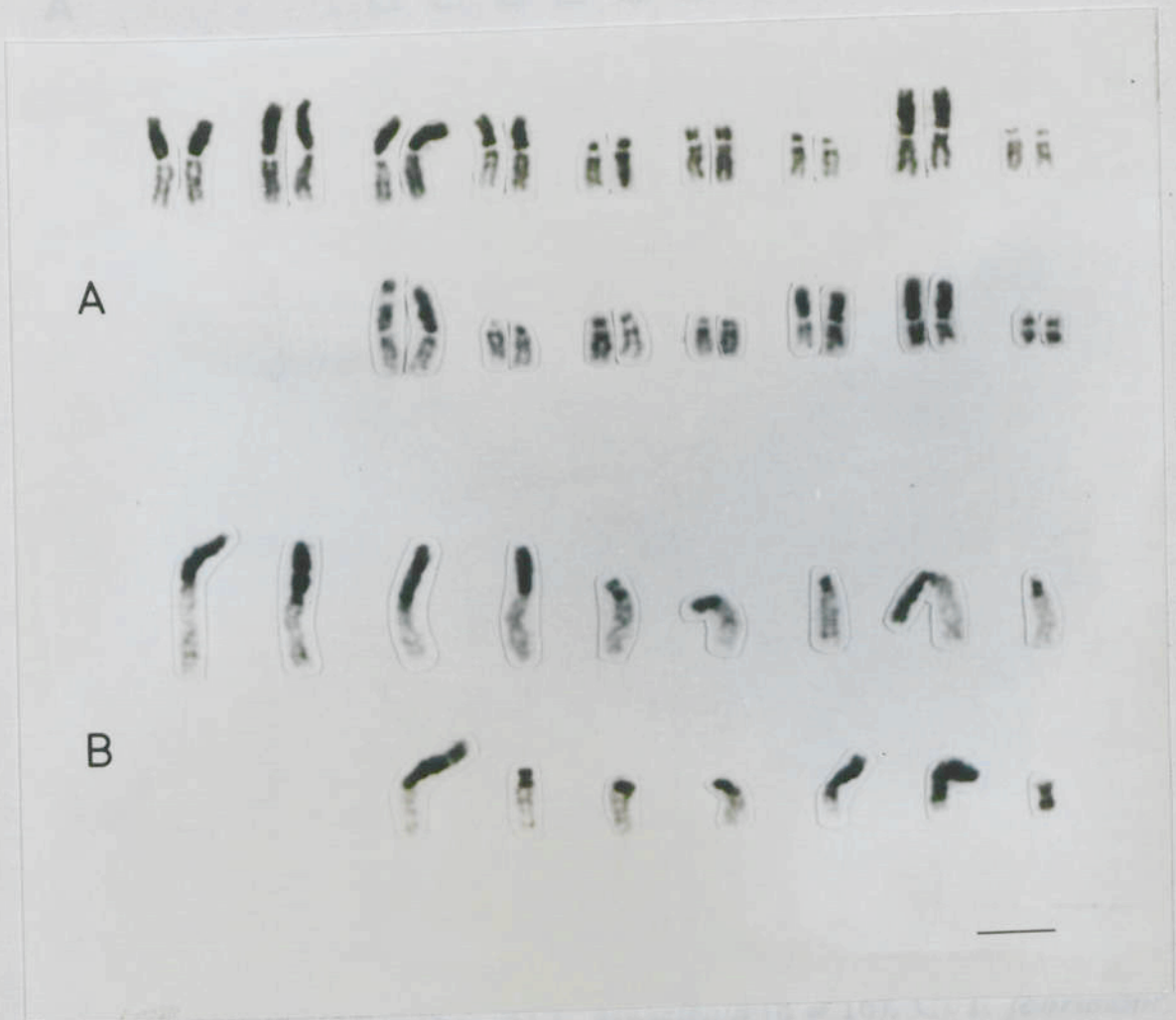
Foram analisadas 144 células metafásicas, aproximadamente 18 por indivíduo, e foi determinado para essa espécie um complemento haplóide igual a 16 e diplóide, igual a 32 cromossomos. O cariótipo é constituído de 18 cromossomos pseudo-acrocêntricos, sendo 14 A^M (pares 1, 2, 3, 4, 6, 8 e 10) e 4 A^{Mc} (pares 14 e 15), 12 acrocêntricos A (pares 5, 7, 9, 11, 12 e 13) e dois metacêntricos \overline{M}^h (par 16), com $2K=14A^M + 4A^{Mc} + 12A + 2\overline{M}^h$ e $2AN=52$, os quais representam a fórmula cariotípica e o número diplóide de braços, respectivamente (Figura 4(A, B) e Quadro 1).

A identificação de todos os pares cromossômicos foi possível por meio dos padrões de bandas-C. A heterocromatina constitutiva está localizada em toda a extensão de um dos braços nos cromossomos A^M , em toda a extensão de um dos braços e na região proximal do centrômero do outro braço dos cromossomos A^{Mc} , no braço curto e na região pericentrométrica nos acrocêntricos A e em toda a extensão dos cromossomos metacêntricos \overline{M}^h (Figuras 4(A, B) e Figura 5(C)).

4.1.2. *Subgênero Trypargilum*

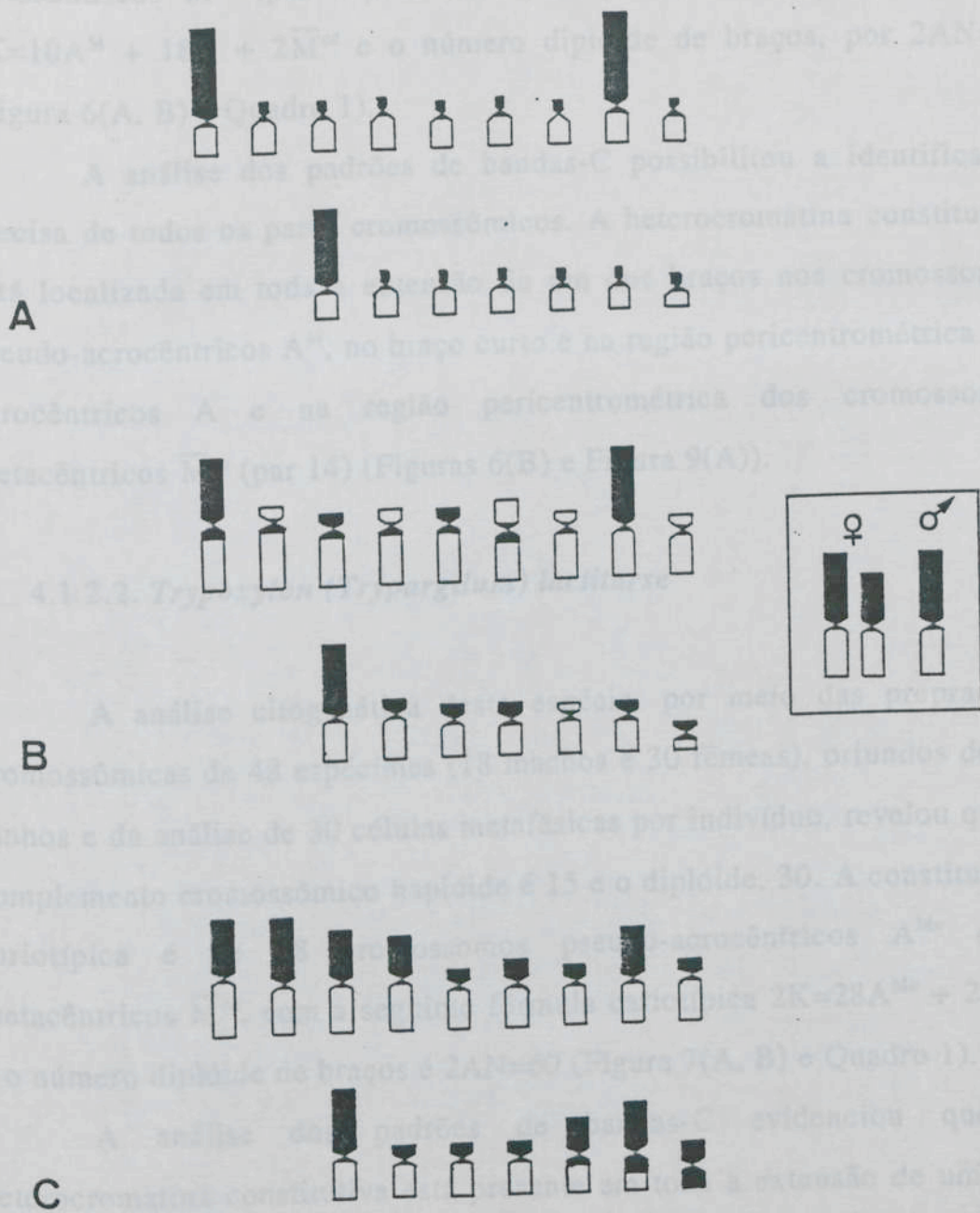
4.1.2.1. *Trypoxylon (Trypargilum) nitidum*

O estudo citogenético desta espécie, por meio das preparações cromossômicas de 41 exemplares (11 machos e 30 fêmeas), obtidos de 11 ninhos e da análise de 30 células metafásicas, em média, por indivíduo, revelou o número haplóide igual a 15 e o diplóide, igual a 30



A) Cariótipo de fêmea ($2n = 32$), em coloração convencional. B) Padrões de bandas-C, no cariótipo de macho ($n = 16$) (Barras = $5 \mu\text{m}$).

FIGURA 4 - *Trypoxylon (Trypoxylon) fabricator*.



A) *Trypoxylon sp1* (n = 16). B) *T. asuncicola* (n = 16). C) *T. fabricator* (n = 16). No retângulo, estão representados os tipos de cromossomos 1, encontrados nos cariótipos diplóide (♀) e haplóide (♂) de *T. asuncicola*. A distribuição da heterocromatina de *T. sp1* é baseada no padrão de coloração diferenciada, observada em algumas metáfases.

FIGURA 5 - Idiograma e Padrões de Distribuição de Bandas-C.

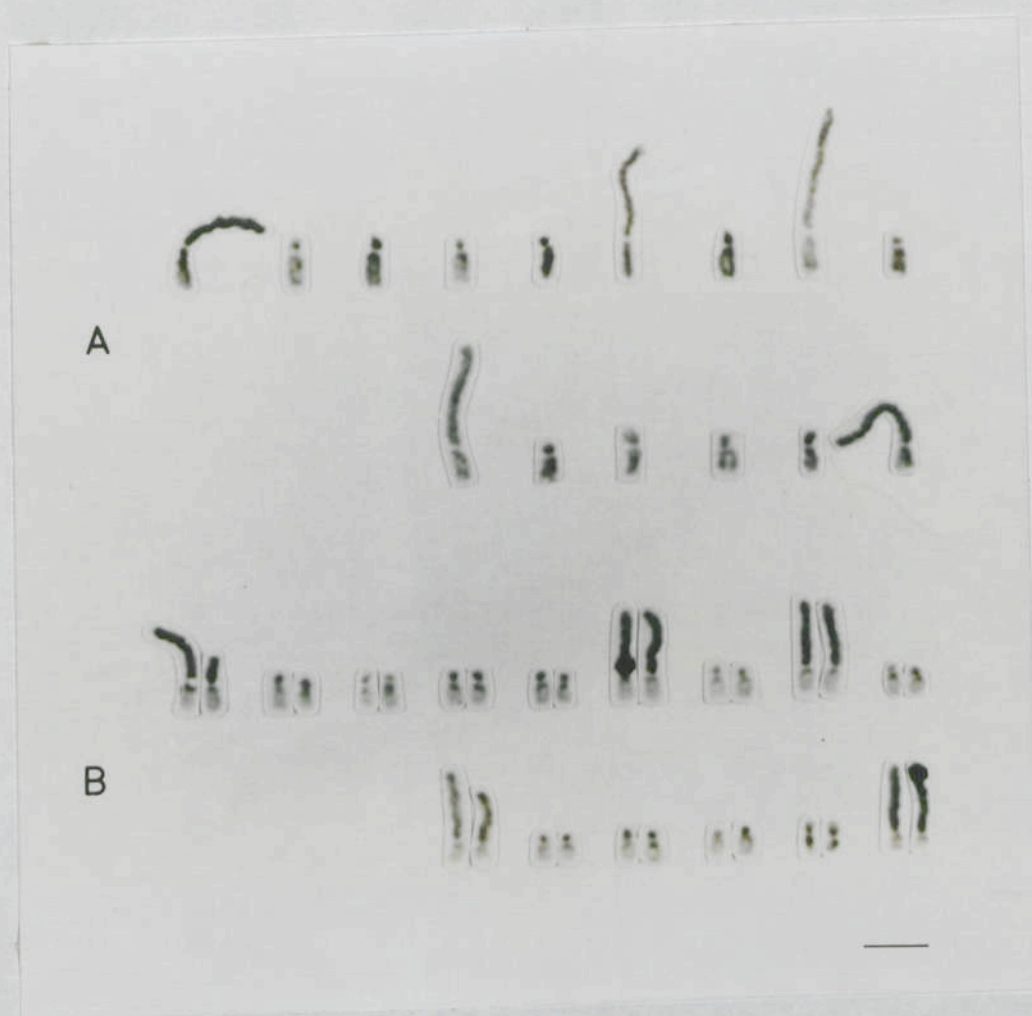
cromossomos. O cariótipo é representado por 10 cromossomos pseudo-acrocêntricos A^M (pares 1, 6, 8, 10 e 15), 18 acrocêntricos A e dois metacêntricos \overline{M}^{cc} (par 14). A fórmula cariotípica é representada por $2K=10A^M + 18A + 2\overline{M}^{cc}$ e o número diplóide de braços, por $2AN=42$ (Figura 6(A, B) e Quadro 1).

A análise dos padrões de bandas-C possibilitou a identificação precisa de todos os pares cromossômicos. A heterocromatina constitutiva está localizada em toda a extensão de um dos braços nos cromossomos pseudo-acrocêntricos A^M , no braço curto e na região pericentrométrica dos acrocêntricos A e na região pericentrométrica dos cromossomos metacêntricos \overline{M}^{cc} (par 14) (Figuras 6(B) e Figura 9(A)).

4.1.2.2. *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse*

A análise citogenética desta espécie, por meio das preparações cromossômicas de 48 espécimes (18 machos e 30 fêmeas), oriundos de 14 ninhos e da análise de 30 células metafásicas por indivíduo, revelou que o complemento cromossômico haplóide é 15 e o diplóide, 30. A constituição cariotípica é de 28 cromossomos pseudo-acrocêntricos A^{Mc} e 2 metacêntricos \overline{M}^{cc} , com a seguinte fórmula cariotípica $2K=28A^{Mc} + 2\overline{M}^{cc}$, e o número diplóide de braços é $2AN=60$ (Figura 7(A, B) e Quadro 1).

A análise dos padrões de bandas-C evidenciou que a heterocromatina constitutiva está presente em toda a extensão de um dos braços e na região proximal do centrômero do outro braço nos cromossomos pseudo-acrocêntricos A^{Mc} e na região pericentrométrica do par metacêntrico \overline{M}^{cc} (par 1) (Figuras 7(A, B) e 9(B)). A identificação dos homólogos foi facilitada por meio dos padrões de bandas-C.



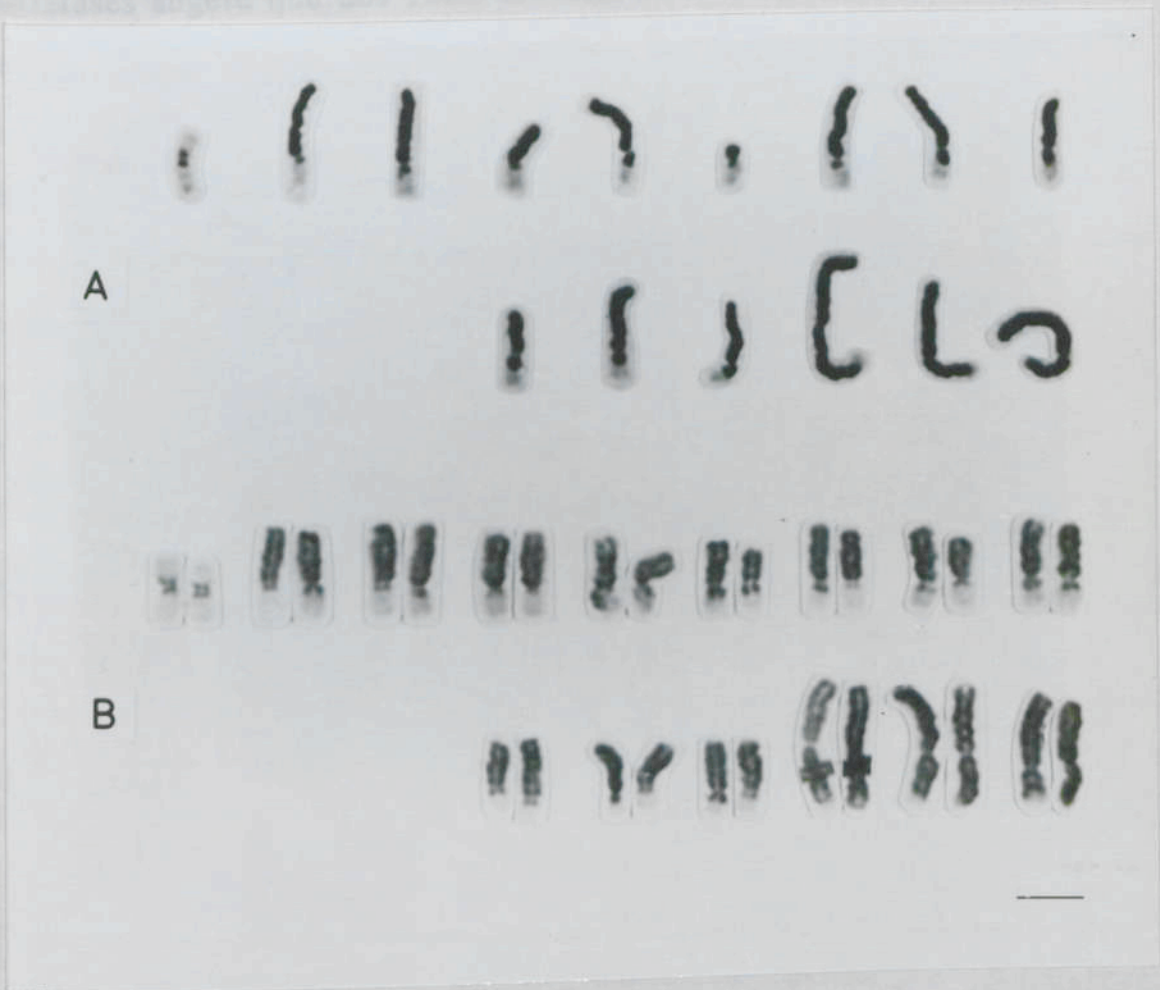
A) Cariótipo de macho ($n = 15$), em coloração convencional. B) Padrões de bandas-C, no cariótipo de fêmea ($2n = 30$) (Barras = $5 \mu\text{m}$).

FIGURA 6 - *Trypoxylon (Trypargilum) nitidum*.

4.1.3. *Trypoxylon (Trypargilum) sp?*

O estudo citogenético desta espécie consistiu na análise de dois indivíduos machos, provenientes de um único ninho. Foram analisadas 75 abelhas por indivíduo, sendo o complemento cromossômico haplóide (n) igual a 15. O cariótipo é constituído de cinco cromossomos metacêntricos (M) e dez acrocêntricos (A).

O padrão de coloração diferenciada observado em algumas abelhas machos nos dois indivíduos analisados (M), os três



A) Padrões de bandas-C, no cariótipo de macho ($n = 15$). B) Padrões de bandas-C, no cariótipo de fêmea ($2n = 30$). (Barras = $5 \mu\text{m}$).

FIGURA 7 - *Trypoxylon (Trypargilum) lactitarse*.

4.1.2.3. *Trypoxylon (Trypargilum) sp3*

O estudo citogenético desta espécie consistiu na análise de dois indivíduos machos, provenientes de um único ninho. Foram analisadas 25 metáfases por indivíduo, sendo o complemento cromossômico haplóide (n) igual a 15. O cariótipo é constituído de cinco cromossomos metacêntricos (M) e dez acrocêntricos (A).

O padrão de coloração diferenciada observado em algumas metáfases sugere que dos cinco cromossomos metacêntricos (\overline{M}), os três maiores (cromossomos 6, 10 e 12) apresentam o braço maior corado mais intensamente, o que indica que sejam heterocromáticos, sendo por isso denominados de pseudo-acrocêntricos A^M . Os outros metacêntricos (cromossomos 1 e 14) apresentaram coloração mais forte na região proximal do centrômero, sendo provavelmente \overline{M}^{cc} , e nos cromossomos acrocêntricos esse padrão sugere que a heterocromatina constitutiva está localizada no braço curto e na região pericentromérica (Figuras 8 e 9(C)). Diante desse padrão, essa espécie apresenta a seguinte fórmula cariotípica: $K=3A^M + 10A + 2\overline{M}^{cc}$, e o número haplóide de braços é $AN=20$ (Figura 8 e Quadro 1).

4.1.2.4. *Trypoxylon (Trypargilum) sp2*

O estudo citogenético de nove exemplares fêmeas desta espécie, oriundos de dois ninhos, revelou que o complemento diplóide é 32 cromossomos, referentes à análise de 30 células metafásicas, em média, por indivíduo. O cariótipo é constituído de 20 cromossomos pseudo-acrocêntricos, sendo 2 A^M (par 1) e 18 A^{Mc} (pares 2, 6, 8, 10, 12, 13, 14, 15 e 16) e 12 acrocêntricos A, tendo $2K=2A^M + 18A^{Mc} + 12A$ e $2AN=52$

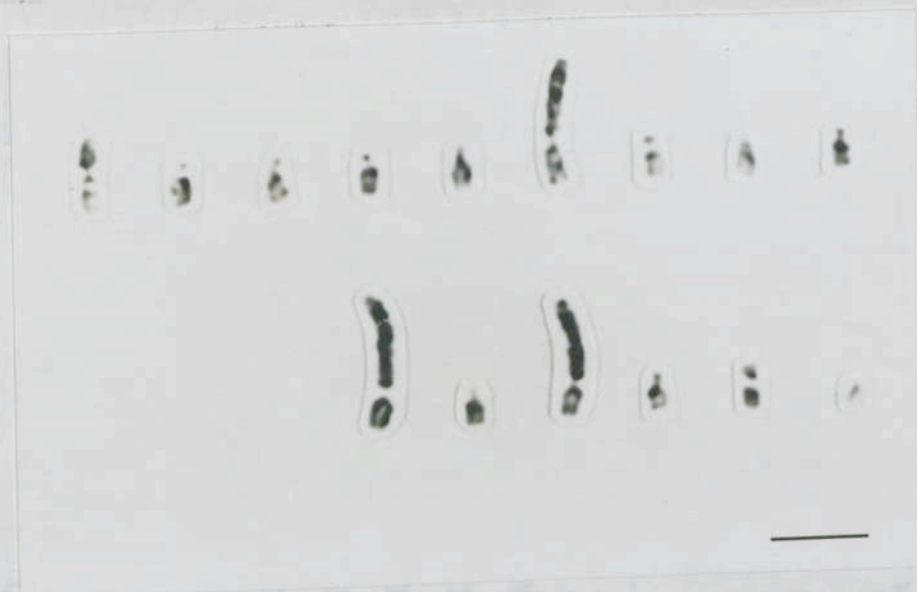
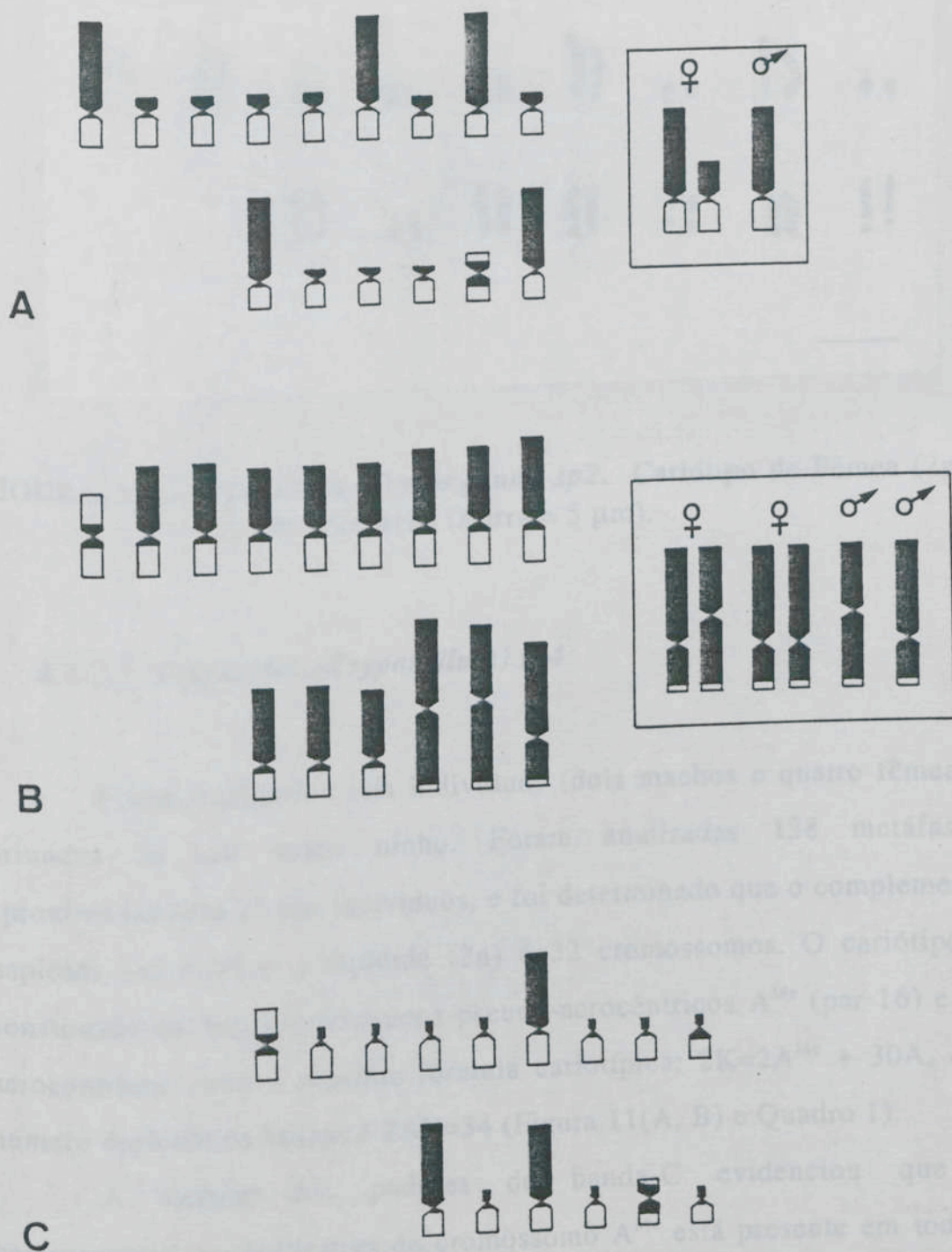


FIGURA 8 - *Trypoxylon (Trypargilum) sp3*. Cariótipo de Macho ($n = 15$), em Coloração Convencional (Barras = 5 μm).

como fórmula cariotípica e número diplóide de braços, respectivamente (Figura 10 e Quadro 1).

A identificação de todos os homólogos tornou-se mais fácil e precisa, em razão da coloração diferenciada dos cromossomos. Os cromossomos A^M têm os braços menores mais claros e os maiores mais escuros, os A^{Mc} têm os braços maiores e a região proximal do centrômero do braço menor mais escuros e os acrocêntricos (A) exibiram coloração mais acentuada no braço curto e na região pericentromérica (Figuras 10 e 12(A)). Esse padrão de coloração diferenciada sugere que as regiões mais escuras correspondem às de heterocromatina constitutiva.

FIGURA 9 - Idiograma e Padrões de Distribuição de Bandas C...



A) *T. nitidum* ($n = 15$). B) *T. lactitarse* ($n = 15$). C) *T. sp3* ($n = 15$). Nos retângulos, estão representados os tipos de cromossomos encontrados nos cariótipos diplóides (♀) e haplóide (♂) de *T. nitidum* (Cromossomo 1) e de *T. lactitarse* (Cromossomo 15). A distribuição da heterocromatina de *T. sp3* é baseada no padrão de coloração diferenciada, observada em algumas metáfases.

FIGURA 9 - Idiograma e Padrões de Distribuição de Bandas-C.

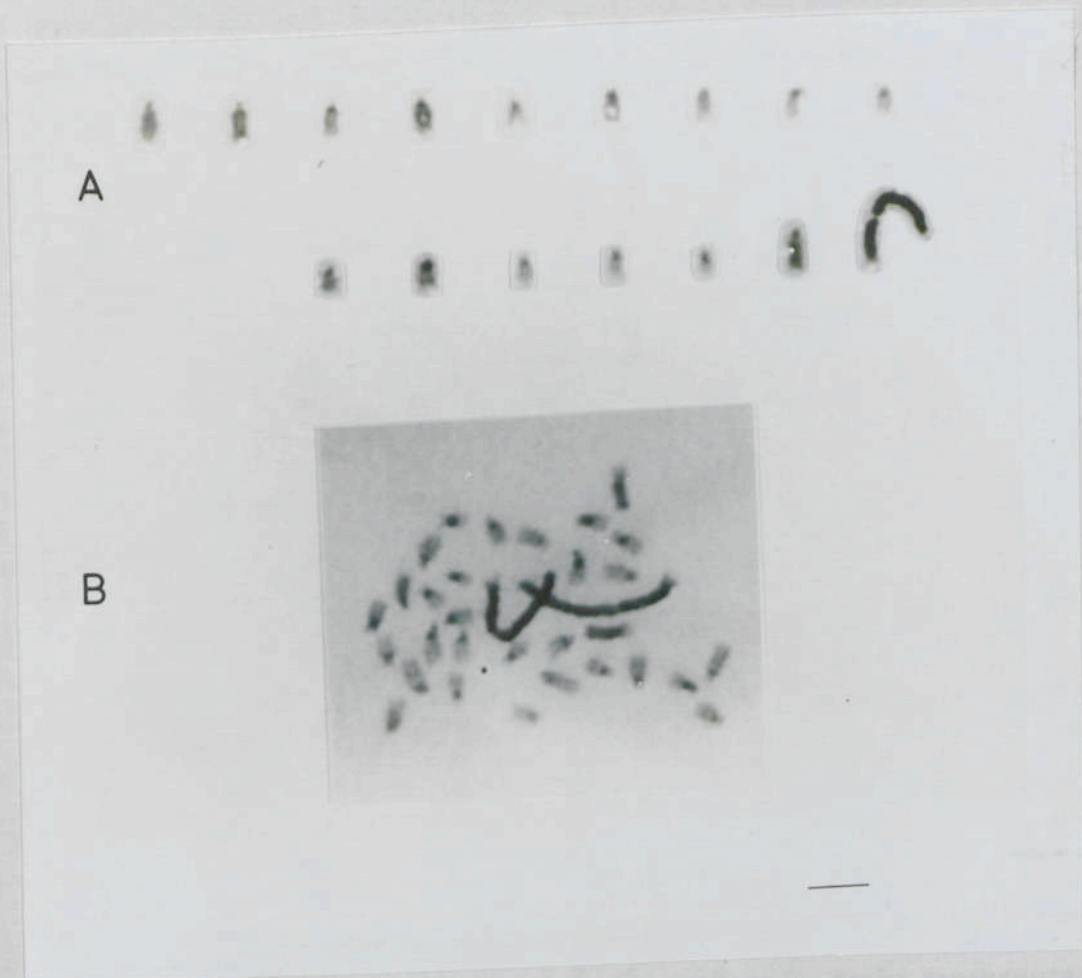


FIGURA 10 - *Trypoxylon (Trypargilum) sp2*. Cariótipo de Fêmea ($2n = 32$), em Coloração (Barra = $5 \mu\text{m}$).

4.1.2.5. *Trypoxylon (Trypargilum) sp4*

Foram analisados seis indivíduos (dois machos e quatro fêmeas), oriundos de um único ninho. Foram analisadas 138 metáfases, aproximadamente 23 por indivíduos, e foi determinado que o complemento haplóide (n) é 16 e o diplóide ($2n$) é 32 cromossomos. O cariótipo é constituído de dois cromossomos pseudo-acrocêntricos A^{Mc} (par 16) e 30 acrocêntricos, com a seguinte fórmula cariotípica: $2K=2A^{Mc} + 30A$, e o número diplóide de braços é $2AN=34$ (Figura 11(A, B) e Quadro 1).

A análise dos padrões de banda-C evidenciou que a heterocromatina constitutiva do cromossomo A^{Mc} está presente em toda a extensão de um dos braços e ocupa praticamente todo o outro braço, com exceção da região terminal. Com exceção do par 14, em que somente a região terminal do braço maior é eucromática, a heterocromatina está localizada no braço curto e na região centromérica, na maioria dos cromossomos acrocêntricos (A) (Figuras 11(B) e 12(B)).



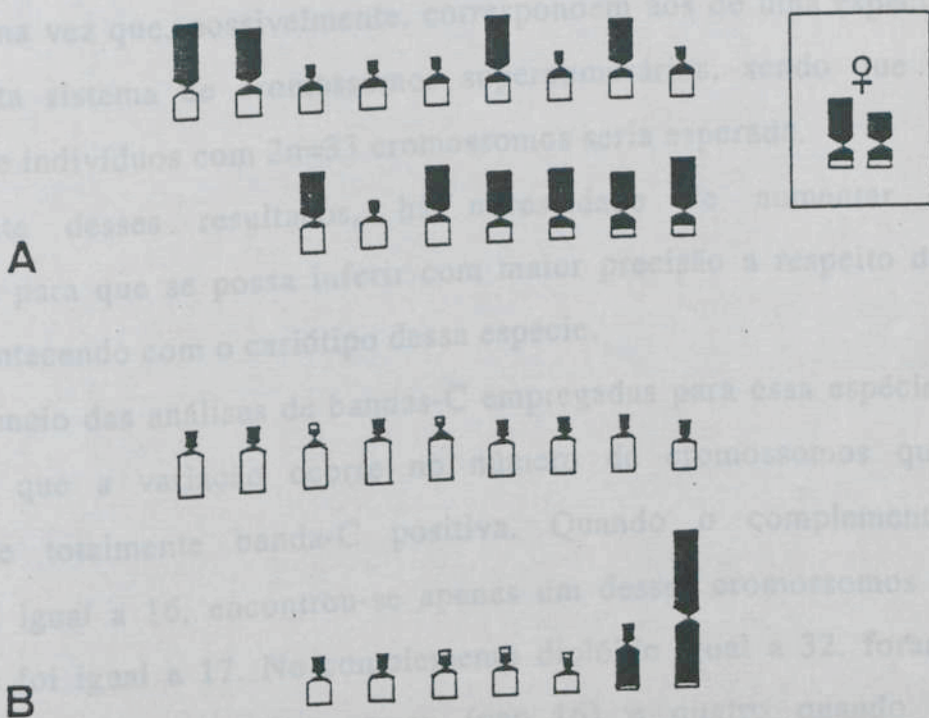
A) Cariótipo de macho ($n = 16$), em coloração convencional. B) Banda-C, em metáfase de fêmea ($2n = 32$) (Barra = $5 \mu\text{m}$).

FIGURA 11 - *Trypoxylon (Trypargilum) sp4*.

4.1.5. *Trypoxylon (Trypoxylum) albitarsis*

Os dados citogenéticos obtidos para esta espécie correspondem à análise de 67 indivíduos (29 machos e 38 fêmeas), oriundos de 24 ninhos, e à análise de 30 células metafásicas por indivíduo, em média. Nesta espécie, foi observada uma variação no número de cromossomos, tanto em indivíduos de ninhos diferentes quanto em indivíduos do mesmo ninho (Quadro 2).

Foi determinado para o cariótipo dessa espécie um complemento haplóide igual a 16 e 17 e diplóide, a 32 e 34, não sendo encontrado nenhum indivíduo com $2n=33$ cromossomos, embora tenha sido frequente a ocorrência de células com este número. Estes resultados constituem uma



A) *T. sp2*. ($n = 16$). B) *T. sp4*. ($n = 16$). No retângulo, estão representados os tipos de cromossomos 14 encontrados nos cariótipos diplóides (♀) e *T. sp2*. A distribuição da heterocromatina de *T. sp2* é baseada no padrão de coloração diferenciada, observada em algumas metáfases.

FIGURA 12 - Idiograma e Padrões de Distribuição de Bandas-C.

4.1.2.6. *Trypoxylon (Trypargilum) albitarse*

Os dados citogenéticos obtidos para esta espécie correspondem à análise de 67 indivíduos (29 machos e 38 fêmeas), oriundos de 24 ninhos, e à análise de 30 células metafásicas por indivíduo, em média. Nessa espécie, foi observada uma variação no número de cromossomos, tanto em indivíduos de ninhos diferentes quanto em indivíduos de mesmo ninho (Quadro 2).

Foi determinado para o cariótipo dessa espécie um complemento haplóide igual a 16 e 17 e diplóide, a 32 e 34, não sendo encontrado nenhum indivíduo com $2n=33$ cromossomos, embora tenha sido freqüente a ocorrência de células com esse número. Estes resultados constituem uma incógnita, uma vez que, possivelmente, correspondem aos de uma espécie que apresenta sistema de cromossomos supernumerários, sendo que a ocorrência de indivíduos com $2n=33$ cromossomos seria esperada.

Diante desses resultados, há necessidade de aumentar a amostragem, para que se possa inferir com maior precisão a respeito do que está acontecendo com o cariótipo dessa espécie.

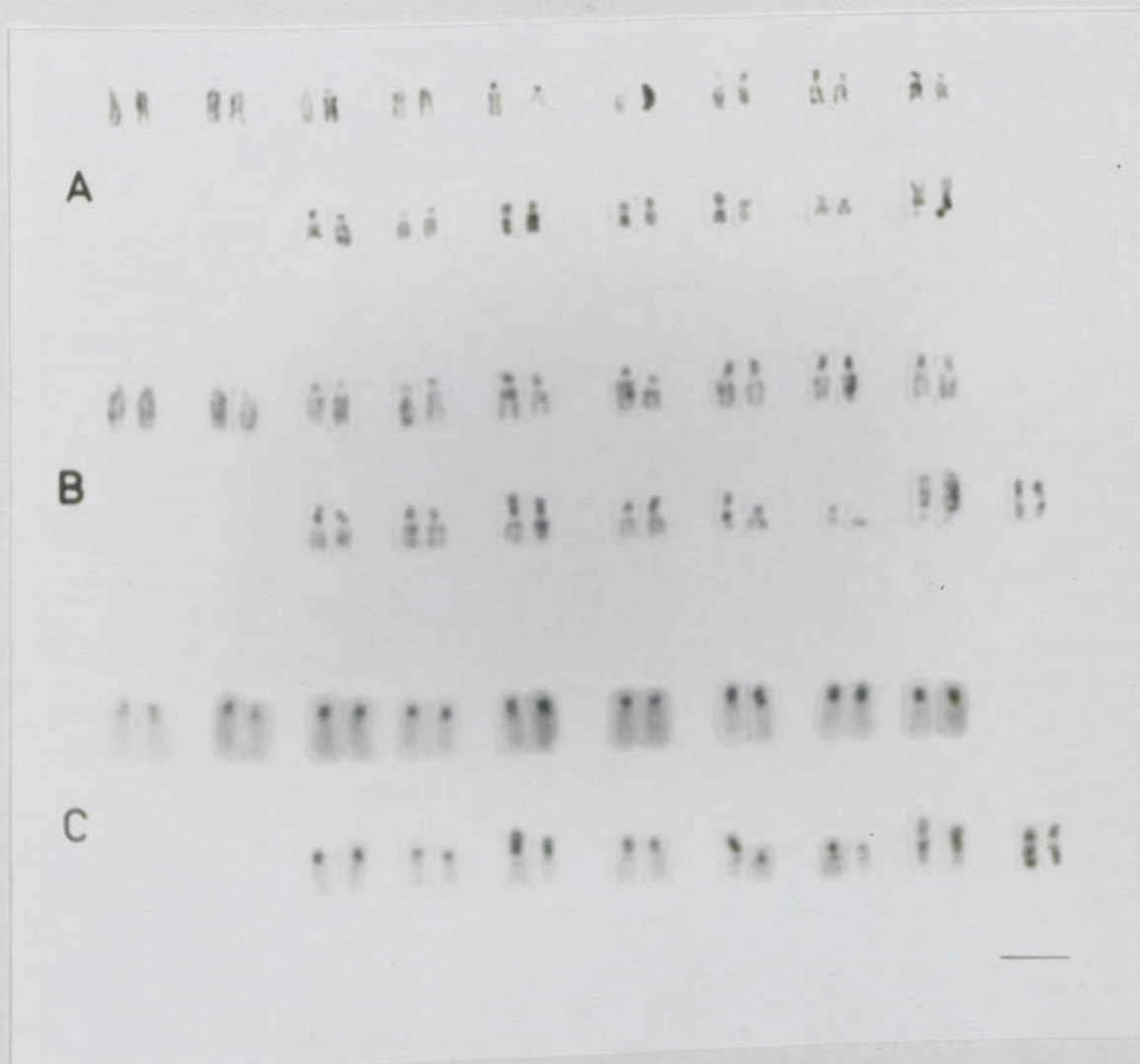
Por meio das análises de bandas-C empregadas para essa espécie, observou-se que a variação ocorre no número de cromossomos que mostraram-se totalmente banda-C positiva. Quando o complemento haplóide foi igual a 16, encontrou-se apenas um desses cromossomos e dois quando foi igual a 17. No complemento diplóide igual a 32, foram encontrados dois desses cromossomos (par 16) e quatro quando o complemento foi igual a 34 (pares 16 e 17). Nos demais cromossomos, a heterocromatina está no braço curto e na região pericentromérica. Os pares cromossômicos 12 e 14 são heteromórficos, por apresentarem um dos homólogos com o braço curto heterocromático maior, em razão,

QUADRO 2 - Variações Intra e Interninhos do Número de Cromossomos de *Trypoxylon (Trypargilum) albitarse*

Ninhos	Nº de Indivíduos		Nº de Cromossomos	
	♂	♀	(n)	(2n)
1	-	4	-	34
2	-	1	-	34
3	1	1	17	34
4	-	1	-	34
5	2	-	17	-
6	-	2	-	34
7	1	2	17	34
8	3	-	2(16) 1(17)	-
9	4	4	2(16) 2(17)	1(32) 3(34)
10	-	1	-	34
11	3	1	1(16) 2(17)	-
12	-	7	-	34
13	1	1	16	34
14	3	-	17	-
15	1	-	17	-
16	2	-	17	-
17	2	-	17	-
18	-	2	-	1(32) 1(34)
19	1	2	17	34
20	-	1	-	34
21	-	2	-	34
22	2	2	1(16) 1(17)	34
23	1	3	-	34
24	2	2	17	34

possivelmente, do crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva, sendo por isso denominados de pseudo-acrocêntricos A^M (Figuras 13 (A, B, C) e 14(C e D)).

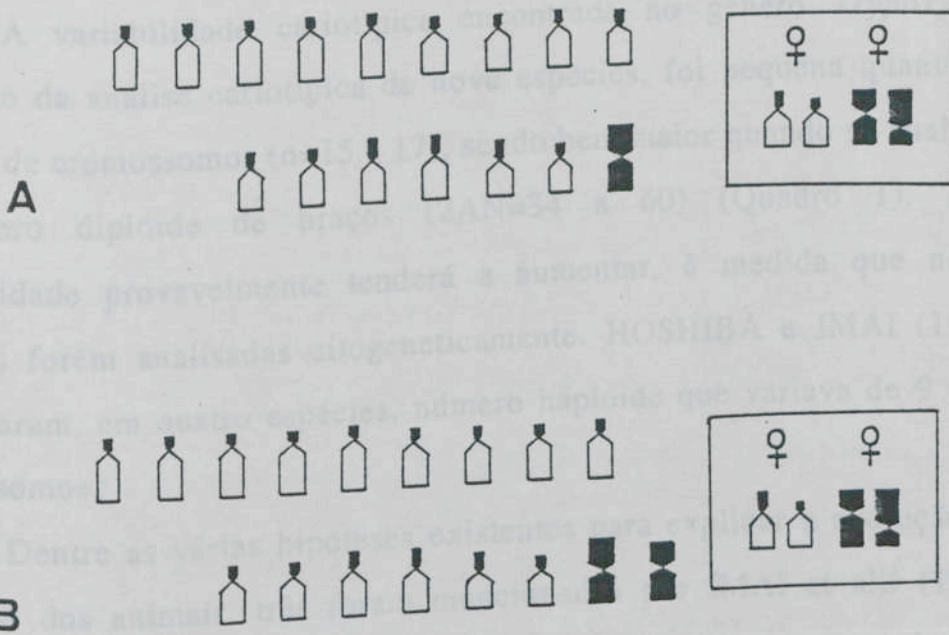
As fórmulas cariotípicas e os números diplóides de braços nos cariótipos com diferentes números de cromossomos ($2n=32$ e $2n=34$) são, respectivamente, $2K = 28A + 2A^M + 2\overline{M}^h$, $2AN = 36$ e $2K=28A + 2A^M + 4\overline{M}^h$, $2AN=40$ (Quadro 1).



A) Cariótipo de fêmea ($2n = 32$), em coloração convencional. B) Cariótipo de fêmea ($2n = 34$), em coloração convencional. C) Padrões de bandas-C, no cariótipo de fêmea ($2n = 34$) (Barra = $5 \mu\text{m}$).

FIGURA 13 - *Trypoxylon (Trypargilum) albitarse*.

5. DISCUSSÃO

5.1. Variabilidade Cariotípica no Gênero *Trypoxylon*

A) *T. albitarse* (n = 16). B) *T. albitarse* (n = 17). Nos retângulos, estão representados os tipos de cromossomos 12, 14 e 16 encontrados nos cariótipos diplóides (♀), tanto para n = 16 como n = 17. O primeiro par de cromossomos de dentro dos retângulos está representando os pares 12 e 14 e o segundo representa o par 16.

FIGURA 14 - Idiograma e Padrões de Distribuição de Bandas-C.

da anterior, ou seja, as formigas primitivas apresentavam baixo número cromossômico, e os cariótipos evoluíram para números maiores. Na hipótese modal, o cariótipo ancestral teria um valor correspondente à moda, e a variação durante a evolução se deu em ambos os sentidos, ou seja, tanto para o aumento do número de cromossomos quanto para a diminuição desse valor.

Situações semelhantes são propostas para explicar a evolução do cariótipo em mamíferos: hipótese modal (OHNO, 1969), hipótese da fusão (Toth, 1970, 1975; citada por IMAI et alii, 1980; IMAI, 1975; 1976, 1978; IMAI e MARIYAMA, 1978) e hipótese modal (MATTING, 1973).

5.1. Variabilidade Cariotípica no Gênero *Trypoxylon*

A variabilidade cariotípica encontrada no gênero *Trypoxylon*, resultado da análise cariotípica de nove espécies, foi pequena quanto ao número de cromossomos ($n=15$ a 17), sendo bem maior quando se analisou o número diplóide de braços ($2AN=34$ a 60) (Quadro 1). Essa variabilidade provavelmente tenderá a aumentar, à medida que novas espécies forem analisadas citogeneticamente. HOSHIBA e IMAI (1993) encontraram, em quatro espécies, número haplóide que variava de 9 a 14 cromossomos.

Dentre as várias hipóteses existentes para explicar a evolução do cariótipo dos animais, três foram mencionadas por IMAI et alii (1977) como prováveis para explicar as diversidades cariotípicas encontradas nas formigas: hipóteses da fusão, fissão e modal.

De acordo com a hipótese da fusão, o cariótipo ancestral das formigas teria um número cromossômico elevado, e a evolução se deu no sentido de diminuir esse valor. A hipótese da fissão é exatamente o oposto

da anterior, ou seja, as formigas primitivas apresentavam baixo número cromossômico, e os cariótipos evoluíram para números maiores. Na hipótese modal, o cariótipo ancestral teria um valor correspondente à moda, e a variação durante a evolução se deu em ambos os sentidos, ou seja, tanto para o aumento do número de cromossomos quanto para a diminuição desse valor.

Situações semelhantes são propostas para explicar a evolução do cariótipo em mamíferos: hipótese da fusão (OHNO, 1969), hipótese da fissão (Todd, 1970, 1975, citado por IMAI et alii, 1988b; IMAI, 1975, 1976, 1978; IMAI e MARUYAMA, 1978) e hipótese modal (MATTHEY, 1973).

Na hipótese modal, MATTHEY (1973) observou que aproximadamente 50% das espécies de mamíferos, até então analisadas citogeneticamente (1.063 espécies), apresentaram números diplóides com valores entre 40 e 56, sendo que os valores superiores a esses representam 16,4% e os inferiores, 31,5%, sugerindo que nesse grupo de organismos a fusão cêntrica predomina sobre a fissão cêntrica. Esse padrão de distribuição foi também observado nos histogramas apresentados por WHITE (1973) e IMAI (1975).

A evolução do cariótipo, a partir de um ancestral com número cromossômico correspondente ao valor modal, nos **Hymenoptera**, parece ser aplicada aos **Symphyta (Tenthredinidae)**. Os dados citogenéticos de aproximadamente 200 espécies evidenciaram que o valor modal da família foi igual a 10 e que três quartos das espécies analisadas apresentaram número haplóide que variavam entre 7 e 10, os quais são valores próximos ao número modal (NAITO, 1982).

NAITO (1978b, 1982) acredita que nesse grupo a evolução do cariótipo se deu a partir do valor de $n=10$ (valor modal) e que a

divergência do número de cromossomos para ambos os lados desse valor foi resultado de rearranjos robertsonianos. A frequência de valores de n no sentido ascendente foi maior que no sentido descendente, isto é, a frequência de fissão foi maior que a de fusão. Logo, a evolução do cariótipo em **Tenthredinidae** segue em direção ao aumento do número de cromossomos.

Além das hipóteses anteriormente mencionadas, a possibilidade de evolução do cariótipo por poliploidia também foi sugerida para as formigas, por IMAI (1969) e CROZIER (1975), em virtude da existência de números cromossômicos duplicados em espécies taxonomicamente relacionadas. Entretanto, com o advento e a utilização de técnicas mais apuradas e, principalmente, em virtude do grande número de espécies analisadas em nível citogenético, essa hipótese tem sido considerada de pouca importância na evolução do cariótipo do grupo.

A hipótese da poliploidia, como mencionada anteriormente, foi primeiramente sugerida por KERR (1952, 1969), como sendo o principal mecanismo envolvido na evolução do cariótipo das abelhas. Nesse grupo, a distribuição do número haplóide de cromossomos apresenta maiores picos, em torno de $n=8$ e 9 e $n=16$ a 18 , sendo que a maioria das espécies apresenta número cromossômico em torno do maior valor. Diante dessas observações, foi que o autor propôs tal hipótese, para explicar a evolução do cariótipo do grupo em questão.

Com base, principalmente, nos dados observados nos cariótipos de formigas, IMAI et alii (1977) refutaram a possibilidade de evolução dos cariótipos por fusão cêntrica nesses organismos, embora esse mecanismo possa ocorrer eventualmente, admitindo as hipóteses da fissão e modal como moldadoras desse fenômeno. Mesmo admitindo a possibilidade de evolução a partir de um ancestral com o valor modal, esses autores

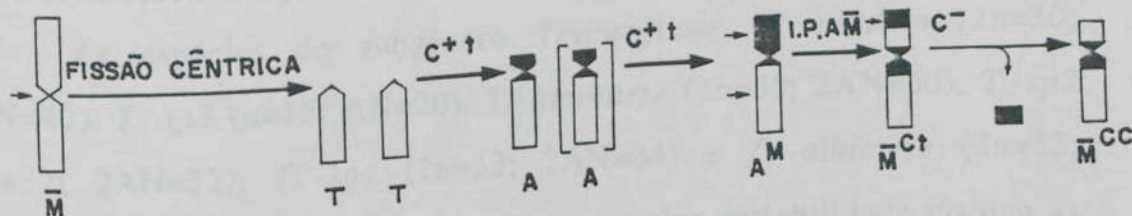
observaram que a proporção fissão: fusão foi de 10:1, respectivamente, o que sugere que, ao longo do tempo, a tendência é aumentar o número de cromossomos.

Os cariótipos das três espécies do subgênero *Trypoxylon*, *Trypoxylon sp1*, *T. asuncicola* e *T. fabricator*, apresentam o mesmo número cromossômico ($n=16$), mas diferem quanto ao número diplóide de braços ($2AN=38, 40$ e 52), respectivamente (Quadro 1). As duas primeiras espécies aparentemente são bastante similares cariotipicamente. Contudo, uma análise minuciosa revelou algumas diferenças. A diferença mais visível entre os dois cariótipos consiste no número diplóide de braços, 38 em *Trypoxylon sp1* e 40 em *T. asuncicola*, a qual é devida à morfologia dos cromossomos do par 6, acrocêntrico (A) na primeira e submetacêntrico (\bar{M}) na segunda (Figuras 2, 3(A, B) e Quadro 1).

Além dessa diferença, observa-se também que a relação entre os braços heterocromáticos e eucromáticos dos cromossomos pseudo-acrocêntricos (A^M) é diferente nos dois cariótipos, sendo de aproximadamente 1,5:1 e maior que 2:1, em *T. asuncicola* e *T. sp1*, respectivamente. Outra diferença consiste na presença de um par heteromórfico (par 8), observado em todas as fêmeas analisadas de *T. asuncicola*, e na presença de uma região mais clara intersticial no braço heterocromático de um dos homólogos do par 10, em *T. sp1*. Essa estrutura possivelmente corresponde à região organizadora do nucléolo e, ou, constrição secundária, o que poderá vir a ser confirmado em estudos posteriores.

Diante da suposição que o cariótipo ancestral que deu origem aos das espécies estudadas neste trabalho teve número baixo de cromossomos, e que provavelmente esse seja constituído de cromossomos com dois braços (M), o que será discutido a seguir, acredita-se que os cromossomos

6 de *Trypoxylon spl.* e *T. asuncicola* foram originados a partir de um desses cromossomos, por fissão cêntrica, com posterior adição de heterocromatina, transformando-os de telocêntricos (T) para acrocêntricos (A). A diferenciação desses cromossomos nessas duas espécies, acrocêntricos na primeira e metacêntricos na segunda, se deu por maior adição de heterocromatina nos cromossomos que deram origem aos de *T. asuncicola*, transformando-os em pseudo-acrocêntricos (A^M), os quais, por inversões pericêntricas com perda parcial de heterocromatina, originaram os cromossomos atuais, que fazem parte da constituição cariotípica da espécie, metacêntricas com blocos de heterocromatina na região pericentrométrica (\bar{M}^{cc}). Os prováveis rearranjos são ilustrados na Figura 15.



CROMOSSOMO DO
CARIÓTIPO ANCESTRAL
HIPOTÉTICO.

O cromossomo acrocêntrico fora do colchete corresponde ao de *Trypoxylon spl.* Os rearranjos ocorridos a partir do cromossomo acrocêntrico entre colchetes representam os passos envolvidos na origem do cromossomo acrocêntrico de *T. asuncicola*. As regiões em preto correspondem às de heterocromatina e as em branco, às de eucromatina. C^{+t} (adição de heterocromatina), C^{-} (eliminação de heterocromatina), I.P. (inversão pericêntrica). Setas pequenas indicam os locais de quebras.

FIGURA 15 - Representação Esquemática da Possível Seqüência de Rearranjos Ocorridos para Originar os Cromossomos 6 de *T. spl* e *T. asuncicola* e da Diferenciação Desses Cromossomos Nessas Duas Espécies.

Trypoxylon fabricator ($2n=32$; $2AN=52$) (Figura 4) apresentou um cariótipo bastante diferente das outras duas espécies. A principal diferença consiste no maior número de braços nessa espécie, o que pode ser observado na morfologia dos cromossomos que constituem o cariótipo, que apresenta 18 do tipo pseudo-acrocêntrico (A^M), contra 6 de mesma morfologia nas outras duas espécies. Essa diferença é atribuída, principalmente, ao crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva.

A estrutura detectada em um dos homólogos do par 10 de *T. sp1* (Figura 2) foi também encontrada em um dos homólogos do mesmo par; em *T. fabricator* (Figura 4(A, B)). A posição dessa estrutura no cromossomo difere nas duas espécies, estando mais próxima do centrômero na primeira, enquanto na última a localização é mais próxima da região terminal. A localização em posições diferentes dessa estrutura, nessas duas espécies, pode ser decorrente de uma inversão paracêntrica no braço cromossômico que a contém.

As espécies do subgênero *Trypargilum*, *T. nitidum* ($2n=30$; $2AN=42$), *T. sp3* ($n=15$; $AN=20$), *T. lactitarse* ($2n=30$; $2AN=60$), *T. sp2* ($2n=32$; $2AN=52$), *T. sp4* ($2n=32$; $2AN=34$) e *T. albitarse* ($2n=32$; $2AN=36$ e $2n=34$; $2AN=40$), apresentaram maior variabilidade do que as espécies do subgênero *Trypoxylon*, tanto em termos do número de cromossomos quanto do número de braços.

As espécies *Trypoxylon sp3*, *T. nitidum* e *T. lactitarse*, embora apresentem o mesmo número de cromossomos ($n=15$), diferem entre si quanto ao número de braços ($AN=20$, 21 e 30), respectivamente. Acredita-se que essa variabilidade observada seja devido à adição de heterocromatina constitutiva, o que será explicado na discussão da

evolução do cariótipo do grupo, sob o prisma da hipótese da interação mínima.

A heterocromatina é encontrada em maior quantidade nas espécies que apresentam maior número de cromossomos com dois braços, dos quais a maioria apresenta no mínimo um desses braços totalmente heterocromático (A^M), como pôde ser comprovado tanto pelo padrão de coloração diferenciada dos cromossomos quanto pela técnica de bandas-C.

Em *Trypoxylon lactitarse* (Figura 7(B)), parece existir alguns pares heteromórficos quanto aos padrões de bandas-C. Foi observado que a heterocromatina da região pericentromérica dos braços eucromáticos de alguns pares dos cromossomos A^{Me} é mais desenvolvida em um dos homólogos.

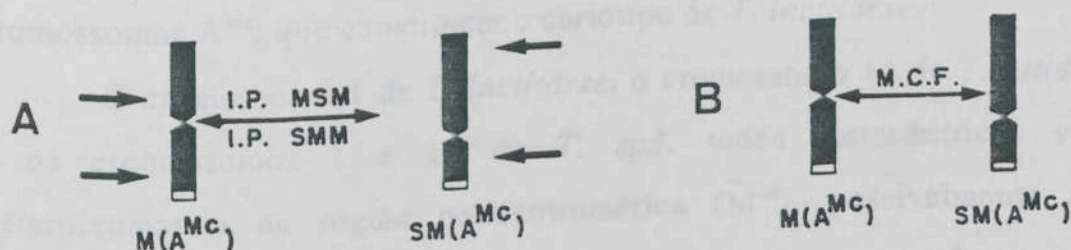
Além desses prováveis polimorfismos, um outro foi observado na população amostrada, quanto à morfologia cromossômica do par 15. Dentre as fêmeas analisadas, observou-se que em algumas esse par é constituído de dois cromossomos submetacêntricos (SM/SM, par homomórfico) e em outras, de um cromossomo metacêntrico e outro submetacêntrico (M/SM, par heteromórfico), sendo que não foi encontrado nenhum indivíduo cujo par fosse constituído de dois cromossomos metacêntricos (par homomórfico), embora fosse esperado (Figura 9(B)).

A ausência de indivíduos com essa constituição para tal par cromossômico pode ser atribuída ao pequeno tamanho da amostra.

Dentre os indivíduos machos analisados, tanto o cromossomo metacêntrico quanto o submetacêntrico foram encontrados. Esse polimorfismo foi detectado em indivíduos de mesmo ninho e em indivíduos de ninhos diferentes.

A presença desse polimorfismo pode ser explicada simplesmente por uma inversão pericêntrica, que converte o cromossomo metacêntrico

em submetacêntrico, ou vice-versa, como também pode ser decorrente de uma mudança do centrômero funcional (IMAI, 1988b, 1991), conforme o esquema representativo na Figura 16.



A) Polimorfismo de inversão pericêntrica (I.P.); B) Polimorfismo de mudança do centrômero funcional (M.C.F.). As regiões em preto correspondem às de heterocromatina e as em branco, às de euromatina.

FIGURA 16 - Representação Esquemática dos Possíveis Rearranjos Envolvidos no Polimorfismo do Cromossomo 15 de *T. lactitarse*.

De acordo com a hipótese da interação mínima, IMAI et alii (1988a, b) admitem que os cromossomos telocêntricos, originados a partir de cromossomo com dois braços, por fissão cêntrica, são convertidos em acrocêntricos (A) ou pseudo-acrocêntricos (A^M), por crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva, e que essa região heterocromática conteria múltiplos centrômeros e telômeros dormentes ou inativos, os quais poderiam ser reativados e alterar a morfologia do cromossomo.

Esse mecanismo foi sugerido para os casos de *Myrmecia (pilosula)* (IMAI e TAYLOR, 1989) e *Myrmecia (piliventris)* (IMAI et alii, 1988b).

IMAI (1991) admite, também, que a inativação e a reativação de centrômeros são uns dos mecanismos pelos quais os cromossomos

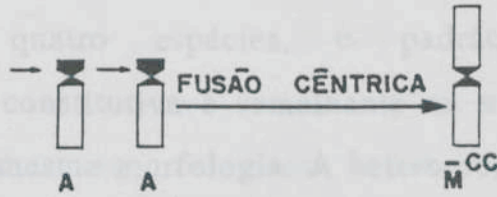
acrocêntricos com braço curto e região proximal do centrômero do braço longo heterocromático (A^c) e, ou, cromossomos pseudo-acrocêntricos com heterocromatina na região proximal do centrômero do braço eucromático (A^{Mc}) surgem a partir de cromossomo pseudo-acrocêntrico (A^M).

Acredita-se que tal mecanismo é bastante consistente para explicar a morfologia e os padrões de distribuição da heterocromatina nos cromossomos A^{Mc} , que constituem o cariótipo de *T. lactitarse*.

O cromossomo 1 de *T. lactitarse*, o cromossomo 14 de *T. nitidum* e os cromossomos 1 e 14 de *T. sp3*, todos metacêntricos com heterocromatina na região pericentromérica (\bar{M}^{cc}), possivelmente são originados a partir de fusões cêntricas entre cromossomos acrocêntricos.

Uma única fusão cêntrica seria suficiente para originar esses cromossomos, nas duas primeiras espécies, sendo, portanto, necessário dois desses rearranjos na constituição do cariótipo da última. A Figura 17 ilustra os possíveis mecanismos envolvidos na origem desses cromossomos.

As espécies *T. (Trypargilum) sp4* ($2n=32$; $2AN=34$) e *T. (Trypargilum) albitarse* ($2n=32$; $2AN=36$ e $2N=34$; $2AN=40$) diferem bastante das demais espécies do presente estudo, no que se refere à morfologia e ao tamanho dos cromossomos e à quantidade e à distribuição da heterocromatina constitutiva. O cariótipo de ambas as espécies é constituído praticamente de cromossomos acrocêntricos, sendo que em *T. sp4* (Figura 11) o par 16 é constituído de dois grandes cromossomos pseudo-acrocêntricos (A^{Mc}), semelhantes àqueles encontrados no cariótipo de *T. lactitarse* (Figura 7). A origem desses cromossomos pode ter se dado a partir de um acrocêntrico, por crescimento em tandem de heterocromatina constitutiva (C.T.H.C.).



As regiões em preto correspondem às de heterocromatina e as em branco, às de eucromatina. As setas pequenas indicam os locais de quebras.

FIGURA 17 - Representação Esquemática do Possível Rearranjo Ocorrido na Origem dos Cromossomos Metacêntricos (M) de *T. nitidum* (Cromossomo 14), *T. lactitarse* (Cromossomo 1) e *T. sp3*. (Cromossomos 1 e 14).

Em *T. albitarse* (Figura 13(A, B e C)), entretanto, ocorre uma variação numérica no cariótipo, possivelmente em razão da ocorrência de um sistema de cromossomos supernuméricos. Estes cromossomos encontrados no cariótipo dessa espécie podem ter sido originados a partir de um cromossomo semelhante àquele do par 16 de *T. sp4*, por rearranjos de fissão e mudança do centrômero funcional.

Esse mecanismo parece ser consistente para explicar a origem dos prováveis cromossomos B (\bar{M}^h) observados no cariótipo de *T. albitarse*, assim como a origem dos cromossomos do par 16, que também são heterocromáticos. Esse mecanismo foi sugerido como possível para explicar a origem de cromossomos acrocêntricos e metacêntricos heterocromáticos (A^h e \bar{M}^h), encontrados em cariótipos de mamíferos (IMAI, 1991) e em **Hymenoptera** (HOSHIBA e IMAI, 1993).

O cariótipo de *T. (Trypargilum) sp2* (Figura 10) difere quanto ao número de cromossomos ($2n=32$) das espécies do mesmo subgênero, *T. nitidum* (Figura 6), *T. lactitarse* (Figura 7) e *T. sp3* (Figura 8), todas com $2n=30$, que, como mencionado anteriormente, teve esse menor número de cromossomos atribuído a fusões cêntricas, nas três últimas espécies.

Nessas quatro espécies, o padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva é semelhante na maioria dos cromossomos que apresenta a mesma morfologia. A heterocromatina está localizada na região pericentromérica dos cromossomos metacêntricos \overline{M}^{cc} , nas espécies que apresentam esse tipo de cromossomos (as três últimas); nos braços curtos e na região pericentromérica dos cromossomos acrocêntricos, com exceção de *T. lactitarse*, cujo cariótipo não apresenta cromossomo com essa morfologia; e em toda a extensão de um dos braços dos cromossomos pseudo-acrocêntricos, nas quatro espécies (Figuras 6(B), 7(A, B), 9(C) e 12(A)). Em *T. lactitarse* e *T. sp2*, contudo, a heterocromatina foi também detectada na região pericentromérica do braço eucromático desses cromossomos, sendo que em alguns ocupa praticamente todos esses braços (Figuras 7 (A, B) e 10).

5.2. Comparação dos Cariótipos de Espécies dos Subgêneros *Trypargilum* e *Trypoxylon*

A análise comparativa dos cariótipos de *T. (Trypargilum) sp2* e de *T. (Trypoxylon) fabricator* evidenciou que ambos apresentam o mesmo número de cromossomos e de braços, $2n=32$ e $2AN=52$ (Quadro 1).

As diferenças entre os cariótipos dessas espécies consistem na proporção de cromossomos metacêntricos (M) e submetacêntricos (SM), na nomenclatura convencional ou na proporção de braços eucromáticos e heterocromáticos dos cromossomos pseudo-acrocêntricos (A^M), na terminologia empregada neste trabalho.

Em *Trypoxylon sp2*, todos os cromossomos de dois braços são submetacêntricos ou A^M , com o braço heterocromático maior que o eucromático, enquanto em *T. fabricator*, a relação entre os braços é mais

próxima de 1:1, na maioria dos cromossomos, isto é, são metacêntricos ou A^M , com braços heterocromáticos e eucromáticos basicamente de mesmo tamanho. Outras diferenças observadas nos cariótipos dessas duas espécies referem-se à presença da estrutura mais clara intersticial do braço heterocromático de um dos homólogos do par 10 de *T. fabricator* que, como mencionado anteriormente, possivelmente corresponda à região organizadora do nucléolo e, ou, constrição secundária e de um polimorfismo de banda-C no par 14 de *Trypoxylon sp2* (Figuras 4 (A, B) e 10).

Os cariótipos de *T. (Trypargilum) sp2*, *T. (Trypoxylon) sp1* e *T. (Trypoxylon) asuncicola*, todos com o mesmo número de cromossomos, diferem entre si, com relação ao número diplóide de braços ($2AN=52, 38$ e 40), respectivamente. O maior número de braços em *T. sp2* é devido ao crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva, o que pode ser observado quando se compara o número de cromossomos A^M , sendo 20 nessa e 6 nas outras duas (Figuras 2, 3 (A, B) e 10).

A diferença de dois braços nos cariótipos de *T. sp1* e *T. asuncicola*, como mencionado anteriormente, foi resultado de inversão pericêntrica (Figura 15).

O polimorfismo do par 1 de *T. nitidum*, do par 8 de *T. asuncicola* e do par 14 de *T. sp2* pode ser explicado por translocação, duplicação ou por deleção em um dos homólogos. A última possibilidade parece ser a mais provável de ter acontecido, uma vez que ao comparar os pares homomórficos para essa morfologia, percebe-se que são pseudo-acrocêntricos (A^M), com o braço heterocromático maior que o eucromático, enquanto nos pares heteromórficos, um dos homólogos tem essa proporção, mas no outro a relação entre os braços é de aproximadamente 1:1, indicando que houve deleção de material heterocromático (Figuras 3 (B), 5 (B), 6(B), 9(A), 10 e 12(A)).

5.3. *Evolução do Cariótipo em Trypoxylon de Acordo com a Hipótese da Interação Mínima*

A hipótese da interação mínima foi proposta por IMAI et alii (1986; 1988a, b), para explicar a distribuição não-aleatória da frequência de rearranjos de translocação recíproca e robertsonianos, observada nos dados citogenéticos obtidos em formigas. De acordo com essas observações, as espécies de formigas foram divididas em dois grupos, com relação ao número de cromossomos: espécies com número cromossômico baixo ($n \leq 12$) e espécies com número cromossômico alto ($n > 12$).

A frequência de polimorfismo de translocação recíproca ocorre preferencialmente em espécies do primeiro grupo ($n \leq 12$), enquanto a de polimorfismo robertsoniano foi mais freqüente em espécies do segundo grupo ($n > 12$).

A denominação de hipótese da interação mínima é para explicar que os eucariotos têm evoluído no sentido de minimizar os riscos genéticos ocasionados por mutações cromossômicas deletérias, principalmente a translocação recíproca, que tende a reduzir o "fitness" em heterozigotos, ou seja, que a evolução tem sido no sentido de diminuir o contato (interação) entre os cromossomos não-homólogos no núcleo, durante o paquíteno.

De acordo com a hipótese, o padrão de evolução do cariótipo tem sido determinado pela proporção do genoma, em relação ao volume nuclear no paquíteno. Quanto maior for essa razão, maior será a interação entre os cromossomos e, conseqüentemente, maior a probabilidade de ocorrência de translocações recíprocas. Dessa forma, a evolução do cariótipo no sentido do aumento do número de cromossomos por rearranjos de fissões cêntricas, diminuindo-os de tamanho e,

conseqüentemente, as interações entre si, seria evolutivamente vantajosa (adaptativa), uma vez que reduziria a probabilidade de ocorrência de translocações (IMAI et alii, 1986).

Considerando, ainda, a evolução do cariótipo sob o prisma da hipótese da interação mínima, esta prediz também que outros mecanismos, além da fissão cêntrica, são essenciais e estão envolvidos no processo: crescimento em tandem da heterocromatina constitutiva (C.T.H.C.) e inversões pericêntricas. A função da heterocromatina seria a de converter os cromossomos telocêntricos, originados de um outro tipo de cromossomos com dois braços (\bar{M}); por fissão cêntrica, em cromossomos acrocêntricos (A) ou pseudo-acrocêntricos (A^M), uma vez que cromossomos telocêntricos apresentam instabilidade telomérica. A inversão pericêntrica com perda parcial ou total de heterocromatina converteria esses cromossomos em outros tipos, porém de tamanho menor que os de origem (IMAI et alii, 1988a, b).

As constituições cariotípicas das espécies de vespas do gênero *Trypoxylon*, analisadas neste trabalho, reforçam a hipótese da interação mínima, e a discussão da evolução do cariótipo do grupo sob esse prisma é consistente.

Considerando a variabilidade do número diplóide de cromossomos, observa-se que essa foi muito pequena ($2n=30$ a 34). A mesma variabilidade é observada, se for considerado somente o número diplóide de braços eucromáticos ($2ANE=30$ a 34)², ao passo que se for analisada do ponto de vista do número diplóide de braços ($2AN=34$ a 60) e da morfologia dos cromossomos, percebe-se que essa variabilidade é bem ampla.

² O termo número diplóide de braços eucromáticos (2ANE) é criação do autor da presente tese.

Diante dessas observações e de acordo com essa hipótese, supõe-se que o cariótipo ancestral dos *Trypoxylon*, com base nas espécies deste estudo, provavelmente teve o número cromossômico (n) entre 7 e 8, e a evolução seguiu em direção ao aumento do número de cromossomos, por fissão cêntrica. A suposição de um ancestral com baixo número cromossômico foi também sugerida por vários autores, para diferentes grupos de **Hymenoptera**. IMAI (1969) admite que os **Hymenoptera** mais primitivos tiveram o número haplóide de cromossomos entre 7 e 10; NAITO (1978a, b; 1982) propôs $n=10$ para o cariótipo ancestral dos **Tenthredinidae**; HOSHIBA et alii (1989) admitem que o cariótipo ancestral dos **Hymenoptera** teve número cromossômico menor ou igual a 12 ($n \leq 12$). Essas suposições foram feitas principalmente com base na variabilidade morfológica, numérica e na distribuição e conteúdo da heterocromatina constitutiva.

No presente estudo, foi observado que o agente principal da variabilidade cariotípica, tanto em nível morfológico quanto do número diplóide de braços, foi decorrente, principalmente, do conteúdo e da distribuição da heterocromatina constitutiva. A presença dessa heterocromatina e de sua distribuição preferencial em um dos braços dos cromossomos reforça as pressuposições da hipótese da interação mínima.

Essas observações sustentam, também, a suposição do presente trabalho de que realmente esses cariótipos são derivados de um tipo ancestral com baixo número de cromossomos, por, principalmente, fissão cêntrica e posterior crescimento de heterocromatina constitutiva.

HOSHIBA e IMAI (1993) propuseram que o número de cromossomos com um dos braços heterocromáticos (A ou A^M) aumenta, à medida que aumenta o número de cromossomos. Esses autores admitem que essa correlação é uma forte indicação da alta instabilidade telomérica

dos cromossomos telocêntricos, nos **Hymenoptera**. A ocorrência desses cromossomos é maior em abelhas e vespas, o que sugere que esses grupos de organismos, mais do que as formigas, apresentam maior instabilidade telomérica em cromossomos telocêntricos.

Essa suposição é reforçada quando se comparam as espécies de *Trypoxylon* estudadas neste trabalho, com as estudadas por HOSHIBA e IMAI (1993). Observou-se que quanto menor o número de cromossomos menor é a frequência de cromossomos com um dos braços totalmente heterocromáticos. Em *Trypoxylon sp1.* (n=9), segundo os autores, a maioria dos cromossomos é de morfologia metacêntrica, com heterocromatina pericentromérica, apresentando somente três cromossomos com um dos braços heterocromáticos (cromossomos acrocêntricos). Já nas espécies *T. absonator* (n=14), *T. petiolatum* (n=14) e *T. sp2.* (n=13), ainda segundo esses autores, com exceção da última, que apresenta um cromossomo totalmente eucromático, as outras têm os cromossomos com um dos braços heterocromático; situação semelhante é observada nos cariótipos das espécies estudadas neste trabalho.

As técnicas de coloração convencional e de bandas-C têm oferecido bons resultados na caracterização numérica, morfológica, do conteúdo e da distribuição da heterocromatina constitutiva, nos diferentes trabalhos realizados com **Hymenoptera**. Contudo, a utilização de novas técnicas de bandamento, ainda pouco empregadas nos estudos citogenéticos do grupo (G, NOR, R), assim como as de quantificação de DNA, hibridização "in situ", se faz necessária para uma caracterização cariotípica mais completa, a qual fornece subsídios adicionais para o entendimento do curso da evolução do cariótipo.

conclui-se que o cariótipo ancestral que deu origem aos *Trypoxylon*, com base nas espécies estudadas neste trabalho e nas descritas na literatura (HOSHIBA e IMAI, 1993), provavelmente tinha baixo número de cromossomos, e a evolução seguiu em direção ao aumento do número de cromossomos, por fissões cêntricas.

Os resultados obtidos sugerem que o agente principal da variabilidade cariotípica, após a ocorrência de fissões cêntricas, seja decorrente do contido

6. RESUMO E CONCLUSÕES

sendo também atribuída aos rearranjos de inversões pericêntricas, inversões paracêntricas, mudança do centrômero funcional e fissões cêntricas. Essas observações reforçam a hipótese da interação mínima de IMAI.

Com o objetivo de fornecer dados adicionais para o melhor entendimento dos mecanismos envolvidos na evolução do cariótipo dos **Hymenoptera** e dos *Trypoxylon* em particular, foram realizados estudos citogenéticos em algumas espécies de vespas do referido gênero.

Foram estudados citogeneticamente 256 exemplares, pertencentes a nove espécies. A variação de distribuição do complemento cromossômico haplóide (n) foi de 15 a 17 e do número diplóide de braços ($2AN$), de 34 a 60.

Considerando a variabilidade do número diplóide de cromossomos, observa-se que essa foi muito pequena ($2N=30$ a 34). A mesma variabilidade é observada, se for considerado somente o número diplóide de braços eucromáticos ($2ANE=30$ a 34), ao passo que se for analisada do ponto de vista do número diplóide de braços ($2AN=34$ a 60) e da morfologia dos cromossomos, percebe-se que essa variabilidade é bem ampla.

Diante dessas observações e de acordo com a hipótese da interação mínima, sob o prisma da qual a evolução do cariótipo foi discutida,

conclui-se que o cariótipo ancestral que deu origem aos *Trypoxylon*, com base nas espécies estudadas neste trabalho e nas descritas na literatura (HOSHIBA e IMAI, 1993), provavelmente tinha baixo número de cromossomos, e a evolução seguiu em direção ao aumento do número de cromossomos, por fissões cêntricas.

Os resultados obtidos sugerem que o agente principal da variabilidade cariotípica, após a ocorrência de fissões cêntricas, seja decorrente do conteúdo e da distribuição da heterocromatina constitutiva, sendo também atribuída aos rearranjos de inversões pericêntricas, inversões paracêntricas, mudança do centrômero funcional e fusões cêntricas. Essas observações reforçam a hipótese da interação mínima de IMAI et alii (1986, 1988a, b).

A discussão da evolução do cariótipo com base na hipótese da interação mínima é coerente, embora os dados não permitam maiores discussões a esse respeito. Uma discussão mais aprofundada poderá ser assunto para trabalhos futuros, os quais poderão vir a confirmar ou não as pressuposições aqui apresentadas.

BIBLIOGRAFIA

AMARANTE, S.T.P. Three new neotropical species of *Trypoxylon* (*Trypargilum*) (Hymenoptera: Sphecidae). R. Bras. Ent., 35(2): 429-437, 1991.

BIBLIOGRAFIA

BATTAGLIA, H. Cytogenetics of B-chromosomes. *Caryologia*, 17: 245-299, 1964.

BIANCHI, N.O. Duplicación cromosómica y heterocromatina a nível molecular y citológico. Washington, D.C., Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, 1978. 98p.

BOHART, R.M. & MENKE, A.S. Sphecidae wasps of the world: a generic revision. Berkeley, University of California Press, 1976. 695p.

BROWN, S.W. Heterochromatin. *Science*, 151: 417-425, 1966.

CHLLA, D.M. Estudos cromossômicos através do uso de técnicas de coloração diferencial em espécies da família Acrididae (Orthoptera, Caellifera, Ommatolampinae, Cyrtacanthacridinae, Metanoptinae). Rio Claro, UNESP, 1987. 201p. (Tese D.S.).

COMINGS, D.E. & OKADA, T.A. Whole-mount electron microscopy of the centromere region of metacentric and telocentric mammalian chromosomes. *Cytogenetics*, 9(6): 436-449, 1970.

- COSTA, M.A.; POMPOLO, S.G.; CAMPOS, L.A.O. Supernumerary chromosomes in *Parramona exilis* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). *Braz. J. Genet.*, **15**(4): 801-806, 1992.
- COSTA, M.A.; POMPOLO, S.G.; MELO, G.A.R.; CAMPOS, L.A.O. Karyotypes and heterochromatin distribution (C-band patterns) in three species of *Microstigma* wasps (Hymenoptera, Sphecidae, Pemphredoninae). *Braz. J. Genet.*, **16**(4): 923-926, 1993.
- COVILLE, R.E. Biological observations on *Trypoxylon arizabense* in Arizona - USA (Hymenoptera, Sphecidae). *J. Kansas Entomol. Soc.*, **52**(3): 613-620, 1979.
- COVILLE, R.E. Biological observations on three *Trypoxylon* wasps in the subgenus *Trypargilon* (*T. nitidum* schultzei, *T. saucurei*, *T. lachnatae*) (Hymenoptera: Sphecidae). *The Pan-Pacific Entomol.*, **52**(2): 332-340, 1981.
- COVILLE, R.E. Wasps of the genus *Trypoxylon* subgenus *Trypargilon* in North America. *Systematic Entomology and Biogeography*, **1**: 1-11, 1981.
- AMARANTE, S.T.P. Three new neotropical species of *Trypoxylon* (*Trypargilon*) (Hymenoptera, Sphecidae). *R. Bras. Ent.*, **35**(2): 429-437, 1991.
- BATTAGLIA, E. Cytogenetics of B-chromosomes. *Caryologia*, **17**: 245-299, 1964.
- BIANCHI, N.O. **Duplicacion cromosomica y heterocromatina a nivel molecular y citologico**. Washington, D.C., Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico, 1978. 98p.
- BOHART, R.M. & MENKE, A.S. **Sphecidae wasps of the world: a generic revision**. Berkeley, University of California Press, 1976. 695p.
- BROWN, S.W. Heterochromatin. *Science*, **151**: 417-425, 1966.
- CELLA, D.M. **Estudos cromossômicos através do uso de técnicas de coloração diferencial em espécies da família Acrididae (Orthoptera, Caelifera, Ommatolampinae, Cyrtacanthacridinae, Melanoplinae)**. Rio Claro, UNESP, 1987. 201p. (Tese D.S.).
- COMINGS, D.E. & OKADA, T.A. Whole-mount electron microscopy of the centromere region of metacentric and telocentric mammalian chromosomes. *Cytogenetics*, **9**(6): 436-449, 1970.

- COSTA, M.A.; POMPOLO, S.G.; CAMPOS, L.A.O. Supernumerary chromosomes in *Partamona cupira* (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). **Braz. J. Genet.**, 15(4): 801-806, 1992.
- COSTA, M.A.; POMPOLO, S.G.; MELO, G.A.R.; CAMPOS, L.A.O. Karyotypes and heterochromatin distribution (C-band patterns) in three species of *Microstigmus* wasps (Hymenoptera, Sphecidae, Pemphredoninae). **Braz. J. Genet.**, 16(4): 923-926, 1993.
- COVILLE, R.E. Biological observations on *Trypoxylon orizabense* in Arizona - USA (Hymenoptera, Sphecidae). **J. Kansas Entomol. Soc.**, 52(3): 613-620, 1979.
- COVILLE, R.E. Biological observations on three *Trypoxylon* wasps in the subgenus *Trypargilum* from Costa Rica: *T. nitidum schulthessi*, *T. saussurei*, *T. lactitarse* (Hymenoptera: Sphecidae). **The Pan-Pacific Entomol.**, 57(2): 332-340, 1981.
- COVILLE, R.E. Wasps of the genus *Trypoxylon* subgenus *Trypargilum* in North America (Hymenoptera: Sphecidae). **Univ. Calif. Publ. Entomol.**, 97: 1-147, 1982.
- COVILLE, R.E. & COVILLE, P.L. Nesting biology and male behavior of *Trypoxylon (Trypargilum) tenocitlan* in Costa Rica (Hymenoptera: Sphecidae). **Ann. Entomol. Soc. Amer.**, 73: 110-119, 1980.
- COVILLE, R.E. & GRISWOLD, C. Nesting biology of *Trypoxylon kanthandrum* in Costa Rica with observations on its spider prey (Hymenoptera: Sphecidae; Araneae: Senoculidae). **J. Kansas Entomol. Soc.**, 56(2): 205-216, 1983.
- COVILLE, R.E. & GRISWOLD, C. Biology of *Trypoxylon (Trypargilum) superbum* (Hymenoptera: Sphecidae), a spider-hunting wasp with extended guarding of the brood by males. **J. Kansas Entomol. Soc.**, 57(3): 365-376, 1984.
- CROSLAND, M.W.J. & CROZIER, R.H. *Myrmecia pilosula*, an ant with only one pair of chromosome. **Science**, 231: 1278, 1986.
- CROZIER, R.H. Cytotaxonomic studies on some Australian Dolichoderine ants (Hymenoptera: Formicidae). **Caryologia**, 21: 241-259, 1968.
- CROZIER, R.H. Chromosome number polymorphism in an Australian Ponerine ant. **Can. J. Genet. Cytol.**, 11: 333-339, 1969.

- CROZIER, R.H. Karyotypes of twenty-one ant species (Hymenoptera: Formicidae), with reviews of the known ant karyotypes. *Can. J. Genet. Cytol.*, 12: 109-128, 1970a.
- CROZIER, R.H. Pericentric rearrangement polymorphism in a North American Dolichoderine ant (Hymenoptera: Formicidae). *Can. J. Genet. Cytol.*, 12: 541-546, 1970b.
- CROZIER, R.H. Hymenoptera. In: JOHN, B., ed. Animal cytogenetics. Berlin, Gebrüder Borntraeger, 1975. v.3. (Insecta, 7). p. 1-95.
- CROZIER, R.H. Evolutionary genetics of the Hymenoptera. *Ann. Rev. Entomol.*, 22: 263-288, 1977.
- CRUZ-LANDIM, C. Haplo-diploidia em Hymenoptera. *R. Bras. Genet.*, 7(3): 433-449, 1984.
- GOBBI, N.; SAKAGAMI, S.F.; ZUCCHI, R. Nesting biology of a quasisocial Sphecid Wasp *Trypoxylon fabricator*. *Jpn. J. Entomol.*, 59(1): 37-51, 1991.
- GONI, B.; IMAI, H.T.; KUBOTA, M.; KONDO, M.; YONG, H.; THO, Y.P. Chromosome observations of tropical ants in western Malasya and Singapore. *Ann. Rep. Nat. Instit. Genet.*, 32: 71-73, 1981.
- GONI, B.; ZOLESSI, L.C.; IMAI, H.T. Karyotypes of thirteen ant species from Uruguay (Hymenoptera, Formicidae). *Caryologia*, 36(4): 363-371, 1983.
- GOODPASTURE, C. Karyology and taxonomy of some species of Eumenid wasps (Hymenoptera: Eumenidae). *J. Kansas Entomol. Soc.*, 47(3): 364-372, 1974.
- GOODPASTURE, C. & GRISSEL, E.E. A karyological study of nine species of *Torymus* (Hymenoptera: Torymidae). *Can. J. Genet. Cytol.*, 17: 413-422, 1975.
- HOSHIBA, H. G-banding analysis of two species of the Hornets, *Vespa mandarinia* Smith and *Vespa simillima xanthoptera* Cameron (Vespidae, Hymenoptera). *Proc. Japan Acad.*, ser. B, 61: 116-118, 1985a.
- HOSHIBA, H. The karyological and the G-banding analyses of a *Polistes* male wasp, *Parapolibia indica* Saussure (Vespidae, Hymenoptera). *Proc. Acad.*, 61, ser. B: 119-120, 1985b.

- HOSHIBA, H. Karyotype studies on two species of Polistinae, *Polistes chinensis* and *P. nimpha* (Vespidae, Hymenoptera). **Chromosome Information Service**, 40: 26-28, 1986.
- HOSHIBA, H. & ONO, M. The early emerging male of the Japanese paper wasp, *Polistes snelleni* Saussure (Vespidae, Hymenoptera) and its chromosomes. **Proc. Japan Acad.**, 60, ser. B: 368-371, 1984.
- HOSHIBA, H. & YAMAMOTO, H. Karyological studies on the three species of the haploid males of Vespinae, *Vespa mandarinia* Smith, *V. simillima xanthoptera* Cameron and *Vespula flaviceps* (Smith) (Vespidae, Hymenoptera). **Proc. Japan Acad.**, 61, ser. B: 67-70, 1985.
- HOSHIBA, H.; MATSUURA, M.; IMAI, H.T. Karyotype evolution in the social wasps (Hymenoptera, Vespidae). **Jpn. J. Genet.**, 64: 209-222, 1989.
- HOSHIBA, H. & IMAI, H.T. Chromosome evolution of bees and wasps (Hymenoptera, Apocrita) on the basis of C-banding pattern analyses. **Jpn. J. Entomol.**, 61(3): 465-492, 1993.
- HSU, T.C. A possible function of constitutive heterochromatin: the bodyguard hypothesis. **Genetics**, 79: 137-150, 1975.
- HSU, T.C.; PATHAK, S.; CHEN, T.R. The possibility of latent centromeres and a proposed nomenclature system for total chromosome and whole arm translocations. **Cytogenet. Cell Genet.**, 15: 44-49, 1975.
- HUNG, A.C.F. Chromosomes of three Brachymeria species (Hymenoptera: Chalcididae). **Experientia**, 42: 579-580, 1986.
- HUNG, A.C.F.; REED, H.C.; VINSON, S.B. Chromosomes of four species of *Polistes* wasps (Hymenoptera: Vespidae). **Caryologia**, 34(2): 225-230, 1981.
- HUNTER JR., H.W. & BARTLETT, A.C. Chromosome number of the parasitic Encyrtid *Copidosoma truncatellum*. **Ann. Entomol. Soc. Am.**, 68: 61, 1975.
- IMAI, H.T. Karyological studies of Japanese ants I. Chromosome evolution and species differentiation in ants. **Sci. Rep. T. K. D.**, Sect. B., 14(206): 27-46, 1969.

- IMAI, H.T. Karyological studies of Japanese ants II. Species differentiation in *Aphaenogaster*: with special regard to their morphology, distribution and chromosomes. **Mushi**, 44(3): 137-151, 1971.
- IMAI, H.T. B-chromosomes in the Myrmicine ant, *Leptothorax spinosior*. **Chromosoma**, 45: 431-444, 1974.
- IMAI, H.T. Evidence for non-random localization of the centromere on Mammalian chromosomes. **J. Theor. Biol.**, 49: 111-123, 1975.
- IMAI, H.T. Further evidence and biological significance for non-random localization of the centromere on mammalian chromosomes. **J. Theor. Biol.**, 61: 195-263, 1976.
- IMAI, H.T. On the origin of telocentric chromosomes in Mammals. **J. Theor. Biol.**, 71: 619-637, 1978.
- IMAI, H.T. Mutability of constitutive heterochromatin (C-bands) during eukaryotic chromosomal evolution and their cytological meaning. **Jpn. J. Genet.**, 66: 635-661, 1991.
- IMAI, H.T. A theoretical approach to chromosome banding pattern analysis. **Jpn. J. Genet.**, 68: 97-118, 1993.
- IMAI, H.T. & KUBOTA, M. Karyological studies of Japanese ants (Hymenoptera: Formicidae). III. **Chromosoma**, 37: 193-200, 1972.
- IMAI, H.T. & KUBOTA, M. Chromosome polymorphism in the ant, *Pheidole nodus*. **Chromosoma**, 51: 391-399, 1975.
- IMAI, H.T.; CROZIER, R.H.; TAYLOR, R.W. Karyotype evolution in Australian ants. **Chromosoma**, 59: 341-393, 1977.
- IMAI, H.T. & MARUYAMA, T. Karyotype evolution by pericentric inversion as a stochastic process. **J. Theor. Biol.**, 70: 253-261, 1978.
- IMAI, H.T. & CROZIER, R.H. Quantitative analysis of directionality in mammalian karyotype evolution. **Amer. Natl.**, 116: 537-569, 1980.
- IMAI, H.T.; BARONI-URBANI, C.; KUBOTA, M.; SHARMA, G.P.; NARASIMHANNA, M.N.; DAS, B.C.; SHARMA, A.K.; SHARMA, A.; DEODIKAR, G.B.; VAIDYA, V.G.; RAJASEKARASETTY, M.R. Karyological survey of Indian ants. **Jpn. J. Genet.**, 59: 1-32, 1984a.

- IMAI, H.T.; BROWN JR., W.L.; KUBOTA, M.; YOND, S.; THO, Y.P. Chromosome observations of tropical ants western Malaysia (2). *Annu. Rep. Natl. Inst. Genet.*, 34: 66-69, 1984b.
- IMAI, H.T.; MARUYAMA, T.; GOJOBORI, Y.I.; CROZIER, R.S. Theoretical bases for karyotype evolution. 1. The minimum-interaction hypothesis. *Amer. Nat.*, 128(6): 900-920, 1986.
- IMAI, H.T.; TAYLOR, R.W.; CROSLAND, M.W.J.; CROZIER, R.H. Modes of spontaneous chromosomal mutation and karyotype evolution in ants with reference to the minimum interaction hypothesis. *Jpn. J. Genet.*, 63: 159-185, 1988a.
- IMAI, H.T.; TAKAHATA, N.; MARUYAMA, T.; DANIEL, A.; HONDA, T.; MATSUDA, Y.; MORIWAKI, K. Theoretical bases for karyotype evolution. II. The fusion burst in man and mouse. *Jpn. J. Genet.*, 63: 313-342, 1988b.
- IMAI, H.T. & TAYLOR, R.W. Chromosomal polymorphisms involving telomere fusion, centromeric inactivation and centromere shift in the ant *Myrmecia (pilosula)* $n=1$. *Chromosoma*, 98: 456-460, 1989.
- IMAI, H.T.; TAYLOR, R.W.; KUBOTA, M.; OGATA, K.; WADA, M.Y. Notes on the remarkable karyology of the primitive ant *Nothomyrmecia macrops*, and of the related genus *Myrmecia* (Hymenoptera: Formicidae). *Psyche*, 97(3/4): 133-140, 1990.
- KERR, W.E. A variação do número de cromossomos na evolução dos Hymenoptera. *Sci. Genet.*, 4(3): 182-190, 1952.
- KERR, W.E. Some aspects of the evolution of social bees (Apidae). *Evol. Biol.*, 3: 119-175, 1969.
- KERR, W.E. Numbers of chromosomes in some species of bees. *J. Kans. Entomol. Soc.*, 45(1): 111-122, 1972.
- KERR, W.E. & SILVEIRA, Z.V. Karyotypic evolution of bees and corresponding taxonomic implications. *Evolution*, 26(2): 197-202, 1972.
- KROMBEIN, K.V. *Trap-nests wasps and bees: life histories, nests and associates*. Washington, Smithsonian Institute Press, 1967. 570 p.
- MACHIDA, J. The spermatogenesis of three species of *Polistes* (Hymenoptera). *Proc. Imp. Acad. Japan.*, 10: 515-518, 1934.

- MATTHEY, R. Chromosome formulae of eutherian mammals. In: CHIARELLI, A.B. & CAPPANA, E. (eds.) **Cytotaxonomy and vertebrate evolution**. London, Academic Press, 1973. 783p.
- MISRA, J.S.; SRIVASTAVA, M.D.L. Chromosomal changes correlated with differentiation during embryonic development of *Polistes hebraeus* (Family: Vespidae Order: Hymenoptera). **Proc. Natl. Acad. Sci. India**, ser. B, 41: 97-112, 1971.
- NAITO, T. Chromosomes of the *Tenthredo olivacea-mesomelas* group (Hymenoptera, Tenthredinidae). **Kontyû**, 46(2): 257-263, 1978a.
- NAITO, T. Chromosomes of the genus *Macrophya* Dahlbom (Hymenoptera, Tenthredinidae). **Kontyû**, 46(3): 470-479, 1978b.
- NAITO, T. Chromosome number differentiation in sawflies and its systematic implication (Hymenoptera, Tenthredinidae). **Kontyû**, 50(4): 569-587, 1982.
- NEIBUHR, E. Dicentric and monocentric Robertsonian translocations in man. **Hum. Genet.**, 16: 217-226, 1972.
- OHNO, S. The mammalian genome in evolution conservation of the original X-linkage group. In: Benirschke, K. (ed.) **Comparative mamalian cytogenetics**, Springer-Verlag, 1969. s.p.
- PALOMEQUE, T.; CHICA, E.; GUARDIA, R.D. Karyotype evolution and chromosomal relationships between several species of the genus *Aphaenogaster* (Hymenoptera, Formicidae). **Caryologia**, 46(1): 25-40, 1993.
- POMPOLO, S.G. & TAKAHASHI, C.S. Karyotype of two species of wasps of the genus *Polistes* (Polistinae, Hymenoptera). **Insec. Sociaux**, 33: 142-148, 1986.
- POMPOLO, S.G. & TAKAHASHI, C.S. Cytogenetics of brazilian Polybiini wasps (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae). **R. Bras. Genet.**, 10: 483-496, 1987.
- POMPOLO, S.G. & TAKAHASHI, C.S. Karyotype of ten species of social wasps (Hymenoptera, Polistinae, Polybiini). **R. Bras. Genet.**, 13(3): 469-477, 1990a.
- POMPOLO, S.G. & TAKAHASHI, C.S. Chromosome numbers and C-banding in two wasp species of the genus *Polistes* (Hymenoptera, Polistinae, Polistini). **Insec. Sociaux**, 37(3): 251-257, 1990b.

- POMPOLO, S.G. Estudos citogenéticos em Meliponinae. In: ENCONTRO BRASILEIRO SOBRE BIOLOGIA DE ABELHAS E OUTROS INSETOS SOCIAIS, 1, Rio Claro, 1992. *Anais...* Rio Claro, UNESP, 1992. p. 62-66.
- RICHARDS, O.W. The american species of the genus *Trypoxylon*. *Trans. R. Entomol. Soc.*, 82: 173-362, 1934.
- SILVEIRA, Z.V. Número de cromossomos em Meliponideos brasileiros. *Ci. Cult.*, 23: 105-106, 1971.
- SILVEIRA, Z.V. Número de cromossomos em Meliponideos brasileiros. II. *Ci. Cult.*, 24(6): 160, 1972.
- SUMNER, A.T. A simple technique for demonstration centromeric heterocromatin. *Exp. Cell. Res.*, 75: 304-306, 1972.
- SWANSON, C.P.; MERZ, T.; YOUNG, W.J. *Cytogenetics*. 2.ed., Englewood Cliffs, Prentice-Hall, 1981. 577p.
- TARELHO, Z.V.S. *Contribuição ao estudo citogenético dos Apoidea*. Ribeirão Preto, USP, 1973. 112p. (Tese M.S.).
- THERMAN, E.; SARTO, G.E.; PATAU, K. Apparently isodicentric but functionally monocentric X-chromosome in man. *Amer. J. Hum. Genet.*, 26: 83-92, 1974.
- TODD, N.B. Karyotypic fissioning and canid phylogeny. *J. Theor. Biol.*, 26: 445-480, 1970.
- TODD, N.B. Chromosomal mechanisms in the evolution of artiodactyls. *Paleobiology*, 1:175-188, 1975.
- VERMA, R.S. *Heterochromatin*; molecular and structural aspects. Cambridge, Cambridge University Press, 1988. 301p.
- VOLOBUJEV, V.T. B-chromosomes system of the mammals. *Caryologia*, 34: 1-23, 1981.
- WHITE, M.J.D. *Animal cytology and evolution*. 3. ed., London, Cambridge University Press, 1973. 961 p.
- WILSON, E.O.. *The insects societies*. Cambridge, Belknap Press of Harvard University, 1971. 548 p.