

# Arquivos de Zoologia

ARQ. Zool., S. PAULO, VOL. 21 (4):179-134

30.X.1971

## DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO DE ABELHAS OPERÁRIAS DE *TRIGONA (SCAPTOTRIGONA) POSTICA* LATREILLE (HYMENOPTERA, MELIPONINAE)

DARVIN BEIG

### ABSTRACT

*The present study is a chronological account of the development and differentiation of the various tissues and organs of the female stingless bee Trigona (Scaptotrigona) postica Latr.*

*A description of its embryology based on microscopic observations of embryos reared at 28°C is presented. Whole mounts of living and fixed embryos and sectioned material representing the first 66-68 hours of the life cycle (to hatching) were analyzed in this investigation.*

*The results obtained lead to the following conclusions: 1) diploid egg, somewhat concave dorsally and slightly convex ventrally, averages 1.185 mm  $\pm$  0.024 mm in length and 0.36 mm  $\pm$  0.05 mm in its greatest diameter just behind the anterior end; 2) the embryogenesis in this egg is very similar to that of Apis mellifera L.; 3) eggs have shown a morphological characteristic on its dorsal side associated with the polar protoplasm. It was named as "longitudinal dorsal line" and till now we don't know its function; 4) the egg periplasm is thin and totally utilized by the blastoderm cells during its differentiation; 5) the germ band or embryonic rudiment is formed at the ventral egg portion. As the embryonic rudiment elongates forcing its extremities around the egg poles, the stomodeum and proctodeum appear as ectodermal invaginations on its anterior surface and its postero-dorsal surface respectively. The serosa is the single extraembryonic membrane and arises as a peripheral extension of the dorsal blastoderm; 6) the Malpighian tubules (four) arise as two pairs of outpocketings from the blind end of the proctodeum; 7) within two hours after the anterior mesenteron rudiment begins its formation a similar group of cells, destined to form the posterior one appears behind the middle plate; 8) abdominal appendages as vestigial structures appear between 50-66 hours of development; 9) external segmentation for the most part a gradual process starts after 20 hours of development. The first transverse epidermal furrow corresponds to that dividing the II maxilla and the I thoracic. Eleven abdominal segments are present during embryonic development; 10) there is no blastokinetic movement during embryogenesis of these bees.*

### INTRODUÇÃO

Os insetos têm constituído um excelente material de pesquisa, não só pelo grande número de espécies atuais, mas também, pelas adaptações

---

Departamento de Morfologia Animal da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, Rio Claro, São Paulo. Sob os auspícios da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e Conselho Nacional de Pesquisas (CNPq).

dos seus respectivos hábitos biológicos, especialmente aqueles relacionados à oogênese e à oviposição. Estudos citológicos, histológicos, ecológicos, sistemáticos, genéticos e evolutivos sobre os meliponíneos demonstram que essas abelhas formam dentro da família Apidae um grupo bem diversificado. Sem dúvida, o conhecimento dessas diferenças estimula um aprofundamento ainda maior na investigação de tudo o que a elas se refere.

Sobre o desenvolvimento embrionário nessas espécies, temos pouca ou praticamente nenhuma informação. Foi pensando nessa falta de informação que procuramos fazer um estudo cronológico do desenvolvimento e diferenciação dos diferentes tecidos e órgãos das abelhas operárias de *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latr., até o momento em que elas eclodem do ovo. Ao mesmo tempo, tentando esclarecer algumas dúvidas existentes quanto a essas abelhas em relação aos demais apídeos sociais.

#### HISTÓRICO

Bastante variáveis são as opiniões a respeito da embriogênese nos artrópodos, particularmente entre os insetos. As principais razões disso estão relacionados aos diferentes pontos de vista a respeito da organização dos embriões e à maneira de diferenciação dos seus epitélios germinativos.

Consideramos desnecessária e praticamente impossível apresentar uma completa revisão bibliográfica sobre a embriologia na Classe Insecta. Sendo assim, nos limitamos a apresentar, em ordem cronológica, os principais trabalhos sobre a Ordem Hymenoptera, incluindo ainda, pela sua importância, outras citações colaterais.

A referência mais antiga sobre a embriologia dos Hymenoptera, especificamente, *Apis mellifera* Linnaeus, é a de Bütschli (1870). Estudando ovos no estado natural, figurou e descreveu os acontecimentos como pôde observar através do cório. Embora tenha conseguido informações valiosas, seus resultados foram limitados pelos métodos de que dispunha.

Kowalevsky (1871) inclui boas observações feitas em ovos de *Apis mellifera*, tanto em material vivo como em espécimes fixados e preparados para histologia. Material e métodos semelhantes foram usados por Grassi (1884, 1886). Seus resultados foram considerados até 1915 como sendo os mais completos sobre embriologia de insetos.

Os trabalhos de Carrière (1890 a, b) e Carrière & Bürger (1897) sobre o desenvolvimento embrionário de *Chalicodoma muraria* Fabr. (Megachilidae) representam contribuições básicas e de grande valor para quem se dedica a esse campo de pesquisa.

Durante a segunda década do século XX, muito pouco foi publicado sobre a embriologia de Hymenoptera, salvo os trabalhos de Nelson (1911, 1912, 1914 e 1915). Informações sobre a estrutura do ovo de *Apis mellifera*, aspectos da fecundação, fenômenos de segmentação, gastrulação, organogênese e eclosão da larva podem ser encontradas na

contribuição de 1915. Embora considerada como uma publicação relativamente antiga, tem servido de base para qualquer estudo de embriologia.

Os processos fisiológicos que determinam ou coordenam as diferentes fases do desenvolvimento embrionário foram e têm sido discutidos nos estudos experimentais. Nesse particular, o primeiro "centro de diferenciação" foi descrito em ovos de *Apis mellifera* por Schnetter (1934 a, b). Tal característica aparece na parte anterior do ovo, ao nível do seu maior diâmetro, coincidindo com a zona onde os núcleos mitóticos chegam à superfície em primeiro lugar e estabelecem as primeiras células blastodermis. Depois da segmentação do corpo, esse centro fica incluído no primeiro segmento torácico. Diferenciação, segundo o autor, consiste na realização das capacidades de uma região do ovo adquiridas pela precoce ou simultânea diferenciação química.

Os demais trabalhos relacionados a esse assunto estão incluídos nas revisões de Richards & Miller (1937) e Krause (1939 a).

Aos interessados em uma revisão bastante completa sobre embriologia de insetos, até esta data, recomendamos o artigo de Roonwal (1938).

Além do centro de diferenciação, Krause (1939 a) discutiu a existência dos centros de "segmentação" e de "formação". O primeiro, na extremidade cefálica e anterior ao centro de diferenciação, enquanto o segundo está na extremidade posterior. Verificou, ainda, que os componentes estruturais dos ovos podiam variar segundo a espécie. Quanto maior a quantidade de material citoplasmático dentro do ovo, tanto mais diferenciado e, conseqüentemente, cada vez menor a sua capacidade de regulação. O inverso também é correto. Além disso, a velocidade com que os núcleos migram durante a segmentação e a direção tomada durante esta migração variam conforme a estrutura do ovo.

Johannsen & Butt (1941), num esforço de reunirem os aspectos do desenvolvimento sob o ponto de vista comparativo e histórico, publicaram um dos mais completos compêndios de embriologia de insetos, que nos auxiliou muito durante a realização deste trabalho.

O desenvolvimento embrionário de alguns himenópteros parasitas é muito semelhante àquêle de *Apis mellifera* segundo Nelson (1915). Dados que comprovam esta afirmação podem ser encontrados nas publicações de Bronskill (1959, 1964) e Amy (1961). O primeiro, descrevendo, respectivamente, os embriões de *Pimpla turionella* L. e *Mesoleius tenthredinis* Morl., conseguiu demonstrar que a condição de parasitismo quase não influi na embriogênese dessas espécies. O segundo, Amy, trabalhando com *Bracon hebetor* Say, conseguiu fazer um estudo cronológico do desenvolvimento e da diferenciação dos vários tecidos e órgãos do macho, chegando a conclusões muito semelhantes.

Sobre embriologia dos meliponíneos citamos apenas os trabalhos de Cruz Landim (1966), onde foram considerados alguns aspectos da embriogênese de *Melipona quadrifasciata anthidioides* Lep. e Cruz Landim (1967), no qual um pequeno parágrafo foi reservado para o estudo do desenvolvimento das glândulas do sistema salivar.

## MATERIAL E MÉTODOS

## MATERIAL

Usamos como material abelhas pertencentes à espécie *Trigona (Scaptotrigona) postica* Latr., provenientes dos arredores de Piracicaba, São Paulo, Brasil, e disponíveis no Departamento de Morfologia Animal da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro. Ovos e embriões foram sempre obtidos de colônias normais (com rainha), de acordo com métodos descritos no parágrafo seguinte.

## MÉTODOS

Para conseguirmos embriões que representassem todos os estágios do desenvolvimento e com idades bem determinadas, fomos obrigados a procurar um meio de mapear as posturas da rainha.

## A. Colmeias de observação

Transferimos tôdas as abelhas (rainha fecundada, rainhas virgens, operárias e machos), favos de cria, potes de mel e pólen retirados de uma colônia normal, para uma "colmeia de observação", tipo normalmente usado para meliponíneos.

Colmeia dêsse tipo foi usada pela primeira vez por Kerr & Krause (1950). Permitia às abelhas a construção de um único favo horizontal, tinha a fonte de aquecimento fora da caixa e o termostato no interior da mesma. Tal colmeia foi modificada por Araujo (comunicação pessoal, 1963), pelo uso de uma caixa dupla de madeira; melhorada por Sakagami & Zucchi (1963) quando colocaram a fonte de aquecimento (resistência elétrica associada a um termostato) no interior da caixa externa. Esse mesmo tipo foi por nós adaptado às exigências do presente trabalho. Depois desta adaptação, a mesma passou a constituir-se de uma caixa interna que media 430 mm de comprimento por 330 mm de largura, por 20 mm de altura, possibilitando aumento, na altura, de 5 mm de cada vês. A caixa externa media 630 mm de comprimento por 520 mm de largura, por 120 mm de altura. A primeira (interna) era recoberta por 4 a 8 placas de vidro com 3 mm de espessura, a fim de permitir o acesso parcial, sem necessidade de se retirarem tôdas as placas. A segunda (externa) era equipada com uma resistência elétrica associada a um ou dois termostatos para manter no interior do ninho, a temperatura controlada ao redor de 28°C. Essa caixa era recoberta por duas placas de vidro de 3 mm de espessura e medindo, cada uma, 530 mm de comprimento por 320 mm de largura.

Embora a limitação de espaço interno nessas colmeias, especialmente em altura, tenha impedido a normal superposição dos favos de cria, esse fato não acarretou qualquer alteração na biologia das abelhas mantidas em seu interior, pois as mesmas continuaram ativas, com posturas normais e sem alteração no seu comportamento.

## B. Mapeamento

Sempre que 'desejávamos coletar material, acompanhávamos, durante 8 a 12 horas consecutivas, as posturas feitas pela rainha.

Nas placas de vidro, que recobriam a caixa interna, foram marcados com tinta nanquim branca os pontos correspondentes aos alvéolos em que a rainha depositava o ovo. Imediatamente depois de cada etapa de postura, fazíamos a substituição destas marcações por pequenos discos de esparadrapo com 3,5 mm de diâmetro (correspondente ao diâmetro de um alvéolo normal). Nesses discos anotávamos uma letra ou número, que nos permitia quando comparado com nossas anotações, conhecer a hora exata da postura e portanto, a idade exata do embrião. Esse método, por nós introduzido, satisfaz plenamente, porque, além de permitir a anotação de um código, proporcionava a fácil colagem e remoção daqueles discos de sobre a placa de vidro, garantindo uma fiel reprodução do favo, que se encontrava normalmente a 10, 15 ou até 20 mm abaixo da placa de vidro. Isto foi muito importante, considerando que no momento de se coletar o material, precisávamos levantar a placa de vidro e desopercular os alvéolos que correspondiam exatamente à marcação previamente feita. Pela posterior colocação da placa em sua posição original e pela remoção dos discos de esparadrapo, um a um, correspondentes a uma determinada postura, sempre foi possível confirmar a obtenção do material desejado.

### 1. Fixação

Os ovos e embriões foram normalmente fixados com intervalos regulares de duas horas. De cada estágio, isto é, desde zero até 68-70 horas de desenvolvimento, foram coletados e fixados de 15 a 20 exemplares.

Testamos a eficácia de diferentes fixadores, entre eles: Helly, Petrunkevitch, Zenker, Carnoy, Bouin, Bouin-Duboscq-Brasil. Os três primeiros, por serem fixadores aquosos e exigirem uma lavagem muito prolongada depois da fixação, não mostraram bons resultados não só pela fixação muito lenta, mas também, porque os ovos se entumesceram devido à entrada de água.

A mistura de Carnoy garantiu uma boa fixação, mas os ovos ficaram quebradiços e surgiram vacúolos anormais no ooplasma.

Bons resultados foram conseguidos com o fixador Bouin (água destilada, 190 ml; ácido pícrico, 2,4 g; formol 40%, 60 ml; ácido acético glacial, 12,5 ml) (Gray, 1954), que tem um bom poder de penetração, é de fácil aplicação e não exige cuidados especiais. Este fixador foi usado tanto a frio como aquecido a 50-60°C.

As melhores preparações foram conseguidas, quando usamos como fixador o líquido segundo Bouin-Duboscq-Brasil, cuja composição é a seguinte: álcool 80%, 150 ml; ácido pícrico, 2,4 g; formalina 40%, 60 ml; ácido acético glacial, 12,5 ml (Gray, 1954). Além de garantir uma fixação muito mais rápida e ter as mesmas propriedades do Bouin normal, favoreceu a coloração ulterior.

Os ovos quando retirados dos alvéolos, foram então transferidos para o líquido de Bouin-Duboscq-Brasil, previamente aquecido a 50-60°C, por 3 a 5 minutos. Depois disso, mantendo-se dentro do fixador, perfuramos o cório do ovo nas duas extremidades, a fim de favorecer a desidratação e prevenir possíveis deformações no ovo. Isto conseguimos sob microscópio estereoscópio e com auxílio de duas agulhas especialmente afiladas. Os ovos, assim preparados, permaneceram na mistura fixadora por mais 12 a 24 horas. A conservação do material foi feita em álcool etílico a 80%.

## 2. Coloração e montagens totais

Para estudar as alterações morfológicas durante o desenvolvimento embrionário, usamos como corante o Bórax-Carmin-alcoólico (água destilada, 50 ml; carmin, 1,5 g; borato de sódio, 2 g; álcool 70%, 50 ml) (Gray, 1954).

No estudo da anatomia externa, foi suficiente uma supercoloração, por 5 minutos, seguida de uma diferenciação controlada em álcool etílico a 70%. A fim de facilitar a observação, sempre que possível, removemos o cório dos ovos.

Para as montagens totais, empregamos o mesmo corante, por um tempo nunca inferior a 12 horas, seguido de uma diferenciação em solução alcoólica de ácido hidrocloreídrico a 0,1%, até que o embrião adquirisse uma coloração rosa pálido. Depois disso, os mesmos foram desidratados da maneira usual e montados em bálsamo do Canadá, entre lâmina e lamínula.

## 3. Cortes seriados

Os embriões devidamente desidratados em álcool e diafanizados em xilol, foram incluídos em parafina pura (ponto de fusão = 56-58°C), depois de transferidos para três respectivos banhos, de no mínimo 2 horas cada um. Antes da microtomia, os blocos foram orientados de maneira a que os embriões nêles contidos, fôssem cortados transversal ou longitudinalmente. Os cortes com 7  $\mu$  de espessura, foram montados em lâminas, obedecendo a técnica para cortes seriados.

Como corantes histológicos, foram usados a Hematoxilina de Delafield e a Eosina, em solução alcoólica a 1%. Em seguida à coloração, procedeu-se a desidratação, diafanização e montagem em Bálsamo, conforme a maneira usual.

## 4. Ilustrações

As micrografias que representam cortes transversais, sagitais ou longitudinais, foram obtidas com auxílio de um fotomicroscópio Zeiss, a partir das lâminas de cortes seriados.

Convém lembrar, que as montagens que reúnem cortes transversais sempre incluem cortes que passaram pelas porções anterior, intermediárias ou medianas e uma última que corta a porção posterior. Normalmente, foram indicadas por uma letra do alfabeto, de A-F, na sequência acima indicada.

Em todos os casos, empregamos filme Agfa Isopan 40 ASA, sendo que as ampliações foram preparadas com papel Kodakbromide F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> ou F<sub>4</sub>.

## RESULTADOS

### 1. O ÔVO E SUAS ESTRUTURAS

Sempre que não nos referirmos especificamente a outra casta ou sexo, estaremos considerando o ovo pôsto pela rainha, que normalmente dá origem a uma abelha operária.

Esse ovo é alongado, bilateralmente simétrico e ligeiramente curvo em seu eixo longitudinal, tendo um de seus lados côncavo (dorsal) e outro convexo (ventral). Mede  $1,185 \text{ mm} \pm 0,024 \text{ mm}$  de comprimento, por  $0,36 \pm 0,05 \text{ mm}$  de largura, em seu maior diâmetro, ou seja, aproximadamente  $1/3$  do seu comprimento. Suas extremidades anterior e posterior podem ser facilmente reconhecidas pela diferença em seus diâmetros, ou seja, a mais larga correspondente à anterior (cefálica) e a mais estreita à posterior (caudal). Tem um aspecto esbranquiçado (leitoso) devido à regular quantidade de citoplasma, tornando-o opaco à luz refletida e pouco translúcido à luz transmitida.

Duas membranas acelulares delimitam o ovo, uma externa, o cório e a outra interna, a membrana vitelina. O cório é transparente, fino e flexível, mas muito resistente. Como nos ovos de outros insetos, mostra figuras diversas como pentágonos e hexágonos alongados em direção ao eixo longitudinal do ovo. Na extremidade anterior, onde o cório é mais espesso, estas figuras convergem para uma pequena área centro-apical, levemente projetada para cima; medindo de 14 a  $20 \mu$  de diâmetro, que representa a placa micropilar externa (fig. 1, a). O cone micropilar que se encontra na região de mesmo nome corresponde a uma diferenciação do próprio cório e projeta-se internamente (fig. 1, b). A sua porção proximal, muito próxima da membrana vitelina, mantém uma abertura circular por onde passa o canal micropilar. Esse conduto, de parede lisa e muito delgado, põe em contato o exterior do ovo com o ectoplasma polar. Como ele está obliquamente orientado e acompanha a parede interna do cone, o orifício micropilar onde ele desemboca fica excêntricamente localizado na placa de mesmo nome (fig. 1, b).

A membrana vitelina está intimamente associada à parede interna do cório e é representada pela condensação mais externa do ectoplasma.

O citoplasma é a substância fundamental do ovo e se apresenta sob dois aspectos: (1) o ectoplasma que se acomoda à superfície interna da membrana vitelina; (2) o endoplasma ou substância intersticial, que serve de suporte para todos os elementos do vitelo.

Na região anterior do ovo, o ectoplasma tem uma espessura de 13 a  $15 \mu$ , enquanto na metade posterior ele passa a ter apenas  $5 \mu$ . Além disso, na região da micrópila ele mostra uma projeção cônica voltada para o interior do ovo, que representa o ectoplasma polar. Esse último é contínuo com uma diferenciação do ectoplasma da região dorsal, na forma de uma linha mediana ântero-posterior, que consideramos como "linha longitudinal dorsal" (fig. 2, c, d; fig. 3, a, b).

O vitelo tem aspecto globular. Ao microscópio óptico distinguimos: (1) glóbulos grandes, com 35 a 40  $\mu$  de diâmetro; (2) glóbulos médios, com 7 a 24  $\mu$  de diâmetro; contendo no seu interior um líquido transparente; (3) glóbulos semelhantes aos anteriores, mas incluindo estruturas menores, aparentemente sólidas, com 3 a 4  $\mu$  de diâmetro; (4) glóbulos pequenos, com 3 a 7  $\mu$  de diâmetro, distribuídos de maneira mais ou menos uniforme por todo o ovo.

Nas preparações coradas pela Hematoxilina-eosina, o vitelo é eosinófilo e preenche parcialmente os espaços entre a substância intersticial, basófila.

## 2. SEGMENTAÇÃO E FORMAÇÃO DO BLASTODERMA

Como os ovos são centrolecíticos, a segmentação é do tipo incompleto e superficial, como acontece na maioria dos insetos. Células propriamente ditas, só ocorrem depois que os núcleos resultantes das clivagens alcançam e penetram o ectoplasma.

As primeiras divisões mitóticas ocorrem imediatamente depois da postura, enquanto o núcleo se encontra na porção anterior do ovo. A medida que eles se multiplicam, ficam organizados de modo a formarem uma figura elipsoidal, cujo eixo maior coincide com o eixo mediano, ântero-posterior do ovo (fig. 3, a). Durante essas divisões, os fusos mitóticos ficam tangencialmente orientados em relação à superfície da referida figura, de maneira que os núcleos resultantes ficam organizados numa só camada.

Decorridas as oito primeiras horas do desenvolvimento, os núcleos já se encontram tão próximos da superfície externa do ovo que acabam por alcançar o ectoplasma da região mediano-ventral. Verdadeiras células só foram estabelecidas depois dos núcleos invadirem o ectoplasma. Detalhes desse processo, como foram observados em embriões entre 8 e 24 horas de desenvolvimento, estão reproduzidos nos esquemas A-J da figura 7. Para facilitar a descrição, consideraremos, daqui em diante, o que acontece com um só núcleo.

Enquanto no início da clivagem o núcleo ocupava uma posição central no citoplasma que o acompanha, durante a migração, ele fica deslocado para a periferia do mesmo (fig. 7, a, b). Nessa oportunidade, torna-se alongado no sentido contrário ao do movimento, como se estivesse sofrendo pressão ântero-posterior (fig. 7, c). Durante a penetração no ectoplasma, o núcleo leva consigo uma pequena quantidade do citoplasma que o acompanhava, deixando, porém, o restante do mesmo junto do ectoplasma (fig. 7, d). Logo que chega à nova posição, se divide. O fuso de segmentação continua orientado paralelamente à superfície externa e os núcleos resultantes permanecem dispostos lado a lado. Em seguida, por invaginação da membrana vitelina nos espaços internucleares, é estabelecida a membrana celular. Contudo, até a 16.<sup>a</sup> hora do desenvolvimento, as células permanecem parcialmente diferenciadas, uma vez que a parte proximal permanece aberta e em contato com o ectoplasma (fig. 7, e, f). Duas horas mais tarde (18 horas), por invaginação e estrangulamento da porção proximal, as células ficam

individualizadas e, conseqüentemente, estabelecido o blastoderma primário. Tendo em conta que os primeiros núcleos a alcançarem o ectoplasma o fizeram na porção ântero-ventral, o blastoderma torna-se aí diferenciado em primeiro lugar. A medida que novas células vão sendo formadas, aquêle se projeta em direção às porções cefálica, caudal e dorsal.

Duas a quatro horas depois de formado o blastoderma primário, a parede proximal de suas células volta a se abrir e o restante do ectoplasma passa a ser gradativamente aproveitado, ao mesmo tempo em que é reiniciada a invaginação da membrana vitelina (fig. 7, g, h). Nova membrana é formada quando as células adquirem aspecto prismático, mais ou menos uniforme (fig. 7, j).

Apesar da migração dos núcleos em direção à periferia do ôvo, nem todos conseguem alcançar o ectoplasma e, por isso, permanecem no interior do citoplasma, como "vitelófagos" primários (fig. 9, b, d, e). Durante a formação do blastoderma, os vitelófagos foram encontrados, ora constituindo verdadeiras massas sinciciais, ora sôlto no vitelo e irregularmente distribuídos por todo o ôvo. Tais características foram também encontradas em outros insetos: *Chalicodoma muraria*, segundo Carrière & Bürger (1897); *Polistes*, segundo Marshall & Dernehl (1905); *Apis mellifera*, segundo Dickel (1904), Nelson (1915); e, *Melipona quadrifasciata*, por Cruz Landim (1966).

Vitelófagos secundários apareceram entre 18 e 24 horas de desenvolvimento, quando alguns núcleos de células blastodermas voltaram para o interior do ôvo, por migração centrípeta (fig. 12, b, c, d).

Como os vitelófagos participaram apenas da formação do endoderma primário e depois do revestimento do epitélio do intestino médio, corroboramos a afirmação de Nelson (1915), quando relaciona a função daquêles com a liquefação do vitelo.

### 3. DIFERENCIAÇÃO NO BLASTODERMA E GASTRULAÇÃO

A diferenciação no blastoderma teve início na porção dorsal do embrião, quando as respectivas células tornaram-se achatadas, os núcleos cada vez menos evidentes. Ficou assim formado o blastoderma dorsal ou extra-embriônico, que recobria toda a extensão ântero-posterior do embrião. Na sua porção mais larga, chegou a ocupar até 1/3 do diâmetro total do ôvo. Os 2/3 restantes, representando o blastoderma embriônico, esteve constituído por uma simples camada de células altas, cujos núcleos estavam centralmente localizados (fig. 10).

A gastrulação foi iniciada na superfície ventral do ôvo, quando se formaram dois sulcos longitudinais, ligeiramente curvos e com os lados convexos voltados um para o outro (fig. 8 b). Durante o estágio seguinte, 22 a 24 horas, o blastoderma passou a ter um aspecto pseudo-estratificado enquanto os sulcos de gastrulação se estendem por toda a superfície ventral. A faixa mediana, entre êles, corresponde a aproximadamente 1/6 do diâmetro total do ôvo e representa a placa mediano-ventral ou futuro mesoderma. As porções laterais correspondem às placas laterais (fig. 13 b).

Durante a gastrulação, essas duas placas se projetam em direção à linha mediano-longitudinal e empurram a placa mediana contra o vitelo. O contato entre elas, e a respectiva fusão, teve lugar no estágio de 28 a 30 horas de desenvolvimento, reconstituindo assim o ectoderma ventral (figs. 13, 14).

Proliferação celular é mais frequente no mesoderma presuntivo, onde os fusos mitóticos estão orientados perpendicular ou obliquamente à superfície externa do embrião. Essas células tornam-se alongadas ou piriformes, enquanto seus núcleos ocupam posições diversas.

Esse processo de gastrulação chega à sua fase final, quando o embrião atinge 32 a 34 horas de desenvolvimento, estando diferenciados o mesoderma e o ectoderma ventral. Em linhas gerais, esse processo corresponde àquele descrito por Kowalevski (1871), Grassi (1884) e Nelson (1915), ao estudarem *Apis mellifera*.

#### 4. SEGMENTAÇÃO DO CORPO

Divisões no mesoderma são aparentes depois da vigésima hora de desenvolvimento. O primeiro "sulco" visível aparece na porção ântero-ventral e corresponde àquêle que separa o 2.º segmento maxilar do 1.º torácico (fig. 8 b). Na realidade, os segmentos não ficam separados por verdadeiras fendas transversais, mas, por simples zonas de maior e menor concentração de células, o que externamente é indicado por áreas de coloração mais forte e mais fraca.

Os demais "sulcos" se sucedem rapidamente da região anterior para a posterior. No fim de 32 a 34 horas de desenvolvimento, quase todo o embrião está segmentado, sendo possível a distinção de 14 segmentos (fig. 13, b). Nos embriões com mais de 34 horas, a segmentação se processa também nas placas laterais. Dos 17 segmentos então existentes na região ventral e mais a porção cefálica, os 3 primeiros são incluídos na cabeça, os três seguintes no tórax e os 11 restantes no abdômen, concordando com o que acontece na maioria dos Pterigota. As 13 horas consumidas durante essa fase representam 1/5 do desenvolvimento embrionário dessa espécie.

A distinção entre os segmentos do tórax e do abdômen só é concreta depois de 36 horas, quando aparecem os apêndices torácicos e os 10 pares de espiráculos. Esses últimos, diferenciados ventro-lateralmente, ficam distribuídos entre o 2.º segmento torácico e o 8.º abdominal, inclusive (fig. 16, b).

A divisão da região dorsal coincide com o movimento médio-dorsal do ectoderma e conseqüente fechamento daquela, quando o embrião atinge o estágio de 64 a 68 horas.

#### 5. FORMAÇÃO DA CABEÇA

A primeira indicação da região cefálica aparece no embrião com 20 horas de desenvolvimento, quando fica demarcado, na placa mediano-ventral, o segmento maxilar II (fig. 8, b).

Concomitante à projeção das placas laterais na direção mediano-ventral (gastrulação), o ectoderma das porções látero-dorsais e ante-

riores ao segmento maxilar II se projeta no sentido mediano-dorsal, estabelecendo contornos arredondados e cobrindo toda a região ântero-dorsal do embrião (figs. 11 e 13). Como consequência desse progressivo desenvolvimento na região cefálica, uma pequena área mediano-dorsal é empurrada para dentro, contribuindo na formação do rudimento anterior do intestino médio (figs. 11, 13, 14 a, b). No fim de 32 horas de desenvolvimento, o ectoderma ântero-ventral já forma um epitélio contínuo e inicia a formação dos segmentos intercalar, mandibular e maxilar I (fig. 13 b).

Três pares de espessamentos ectodermiais, que representam o gânglio supra-esofágico ou cérebro da futura larva, puderam ser identificados no embrião com 32 a 34 horas. Correspondem ao que se considera como protocérebro, deutocérebro e tritocérebro. Esse último (segmento intercalar) é o mais anterior deles. Suas evaginações ficam associadas aos limites dos rudimentos mandibulares e se estendem em direção posterior, até encontrarem o deutocérebro. O protocérebro está localizado posteriormente e é o mais desenvolvido.

Como indicado na figura 16, nesta mesma região aparece o estomodeo, sendo que grande parte do cérebro se originou a partir dos espessamentos que o circundavam.

A partir da 38.<sup>a</sup> hora de desenvolvimento, todo esse conjunto sofre um deslocamento na direção ântero-ventral, ao mesmo tempo que o labro, como duas projeções mediano-dorsais, cresce entre os lobos do deutocérebro e cobrem paulatinamente o estomodeo (figs. 16, 17, 19). Consequentemente, o tritocérebro também é empurrado para baixo e passa a ocupar sua posição definitiva.

Na etapa final do desenvolvimento, isto é, depois de 51 horas, as antenas, que anteriormente ocupavam uma posição látero-dorsal, sofrem um deslocamento dorsal, entram em degeneração e ficam representadas por pequenas elevações arredondadas, de origem ectodermal (figs. 19, 21, 23).

Ainda em associação ao desenvolvimento da cabeça, precisamos considerar a formação das glândulas de sêda (1 par). São formadas a partir de invaginações do ectoderma ventro-lateral e aparecem nos embriões com mais de 42 horas de desenvolvimento (fig. 25 b, c). Como estão associadas aos rudimentos da maxila II são formadas como estruturas pares, que se projetam em direção à extremidade caudal do embrião. Essa condição, que não é exclusiva da maxila II, mas também dos outros rudimentos de peças bucais (maxila I, mandíbula), é pouco alterada devido a um movimento médio-cefálico ventral e a um rearranjo dessas peças ao redor do estomodeo. Além desse movimento, tem prosseguimento a invaginação do estomodeo, a projeção do labro e o deslocamento de todo o conjunto para uma posição mediano-ventral anterior.

Os rudimentos da maxila II aproximam-se cada vez mais até se fundirem, durante o estágio de 66 horas, constituindo o lábio (fig. 23). Com a formação desse último, as duas porções da glândula de sêda também se aproximam, se fundem e se comunicam externamente através de um orifício único. Nessa oportunidade, a porção proximal passa a ser representada por um tubo simples, que alcança o 1.<sup>o</sup> segmento to-

rácico; enquanto a porção distal fica bifurcada, os túbulos que a representam ficam localizados ventro-lateralmente entre a parede do intestino médio e a superfície dorso-lateral da corda nervosa ventral. Em sua extensão máxima, alcançada no fim do período embrionário, chegam a atingir a porção anterior do 6.º segmento abdominal (fig. 25 c). Em toda a sua extensão, apresenta aspecto tubular, em que cada um deles fica revestido por 5 a 7 células cúbicas, com núcleos arredondados e centrais.

Os lobos ópticos são derivados da porção interna e posterior do protocérebro. O olho composto é diferenciado a partir do espessamento ectodermal que fica na superfície do lobo óptico.

A cápsula cefálica definitiva só se formou depois de 68 horas de desenvolvimento; até então, persistia uma nítida fenda dorso-mediana entre os lobos direito e esquerdo.

#### 6. APÊNDICES TORÁCICOS E ABDOMINAIS

Na mesma oportunidade em que ficaram diferenciados os apêndices bucais, foram demarcados três outros pares de evaginações saculares, correspondentes aos três segmentos torácicos, isto é, os rudimentos do 1.º, 2.º e 3.º pares de patas. Podem ser perfeitamente identificados nos embriões com mais de 36 horas, e, estão distribuídos paralelamente à linha mediano-ventral.

Embora os apêndices dos artrópodos sejam caracteristicamente segmentados, os seus rudimentos embrionários não passam de simples formações que só se desenvolvem no estágio de pupa.

Outros nove pares de lóbulos de origem ectodermal distribuídos látero-ventralmente, como nos casos anteriores, são normalmente encontrados nos embriões com mais de 50 horas. Considerando o aspecto externo e a sua distribuição (do 1.º ao 9.º segmentos abdominais), acreditamos que possam ser considerados homólogos aos apêndices abdominais descritos para outros himenópteros.

Como esses rudimentos persistem na larva apenas até o momento da eclosão, não podemos considerá-los como verdadeiras estruturas, mas sim como elementos vestigiais (figs. 19, 21 e 23).

#### 7. TUBO DIGESTIVO

O tubo digestivo do embrião é normalmente subdividido em três partes: o estomodeo, o mesentero ou intestino médio e o proctodeo. São porções distintas, que no período embrionário não se comunicam entre si. Apresentam mesmo uma origem embrionária diferente, pois enquanto a porção intermediária é formada a partir de dois rudimentos endodermiais, as outras duas são de origem ectodermal e formadas por invaginações secundárias.

Tanto o estomodeo como o proctodeo representam estruturas tubulares, fechadas na porção mais interna, que se encontram nas extremidades anterior e posterior do embrião. Correspondem, respectivamente,

às regiões da boca e ânus. Tôda a porção intermediária está ocupada pelo intestino médio que acumula o vitelo.

Antes de considerarmos o desenvolvimento de cada uma dessas partes, separadamente, precisamos descrever a origem e função do endoderma primário, que reveste todo o intestino médio, enquanto não é diferenciado o seu próprio epitélio.

Esse endoderma primário é estabelecido depois de 22 a 24 horas, a partir dos vitelófagos primários que se organizam junto à parede interna das células blastodermis, envolvendo assim todo o vitelo. É um epitélio transitório, porque, embora tenha permanecido durante quase todo o período do desenvolvimento embrionário, foi depois substituído pelo endoderma secundário e epitélio do intestino médio.

No estágio seguinte, embrião com 26 a 28 horas, algumas células da porção mediana e ântero-dorsal do embrião, se deslocaram e se organizaram com o ectoderma, como um conjunto celular de configuração ovóide e achatada, o rudimento anterior do intestino médio (fig. 25 a). Como resultado da proliferação e migração de suas células, passa a recobrir a calota anterior do vitelo e se distribui ao longo da superfície mediano-dorsal e dorso-laterais do intestino. Nos estágios seguintes, 32-34 horas de desenvolvimento, as células da margem anterior entram em associação com o mesoderma ântero-ventral (fig. 25 a).

A invaginação do estomodeo, que ocorre na mesma região mediano-dorsal e anterior, se iniciou depois da 36.<sup>a</sup> hora de desenvolvimento. Inicialmente, como uma simples depressão revestida por células altas, com núcleos arredondados e deslocados para a porção basal das mesmas, torna-se cada vez mais invaginado, até que sua extremidade distal alcança a calota anterior do intestino médio (fig. 25 b). Posteriormente, à medida que sofre o deslocamento para a posição definitiva, isto é, passa da posição dorsal para a ventral, adquire aspecto afunilado e finalmente tubular. Nessa ocasião, sua extremidade interna fica cada vez mais delgada, desprovida de núcleos e justaposta ao endoderma primário. O estomodeo só se comunica com o intestino médio no fim do período embrionário ou durante a fase larval, quando são reabsorvidas as membranas que proporcionavam a obstrução.

O rudimento posterior do intestino médio aparece nos embriões com mais de 30 horas de desenvolvimento e é formado a partir de células blastodermis da região mediano-dorsal e posterior, que se deslocam para dentro e são recobertas pelo ectoderma (fig. 25 a). O procotodeo também é formado por invaginação na região mediano-dorsal. Nessa mesma área, aparecem duas depressões pouco profundas e simetricamente dispostas em relação ao eixo longitudinal ântero-posterior, que representa o início de formação dos tubos de Malpighi. Posteriormente, quatro desses túbulos, associados dois a dois e paralelamente dispostos em relação ao intestino médio, são formados a partir de duas evaginações das extremidades distais de cada uma dessas depressões (figs. 20 f, 22 e). Apresentando fundo cego e estando revestidos por células cúbicas, eles se projetam em direção à extremidade cefálica do embrião, até alcançarem o segundo segmento abdominal (extensão máxima), durante os estágios de 64 a 68 horas (fig. 25 c).

Como consequência do fechamento dorsal do 10.º segmento abdominal o proctodeo adquire uma configuração tubular e ocupa o espaço correspondente aos dois últimos segmentos.

Conforme já nos referimos anteriormente, os rudimentos do intestino médio foram diferenciados nas porções ântero-dorsal e caudo-dorsal, respectivamente. Assim sendo, a primeira porção do epitélio intestinal a ser diferenciada corresponde à dorsal. Para essa formação, contribuíram as células provenientes da margem caudal do rudimento anterior e aquelas correspondentes da margem cefálica do rudimento posterior (fig. 25 b). Dessa fase em diante, o epitélio é gradativamente diferenciado nas direções látero-ventrais, direita e esquerda, até se completar definitivamente, no estágio de 64 horas. Portanto, o vitelo ainda existente fica agora contido em uma estrutura sacular, fechada, que ocupa o espaço interno compreendido entre a parte anterior do 1.º segmento torácico e a parte posterior do 8.º segmento abdominal (fig. 25 c). Na abelha adulta, essa estrutura corresponde ao ventrículo.

Uma outra característica que pudemos observar nos embriões entre 40 e 68 horas de desenvolvimento, é uma agregação dos vitelóforos remanescentes no interior do vitelo. A referida agregação se completou progressivamente e em conjunto com a formação do epitélio do intestino médio (figs. 25 b, 25 c). Segundo Nelson (1915), os vitelóforos não participam diretamente da construção do epitélio intestinal, mas fornecem o alimento necessário ao endoderma secundário, isto é, cooperam na liquefação do vitelo, uma vez que toda absorção deverá ser feita através daquele epitélio. Corroboramos essa afirmação, pois a agregação dos vitelóforos sempre se deu depois de organizado o epitélio do intestino médio.

#### 8. MEMBRANA EXTRA-EMBRIONÁRIA (Serosa)

A primeira e única membrana extra-embrionária existente nos ovos de *Trigona (S.) postica* aparece durante a diferenciação do blastoderma ou, mais especificamente, no embrião com 22 a 24 horas de desenvolvimento. A princípio, está representada por células que se distribuem nas porções dorso-laterais do embrião (fig. 12, c, d).

Uma vez separadas do blastoderma lateral (placas laterais) perdem elas a configuração prismática, que lhes é peculiar, para se tornarem achatadas. Até 28 a 32 horas, êsses dois conjuntos de células ficam separados pela linha longitudinal mediano dorsal (figs. 12, 13, 14).

Já no estágio de 32 horas, como resultado da aproximação e fusão desses dois primórdios, fica diferenciada uma verdadeira membrana que reveste não só a parte dorsal do embrião, mas que se projeta anterior, posterior e lateralmente (fig. 25 a). Durante essa fase, não observamos nenhuma célula em divisão, o que nos leva a admitir que a extensão dessa membrana é garantida principal, se não exclusivamente, pela mera extensão das suas células originais.

Levando-se em conta que essa membrana recobre tanto o vitelo como todo o embrião e que em nenhuma oportunidade foi encontrada outra membrana extra-embrionária, denominamo-la de serosa e a consi-

deramos como sendo homóloga ao âmnio, descrito por Nelson (1915) em *Apis mellifera*.

Nos estágios seguintes, de 36 a 38 horas, a membrana serosa já estava completamente individualizada e recobrimdo toda a extremidade anterior do embrião; e continuava a se projetar em direção à extremidade posterior (fig. 25 a). Pouco depois (estágio de 40 a 42 horas), ela se separava da porção dorso-caudal e crescia de maneira a recobrir toda essa extremidade (fig. 25 b). Finalmente, durante os estágios de 60 a 62 horas, as porções anterior e posterior dessa membrana se encontravam na altura do 6.º segmento abdominal (fig. 25 c). Quanto a essa membrana, nossos resultados se enquadram perfeitamente nos modelos descritos para *Apis mellifera* (Bütschli, 1870; Grassi, 1884; Nelson, 1915; Johannsen & Butt, 1941); *Chalicodoma muraria* (Carrière & Bürger, 1897); *Polistes* e *Formica* (Graber, 1888); e, *Bracon* (Amy, 1961).

#### 9. FECHAMENTO DORSAL DO CORPO

Entre os estágios de 32-34 horas e 46-48 horas, o embrião apresenta um ectoderma temporário que recobre toda a porção mediano-dorsal (fig. 19). Esse epitélio é formado a partir de células do ectoderma dorso-lateral, que migram em direção à superfície dorsal. Enquanto ocorre esse tipo de revestimento, o vitelo está coberto pelo endoderma primário.

A partir de 46-48 horas, quando o epitélio do intestino médio está em diferenciação, o ectoderma fica modificado e corresponde a um epitélio muito fino. Como a parede do intestino médio é formada da porção dorsal para a ventral, e, sendo esse último bastante fino, tem-se a impressão de que o embrião voltou a estar aberto na parte dorsal.

Um fechamento definitivo do corpo só ocorre depois de 66 horas de desenvolvimento. Esse fechamento é gradativo, pois depende da capacidade do ectoderma de se expandir em direção à linha mediana dorsal. Nessa mesma oportunidade, o epitélio do intestino médio se projeta para baixo, na direção látero-ventral. Quando o embrião atinge o estágio de 66 a 68 horas de desenvolvimento, ele já está transformado em uma larva, na qual, os órgãos estão anatômicamente distribuídos.

Nos parágrafos seguintes descreveremos as suas respectivas origens embrionárias.

#### ORIGEM EMBRIONÁRIA DOS PRINCIPAIS ÓRGÃOS DA LARVA

Antes de incluirmos as considerações finais sobre o desenvolvimento embrionário de *Trigona (Scaptotrigona) postica*, desejamos apresentar breves considerações sobre os derivados dos três epitélios germinativos.

#### 1. DERIVADOS DO ECTODERMA

Como já tivemos oportunidade de descrever, o ectoderma originou-se a partir das placas laterais, diferenciadas a partir do estágio de

22 horas. Terminada a gastrulação, o embrião ficou revestido pelo ectoderma em toda a metade ventral. Com a diferenciação das regiões cefálica e caudal, passou a existir também em áreas da metade dorsal.

Estabeleceu depois um fechamento dorsal temporário e finalmente, com a extensão sobre a parede do intestino médio, completou o fechamento dorsal e envolveu todo o embrião.

São considerados como derivados do ectoderma:

#### Tegumento

O tegumento e os apêndices são os seus primeiros derivados. Aquêles últimos aparecem como simples lóbulos ectodermais, muitas vezes associados ao mesoderma. Dêsses, apenas os torácicos e os que entram na formação dos apêndices cefálicos permanecem e se desenvolvem.

#### Glândulas

Segundo Johannsen & Butt (1941), quatro são as glândulas derivadas do ectoderma: as antenais, as mandibulares, as maxilares e as labiais. As primeiras não são muito frequentes entre os insetos, especialmente entre os himenópteros. Não encontramos nenhum indício de glândula mandibular e maxilar nos embriões dessa espécie.

As únicas glândulas formadas durante o desenvolvimento embrionário dessa abelha foram as labiais. Nos referimos a elas como glândulas de sêda, considerando que funcionam como órgãos produtores da sêda com que a larva tece o casulo.

#### Estomodeo e proctodeo

Essas duas porções do tubo digestivo são formadas a partir de invaginações do ectoderma nas extremidades anterior e posterior, respectivamente. Durante o desenvolvimento permaneceram fechadas internamente, isto é, sem se comunicarem com o intestino médio e sem especializações secundárias.

#### Tubos de Malpighi

Em número de quatro, são formados como um par de duplas evaginações da porção interna e ventral do proctodeo. À medida que se desenvolveram estavam em comunicação com a superfície dêsse último e nunca diretamente na superfície externa do embrião.

#### Espiráculos

Podem ser identificados nos embriões com mais de 28 horas (fig. 13 a). Formados como simples invaginações no ectoderma ventro-lateral, ficam distribuídos aos pares, do 2.º segmento torácico ao 8.º abdominal, inclusive. Como a metade anterior do embrião foi a primeira a ser estabelecida, é óbvio que essas estruturas aparecem primeiro nos

segmentos anteriores. Ao todo, são estabelecidos 10 pares de espiráculos (fig. 13 b).

O sistema traqueal só é estabelecido mais tarde, quando as extremidades distais, internas, de cada invaginação ficaram ramificadas, entraram em contato e se organizaram como estrutura contínua.

### Gânglios neurais

Os gânglios neurais são formados a partir do estágio de 42 a 44 horas, e representados por dois conjuntos de neuroblastos separados pela dobra neural mediano-ventral (fig. 20). São 12 pares que correspondem à corda nervosa ventral do embrião e da futura larva. Os três primeiros pertencem ao tórax, enquanto os 9 restantes ao abdômen e ficam distribuídos do 1.º ao 9.º segmento abdominal. O último par corresponde à fusão dos pares 9 e 10; muito possivelmente incluía também o 11.º.

Do estágio de 54 horas em diante, esses gânglios ficam revestidos pelo neurilema e separados do ectoderma ventral do qual se originaram.

Os três pares de gânglios pertencentes aos segmentos mandibular, maxilar I e maxilar II ficam reunidos para, em conjunto, constituírem o gânglio sub-esofágico. O correspondente supra-esofágico ou cérebro da larva é diferenciado a partir dos 3 pares de espessamentos ectodermiais da região cefálica, conforme já descrevemos anteriormente. Esses, foram designados como protocérebro, deutocérebro e tritocérebro.

## 2. DERIVADOS DO MESODERMA

Originário da placa mediano-ventral, o mesoderma fica logo subdividido em mesoderma somático e esplâncnico, mantendo entre eles um espaço, ou celoma (fig. 15).

São considerados como seus derivados:

### Músculos

Os músculos são originados tanto do mesoderma somático, parietal ou externo, como do mesoderma esplâncnico, visceral ou interno. O primeiro contribui para a formação da musculatura dorsal (logitudinal), enquanto o segundo entra na formação da musculatura que reveste a parede do intestino médio (fig. 28).

### Corpo gorduroso

Durante o desenvolvimento do tecido muscular, algumas células que revestem o intestino médio perdem a característica epitelial e passam a contribuir para a formação do corpo gorduroso. Este é formado, quase que exclusivamente, do mesoderma esplâncnico.

### Rudimentos de gônadas

Os rudimentos de gônada (no caso ovário) são derivados da porção dorsal do mesoderma esplâncnico externo, uma vez que nesta ocasião,

o mesmo ficou dividido em dois epitélios: um externo, que dá o rudimento de gônada e outro interno, que contribui na formação dos músculos que revestem o epitélio do intestino médio (fig. 28).

A gônada aparece durante os estágios de 50-54 horas a 62-64 horas e ocupa o espaço interno compreendido entre o 2.<sup>o</sup> e o 6.<sup>o</sup> segmento abdominal. Já nos primeiros estágios do desenvolvimento, êsses rudimentos são bem demarcados e se isolam das estruturas vizinhas, isto é, cardioblastos e esplâncnopleura.

Com o fechamento dorsal definitivo, êsses rudimentos perdem a ligação com o resto do mesoderma esplâncnico, sofrem um encurtamento e recebem uma cobertura de células mesodermiais achatadas, que os mantém suspensos dorsalmente e associados com a porção do coração.

No fim do período embrionário, os ovários ficam reduzidos a um par de estruturas que ocupam posições dorso-laterais direita e esquerda, mostrando uma extensão máxima correspondente a um e meio segmentos abdominais (5.<sup>o</sup> e metade anterior do 6.<sup>o</sup> segmento) (fig. 29).

#### Vaso dorsal

No item anterior já nos referimos a algumas células que se originam da confluência dorsal entre mesoderma somático e esplâncnico, e que representam os cardioblastos. Pois bem, depois do estágio de 50 a 54 horas, essas células são levadas de uma posição látero-dorsal, primitiva, para outra mediano-dorsal (fig. 29). Aí chegando, contribuem para a formação de uma estrutura tubular que corresponde ao vaso sanguíneo dorsal. O coração, que se encontra na altura do 3.<sup>o</sup> e 4.<sup>o</sup> segmentos abdominais, corresponde a uma porção dilatada daquele tubo (fig. 24).

#### 3. DERIVADOS DO ENDODERMA

Dada a falta de um verdadeiro epitélio endodermal, fica difícil considerar os seus derivados. Todavia, consideramos a existência do endoderma primário e do endoderma secundário, oriundos dos núcleos que permaneceram no interior do vitelo. Além disso, como as células derivadas dos rudimentos anterior e posterior do intestino médio se multiplicaram sob o ectoderma e independentes do mesoderma, talvez fôsse prudente considerá-las como sendo "endodermiais".

#### RESUMO CRONOLÓGICO DO DESENVOLVIMENTO EMBRIONÁRIO EM *TRIGONA (SCAPTOTRIGONA) POSTICA* LATR.

Estágio I (0-1 horas). Complementação da maturação e fecundação.

Estágio II (1-8 horas). Início da segmentação e movimento dos primeiros núcleos para a periferia.

Estágio III (8-10 horas). Formação do blastoderma; aparecimento dos primeiros vitelófagos.

Estágio IV (14-18 horas). Complementação do blastoderma e multiplicação dos vitelófagos primários.

Estágio V (18-20 horas). Formação da placa mediano-ventral; início de diferenciação do blastoderma dorsal e aparecimento dos vitelófa-  
gos secundários.

Estágio VI (22-24 horas). Início da gastrulação, quando são formados dois sulcos ventrais e longitudinais que separam a placa mediano-ventral das placas laterais. Individualização dos primeiros segmentos. Algumas células da região dorsal tornam-se individualizadas para iniciarem a formação da serosa.

Estágio VII (24-28 horas). A placa mediano-ventral fica mais espessa, suas células mostram mitoses típicas nas quais os fusos se orientam perpendicularmente à superfície distal da mesma. Formação de segmentos adicionais na placa mediano-ventral.

Estágio VIII (28-30 horas). Formação do rudimento anterior do intestino médio e separação inicial da porção cefálica que ocupa 1/3 da superfície dorsal.

Estágio IX (32-36 horas). Completa-se a gastrulação. Os rudimentos anterior, posterior do intestino médio produzem células que se distribuem dorsalmente entre o ectoderma e o endoderma primário. O mesoderma ventral fica dividido em porções somática e esplâncnica. Na região cefálica aparecem as primeiras indicações do protocérebro, deutocérebro e tritocérebro, bem como a invaginação inicial para formar o estomodeo. Individualização dos seis primeiros segmentos (buciais e torácicos).

Estágio X (36-40 horas). Formação do labro e rudimentos de antena. Na porção caudo-dorsal é iniciada a invaginação do proctodeo. Do 2.º segmento torácico ao 8.º segmento abdominal formam-se os espiráculos como invaginações do ectoderma ventro-lateral (1 par por segmento). Na porção mediana da face ventral, o ectoderma sofre uma leve depressão longitudinal, dando lugar à formação da dobra neural. Projeção da membrana serosa que cobre toda a extremidade anterior do embrião.

Estágio XI (42-48 horas). Separação da membrana serosa na região dorso-caudal do embrião. Deslocamento do estomodeo em direção ântero-ventral. Formação inicial dos gânglios neurais, tubos de Malpighi, glândula de seda.

Estágio XII (48-50 horas). Forma externa pouco alterada. A membrana serosa se separa da porção dorsal do corpo. O estomodeo é gradativamente recoberto pelo labro. Antenas bem desenvolvidas. Movimento médio-dorsal de toda a porção cefálica. Epitélio do intestino médio reveste o vitelo dorsalmente e inicia a projeção no sentido látero-ventral. Aparecimento dos "apêndices abdominais".

Estágio XIII (50-54 horas). Lobos cefálicos bem desenvolvidos, com distinção bem pronunciada entre a cabeça e o tórax. Complementação da membrana serosa na porção ventral do embrião. Proctodeo virtualmente completo, com fechamento dorsal. Tubos de Malpighi em diferenciação.

Estágio XIV (58-62 horas). As estruturas cefálicas se distribuem nos lugares mais ou menos definitivos. O labro passa a ocupar uma

posição ântero-dorsal. fazendo com que o estomodeo se abra ântero-ventralmente. Degeneração das antenas, restando apenas duas pequenas projeções circulares na região ântero-dorsal da cabeça. Deslocamento do apêndice dos segmentos maxilares II. Glândulas de sêda atingem o 3.º segmento torácico. Os apêndices abdominais entram em regressão. O intestino médio ocupa o espaço interno compreendido entre o 1.º segmento torácico e o 8.º abdominal. O epitélio do intestino médio recobre o vitelo tanto na superfície dorsal como nas porções laterais.

Estágio XV (62-66 horas). O embrião ocupa 90% do espaço disponível dentro do cório. O lábio está definitivamente formado. Pela aproximação e fusão das duas porções látero-dorsais do ectoderma, que é parcialmente completado na região dorsal. As glândulas de sêda alcançam o 6.º segmento abdominal. Os ovários estão localizados látero-dorsalmente e durante êsse período sofrem um encurtamento (comprimento igual a um segmento e meio, isto é, o 5.º e a metade anterior do 6.º segmento abdominal). Fechamento ventral do intestino médio. Formação do coração. Na porção interna do estomodeo inicia-se a formação do proventrículo; tornando-se cada vez mais fina a parede que o separa do intestino médio.

Estágio XVI (66 horas  $\pm$  1). Completa-se o desenvolvimento embrionário. A larva se movimenta dentro do cório. Não ocorre blastoquinese. Reabsorção da membrana serosa. Eclosão da larva.

#### DISCUSSÃO

Ao que se tem conhecimento, esparsos são os estudos sôbre a embriogênese nas abelhas, particularmente, no que se refere aos meliponíneos. Afora algumas informações sôbre a estrutura do ôvo e estágios iniciais do desenvolvimento embrionário de *Melipona quadrifasciata antidioides* Lep. (Cruz Landim, 1966), não conhecemos outra tentativa de estudo nesse grupo de abelhas que por outras particularidades tem se revelado muito importante dentro da família Apidae.

Comparando os nossos resultados com aqueles de *Apis* e *Melipona*, encontrados na literatura, podemos afirmar que nos três casos encontramos ovos: (1) com uma rígida organização estrutural; (2) com uma quantidade razoável de vitelo; (3) com um blastoderma formativo (placa germinativa) que ocupa mais da metade da superfície externa do ôvo e que se mantém sempre na mesma posição; (4) cujo periplasma é bem desenvolvido, com espessura variável segundo determinadas regiões do ôvo; (5) nos quais, devido à distribuição especializada dos elementos citoplasmáticos, os núcleos de segmentação alcançam o ectoplasma em oportunidades diferentes; (6) em que a diferenciação sempre ocorre "in situ", com amplo espaço para o desenvolvimento.

Ao analisarmos essas características verificamos que tôdas elas correspondem àquelas normalmente encontradas em ovos do tipo "parcialmente determinado".

Apesar dos embriões de *Trigona (S.) postica* apresentarem um período de desenvolvimento de 4 a 6 horas mais curto em relação ao de *Apis mellifera* (Nelson, 1915; Schnetter, 1934 a, b) e 58 horas em relação ao de *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Cruz Landim, op. cit.), encontramos uma perfeita correspondência nas duas primeiras etapas do desenvolvimento, ou seja, na segmentação (migração dos núcleos) e na formação do blastoderma.

Morfológicamente, os centros de segmentação e de diferenciação ocupam suas posições normais na metade anterior do ovo, isto é, o primeiro coincide com a área prospectiva da cabeça e o segundo ao futuro tórax. Todo o processo de diferenciação teve início nesse centro e daí propagou em direção à extremidade anterior e posterior do embrião. Com isso, as diferentes partes do corpo do embrião foram demarcadas no blastoderma formativo, aproximadamente, nas mesmas proporções naturais que encontramos numa larva recém eclodida. Uma das particularidades encontradas no desenvolvimento do embrião de *Trigona* foi a de que o crescimento colaborou para a projeção das extremidades anterior e posterior do blastoderma para o lado dorsal do ovo. As relações normais de polaridade entre o embrião e o ovo foram mantidas e não ocorreu nenhum movimento de blastoquinense, a exemplo do que acontece em *Apis mellifera* (Nelson, 1915).

Enquanto nos embriões de *Apis mellifera* o ectoplasma mede aproximadamente 30  $\mu$  de espessura (Nelson, 1915), nos de *Trigona (S.) postica* ele mede apenas 12  $\mu$ . Essa diferença implica em que durante a formação do blastoderma, o ectoplasma é todo aproveitado no caso de *Trigona (S.) postica*, enquanto em *Apis mellifera*, depois desta mesma fase, ainda resta uma camada irregular de ectoplasma interno. A não ocorrência desse último também foi considerada nos embriões de *Chalicodoma muraria* (Carrière & Bürger, 1897). Qual a vantagem adaptativa da presença ou ausência desse caráter ainda não foi esclarecida, mas podemos adiantar que esse acontecimento altera a maneira de formação e a natureza do endoderma primário, como já nos referimos anteriormente.

O processo de gastrulação é homólogo ao de outros himenópteros, ou seja, a placa mediana ventral permanece intacta e é gradativamente envolvida pelo ectoderma das placas laterais. Difere contudo de *Chalicodoma muraria*, onde o mesoderma é formado por invaginação longitudinal da placa mediana e ventral (Carrière, 1890 a). Com relação à maneira de formação dos diferentes epitélios e à teoria geral da gastrulação, é-nos difícil tentar conciliar os fatos já conhecidos com os nossos resultados. A maior dificuldade, talvez, está no fato de que durante a gastrulação aparente dos insetos fica organizado apenas o mesoderma, enquanto o epitélio que reveste o intestino médio, que deveria ser endodermal, é derivado a partir do blastoderma e de maneira independente.

Segundo Grassi (1884), Carrière (1890), Nelson (1915) e Eastham (1930), o endoderma vem sendo admitido como originado a partir de dois blocos de células, independentes do mesoderma, localizados, respectivamente, na extremidade anterior e posterior do embrião. Segundo as nossas observações, no embrião de *Trigona* o endoderma que consi-

deramos como primário foi formado pelos núcleos que permaneceram no vitelo e não participaram no desenvolvimento do blastoderma. O endoderma secundário, por sua vez, foi diferenciado a partir dos núcleos que migraram do blastoderma dorsal para o interior do vitelo. Esse endoderma tem apenas um significado embrionário (auxiliar na liquefação do vitelo a fim de facilitar a absorção), pois não contribui na organogênese.

Nesses embriões encontramos dois centros celulares análogos aos anteriormente citados, que eram independentes do mesoderma e dispostos, respectivamente, nas porções céfalo-dorsal e caudo-dorsal. Graças às invaginações do estomodeo e proctodeo, os mesmos foram deslocados da periferia e levados para dentro, colocando-se sob o ectoderma. Em homologia a *Apis mellifera* (Grassi, 1884; Nelson, 1915) e *Chalicodoma muraria* (Carrière & Bürger, 1897) não podemos considerá-los como originados do ectoderma que revestia essas porções do tubo digestivo, pois a respectiva diferenciação ocorreu pelo menos 6 horas antes daquelas invaginações. Temos, contudo, evidências que comprovam a sua origem a partir de um blastoderma "determinado" por ocasião da sua própria diferenciação.

Aquela mesma homologia que existe nas primeiras fases do desenvolvimento dos embriões de *Apis mellifera* e *Trigona (S.) postica* se repete durante a histogênese e organogênese, com exceção, é claro, das características próprias de cada espécie. Isto demonstra que o fato do embrião de *Trigona* se desenvolver sobre o alimento larval (semilíquido) e no interior de um alvéolo fechado, não modifica a sua embriogênese. As principais diferenças entre essas abelhas estão no desenvolvimento pós-embriônico.

As larvas eclodem com 4 a 6 horas de diferença, de ovos com características aproximadamente iguais, isto é, medem respectivamente, 1,53 mm de comprimento por 0,31 mm de largura e 1,18 mm de comprimento por 0,36 mm de largura. No entanto, as abelhas operárias de *Trigona (S.) postica* emergem depois de 39 a 42 dias de desenvolvimento, pesando em média 16 25 mg  $\pm$  4,74 mg; enquanto as de *Apis mellifera* emergem depois de 21 dias e pesam em média 88,45 mg  $\pm$  3,98 mg.

#### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no decorrer do presente trabalho nos permitem concluir que:

1. O período de embriogênese em abelhas operárias de *Trigona (S.) postica*, que se completa em 66 a 68 horas é de 4 a 6 horas mais curto que o de *Apis mellifera* (70-74 horas, segundo Nelson, 1915) e 58 horas em relação a *Melipona quadrifasciata anthidioides* (120-126 horas segundo Cruz Landim, 1966).

2. Na face dorsal do ovo, encontramos um caráter morfológico distinto, que chamamos de "linha longitudinal dorsal". Esta é contínua com o ectoplasma polar e desconhecemos a sua função se é que ela desempenha alguma.

3. Na porção apical da extremidade anterior do óvo, existe uma micrúpila com canal micropilar. Ao contrário de *Apis mellifera* onde existe uma área micropilar (Nelson, 1915), é uma estrutura bastante especializada.

4. Os núcleos de segmentação enquanto se deslocam em direção ao ectoplasma arrastam consigo glóbulos de vitelo.

5. Durante a diferenciação do blastoderma, o ectoplasma é totalmente aproveitado pelas suas células.

6. Durante a gastrulação, o mesoderma é formado a partir da placa mediano-ventral, que, pelo estabelecimento de dois sulcos longitudinais de invaginação é logo envolvida pelo ectoderma das placas laterais.

7. O epitélio do intestino médio é de origem "blastodermal", independente do mesoderma.

8. O crescimento embrionário contribui para o deslocamento do blastoderma formativo para as posições céfalo-dorsal e caudo-dorsal, onde são iniciadas as invaginações do estomodeo e proctodeo.

9. Durante o desenvolvimento não ocorrem movimentos de blastoquinese.

10. O epitélio do intestino médio é diferenciado em primeiro lugar na superfície dorsal do embrião e daí se projeta em direção látero-ventral.

11. A serosa é a única membrana extra-embrionária que se forma durante o desenvolvimento.

12. Os tubos de Malpighi, em número de quatro, sempre se abrem na porção anterior (interna) do proctodeo e não diretamente na superfície externa do corpo.

13. O rudimento anterior do intestino médio aparece pelo menos duas horas antes do correspondente posterior. Invaginação secundária para a formação do proctodeo tem lugar no embrião entre 48-50 horas de desenvolvimento.

14. Apêndices abdominais (rudimentares) aparecem durante os estágios de 50 e 66 horas, como estruturas vestigiais.

15. O abdômen do embrião é dividido em 11 segmentos, como em *Apis mellifera* (Nelson, 1915).

16. O desenvolvimento da cabeça e dos rudimentos do intestino médio é semelhante ao de *Apis mellifera* (Nelson, 1915).

17. A única glândula visível durante o desenvolvimento embrionário corresponde à glândula de sêda.

#### RESUMO

O período de desenvolvimento embrionário nos ovos fecundados (2n) de *Trigona (S.) postica* Latr., quando mantidos no estado natural a 28°C

de temperatura e 95% de umidade relativa, se completa em 66 a 68 horas. Durante todo esse período, o embrião mantém sua orientação céfalo-caudal, não ocorrendo movimento de blastoquinese; contudo, pouco antes da eclosão, ele sofre uma rotação de 180° em seu eixo longitudinal.

A embriogênese nessas abelhas é muito semelhante àquela descrita para *Apis mellifera* (Nelson, 1915). O blastoderma embrionário é distinto do extra-embrionário e fica dividido em três porções: a) a placa mediana ventral, que durante a gastrulação se desloca em direção ao vitelo e contribui para a formação do mesoderma; b) as duas placas laterais, que flanqueiam a anterior e contribuem para a diferenciação do ectoderma.

O endoderma pode ser considerado como primário (aquêlo formado a partir dos vitelófagos primários), secundário (aquêlo formado a partir dos vitelófagos secundários) e epitélio do intestino médio, de origem "blastodermal" e caracterizado em dois rudimentos na superfície ântero-dorsal e caudo-dorsal, respectivamente.

Durante a fase de segmentação do corpo, o embrião fica dividido em 21 segmentos, dos quais, os sete primeiros são considerados como "cefálicos", os três seguintes como torácicos e os 11 restantes, como abdominais. Com a diferenciação da cabeça, todo o conjunto se desloca no sentido médio-cefálico e dorso-ventral. O labro é formado a partir de dois lobos dorsais e anteriores ao rudimento anterior do intestino médio. O par de antenas é bem desenvolvido durante a formação da cabeça, mas, torna-se rudimentar no fim do período. No ectoderma ventro-lateral, estão os rudimentos dos apêndices torácicos e em caráter transitório, os 9 pares de apêndices abdominais.

Um fechamento dorsal provisório que se desenvolve a partir do ectoderma dorso-lateral cobre o vitelo depois que a serosa perde o contato com aquêlo último. O mesoderma lateral contribui para a formação das cavidades celomáticas contínuas. Os tubos de Malpighi, em número de quatro, se desenvolvem na extremidade anterior do proctodeo.

#### AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi executado nos laboratórios de Morfologia Animal da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro, sob a orientação do Professor Doutor Warwick E. Kerr. Sua realização foi possível graças à colaboração de diversas pessoas e à doação de fundos e instrumentos pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo; Conselho Nacional de Pesquisas; "Agriculture" (P.L. 480) (F.G.: BR-120) e Fundação Rockefeller, R.F. 63060; aos quais agradecemos sinceramente.

Desejamos ainda agradecer aos Professores Doutôres Paulo Sawaya, Diretor da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Rio Claro; Antônio Buschinelli; Ronaldo Zucchi; Reinaldo Azoubel; Jesus S. Moure, C.M.F., Carminda da Cruz Landim, que de uma ou de outra forma colaboraram durante a sua execução.

## REFERÊNCIAS

- AMY, R. L.  
 1961. The embryology of *Habrobracon juglandis* (Ashmead). *J. Morph.* 109 (2): 199-217, 4 pls.
- BRONSKILL, J. F.  
 1959. Embryology of *Pimpla turionella* L. (Hym., Ichn.). *Can. J. Zool.* 37: 655-688, 3 pls., 48 figs.  
 1964. Embryogenesis of *Mesoleius tenthredinis* Morl. (Hym., Ichn.). *Ibidem* 42: 399-453.
- BÜTSCHLI, O.  
 1870. Zur Entwicklungsgeschichte der Biene. *Z. f. Wiss. Zool.* 20 (4): 519-564.
- CARRIÈRE, J.  
 1890a. Zur Embryonalentwicklung der Mauerbiene (*Chalicodoma muraria* Fabr.) im Ei. *Zool. Anz.* 13: 69-71.  
 1890b. Die Entwicklung der Mauerbiene *Chalicodoma muraria* Fabr. im Ei. *Arch. Mikr. Anat.* 35 (4): 141-165.
- CARRIÈRE, J. & O. BÜRGER  
 1897. Die Entwicklungsgeschichte der Mauerbiene (*Chalicodoma muraria* Fabr.) im Ei. *Nova Acta Leop. Carol. Deut. Akad.* 69 (2): 253-420, 13 Taf.
- CRUZ LANDIM, C.  
 1966. Alguns dados sobre o desenvolvimento de *Melipona* (Hym., Apoidea). *Rev. Bras. Biol.* 26 (2): 165-174.  
 1967. Estudo comparativo de algumas glândulas das abelhas (Hymenoptera, Apoidea) e respectivas implicações evolutivas. *Arq. Zool., S. Paulo*, 15 (3): 177-290.
- DICKEL, O.  
 1904. Entwicklungsgeschichtliche Studien am Bienenei. *Z. Wiss. Zool.* 77 (3): 481-527.
- EASTHAM, L. E. S.  
 1930. The formation of germ layers in insects. *Biol. Rev.* 5: 1-29.
- GRABER, V.  
 1888. Vergleichende Studien über die Keimhüllen und Rückenbildung der Insekten. *Denkschr. Math-Naturwiss. Kl. Kais. Akad. Wiss. Wien.* 55 (2): 109-162. (*Apud* Nelson, 1915).
- GRASSI, B.  
 1884. Studi sugli Arthropodi. Intorno all sviluppo dell Api nell'uovo. *Atti. Acad. Gioenia Sci. Nat. Catania* 18: 154-222. (*Apud* Roonwal, 1938).  
 1886. Sur le développement de l'abeille dans l'oeuf. *Arch. Ital. Biol.* 7: 242-273 (*Apud* Roonwal, 1938).
- GRAY, P.  
 1954. *The microtomist's formulary and guide.* 807 pp. The Blakinston Co., Inc.
- HALLEZ, P.  
 1886. Loi de l'orientation de l'embryon chez les Insectes. *C. R. Acad. Sci. Paris* 103: 606-608. (*Apud* Nelson, 1915).
- JOHANNSEN, O. A. & F. H. BUTT  
 1941. *Embryology of insets and Myriapods.* 462 pp. Mc Graw Hill Book Co., Inc., N.Y.

KERR, W. E. & W. KRAUSE

1950. Contribuição para o conhecimento da bionomia dos Meliponini. Fundação da rainha em *Melipona quadrifasciata* Lep. (Hym. Apoidea). *Dusenía* 1: 275-282.

KOWALEVSKY, A.

1871. Embryologische Studien an Würmern und Arthropoden. *Mem. Acad. Imp. Sci. Petersbourg* 16 (12): 1-70.

KRAUSE, G.

- 1939a. Die Regulationsfähigkeit der Keimanlage von Tackycines (Orthoptera) im Extraovotversuch. *Wilhelm Roux' Arch. Entwicklungsmech. Organ.* 139: 639-723.
- 1939b. Die Eitypen der Insekten. *Biol. Zentralbl.* 59: 495-536.

MARSHALL, W. A. & P. H. DERNEHL

1905. Contributions toward the embryology and anatomy of *Polistes pallipes* (Hym.) I. The formation of the blastoderm and the first arrangement of its cells. *Z. f. Wiss. Zool.* 80 (1): 122-154.

NELSON, J. A.

1911. The origin of the rudiments of the mesenteron in the Honeybee. *Science* 33 (842): 273-274.
1912. A peculiar structure in the embryo of the Honeybee. *Ibidem* 35 (899): 475.
1914. A pair of tracheal invaginations in the second maxillary segment of the embryo of the Honeybee. *Ibidem* 39 (1003): 437.
1915. *The embryology of the Honeybee*. 282 pp. Princeton University Press, N.Y.
1918. The segmentation of the abdomen of the Honeybee (*Apis mellifica* L.). *An. Entomol. Soc. Amer.* 11: 1-8.

RICHARDS JR., A. G. & A. MILLER

1937. Insect development analysed by experimental method. A Review I. Embryonic stages. *J. N. Y. Entomol. Soc.* 45: 1-60.

ROONWAL, M. L.

1938. Some recent advances in insect embryology, with a complete bibliography of the subject. *J. Roy. Asiatic Soc. Bengal* 4: 17-105.

SAKAGAMI, S. F. & R. ZUCCINI

1963. Oviposition process in a stingless bee *Trigona* (*Scaptotrigona*) *postica* Latr. (Hym.). *Studia Entomol.* 6 (1-4): 497-510.

SCHNETTER, M.

- 1934a. Physiologische Untersuchungen über das Differenzierungszentrum in der Embryonalentwicklung der Honigbiene. *Arch. f. Entw. mech.* 131: 285-323.
- 1934b. Morphologische Untersuchungen über das Differenzierungszentrum in der Embryonalentwicklung der Honigbiene. *Z. f. Morphol. ökol. Tiere* 29: 114-195.

## ABREVIATURAS

|              |  |            |                                       |
|--------------|--|------------|---------------------------------------|
| an.          | ânus                                   | l.l.       | linha longitudinal dorsal             |
| ant.         | antena                                 | l.mes.     | limite do mesoderma                   |
| ap.abm.      | apêndice abdominal                     | l.pl.m.    | limite da placa mediana               |
| bl.          | blastoderma                            | lab.       | lábio                                 |
| bl.d.        | blastoderma dorsal                     | lb.        | labro                                 |
| bl.l.        | blastoderma lateral                    | m.cel.     | membrana da célula                    |
| bl.v.        | blastoderma ventral                    | m.long.    | musculatura longitudinal              |
| c.bl.        | célula blastodermal                    | malp.      | tubos de Malpighi                     |
| c.d.         | corpo dorsal                           | md.        | mandíbula                             |
| c.m.         | cone micropilar                        | mes.       | mesoderma                             |
| ca.m.        | canal micropilar                       | mes.espl.  | mesoderma esplâncnico                 |
| card         | cardioblasto                           | mes.som.   | mesoderma somático                    |
| cel.         | celoma                                 | musc.dors. | musculatura dorsal                    |
| cel.inters.  | células intesticiais                   | musc.int.  | musculatura do intestino              |
| cer.         | cérebro                                | mx.        | maxila                                |
| co.          | cório                                  | n.         | núcleo                                |
| cor.         | coração                                | n.s.       | núcleo de segmentação                 |
| cr.n.        | crista neural                          | o.         | lobo óptico                           |
| d.d.         | diafragma dorsal                       | o.m.       | orifício micropilar                   |
| d.n.         | dobra neural                           | ov.        | ovário                                |
| d.tra.       | duto traqueal                          | p.         | rudimento de pata                     |
| deuto.       | deutocérebro                           | p.m.ex.    | placa micropilar externa              |
| div.m.       | divisão mitótica                       | pl.l.      | placa lateral                         |
| dor.         | porção dorsal                          | pl.m.      | placa mediana                         |
| ect.         | ectoderma                              | pro.       | proctodeo                             |
| ectop.       | ectoplasma                             | proto.     | protocérebro                          |
| end.         | endoderma                              | r.a.int.   | rudimento anterior do in-<br>testino  |
| end. prim.   | endoderma primário                     | r.p.int.   | rudimento posterior do in-<br>testino |
| end. sec.    | endoderma secundário                   | segm.ab.   | segmento abdominal                    |
| ep. int.     | epitélio intestinal                    | segm.int.  | segmento intercalar                   |
| eso.         | esófago                                | ser.       | serosa                                |
| esp.         | espiráculo                             | st.        | estomodeo                             |
| g.           | gânglio                                | t.         | segmento torácico                     |
| g. 1,2,3     | rudimento de gônada                    | tra.       | traquéia                              |
| g.s.eso.     | gânglio sub-esofágico                  | trito.     | tritocérebro                          |
| g. vit.      | glóbulo de vitelo                      | v.         | porção ventral                        |
| g. vit. div. | glóbulo de vitelo dividido             | vac.       | vacúolo                               |
| ge.          | gêna                                   | vit.       | vitelo                                |
| gl.s.        | glândula de sêda                       | vitel.     | vitelófago                            |
| inv.         | invaginação                            |            |                                       |
| l.d.lat.     | limite da dobra lateral                |            |                                       |
| l.inv.bl.    | linha de invaginação do<br>blastoderma |            |                                       |

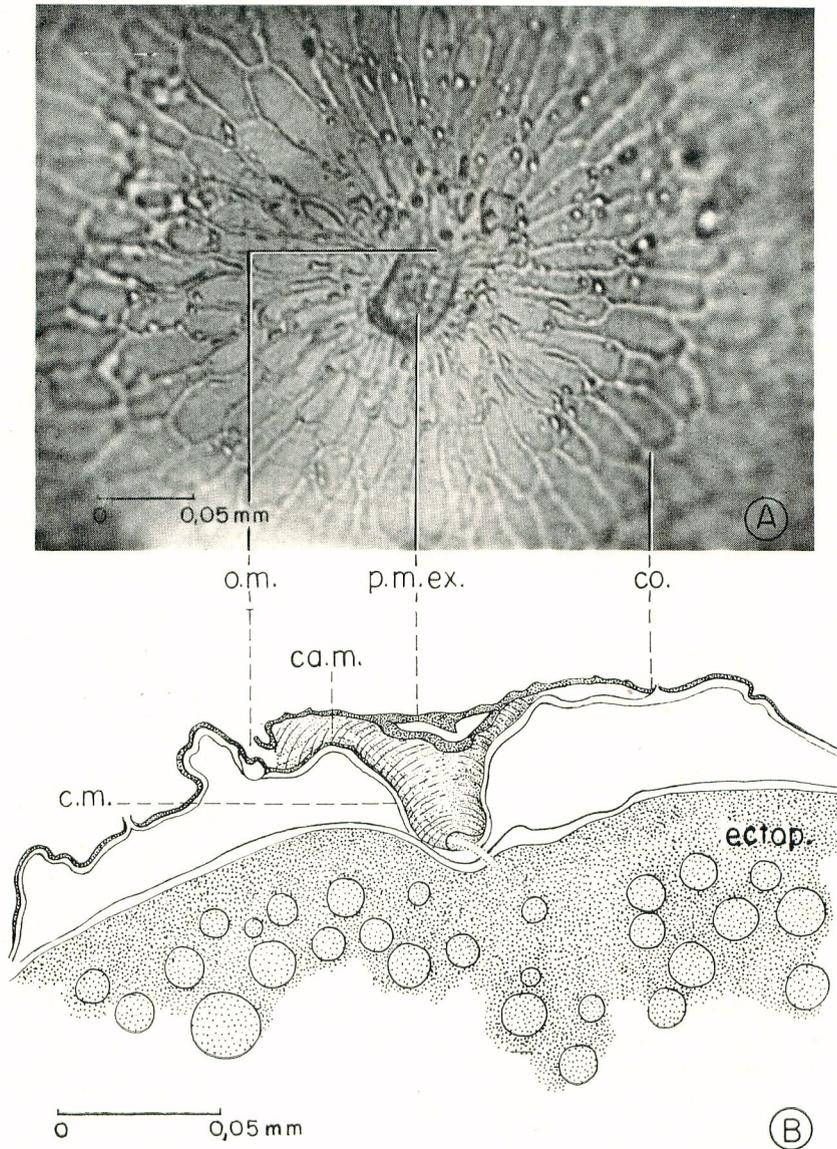


Fig. 1. A, micrografia da porção centro-apical anterior de um ovo recém pôsto, mostrando a micrópila e as figuras que aparecem no cório. B, figura esquemática, mostrando detalhes da mesma região; reconstruída a partir de cortes longitudinais e de observações microscópicas na superfície interna do cório.

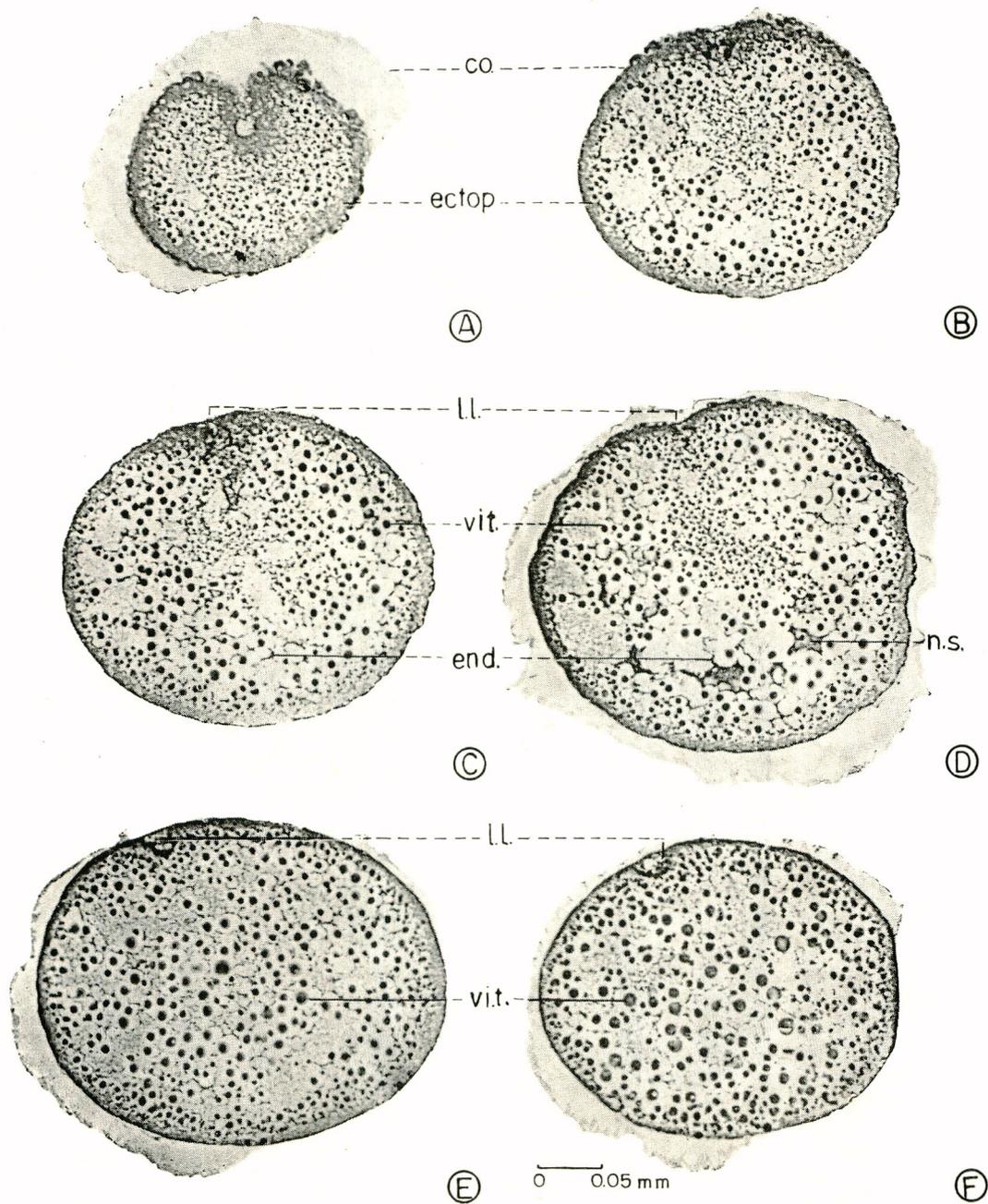


Fig. 2. A — F, cortes transversais em um embrião com 1 hora de desenvolvimento, mostrando o ectoplasma polar e a linha longitudinal dorsal.

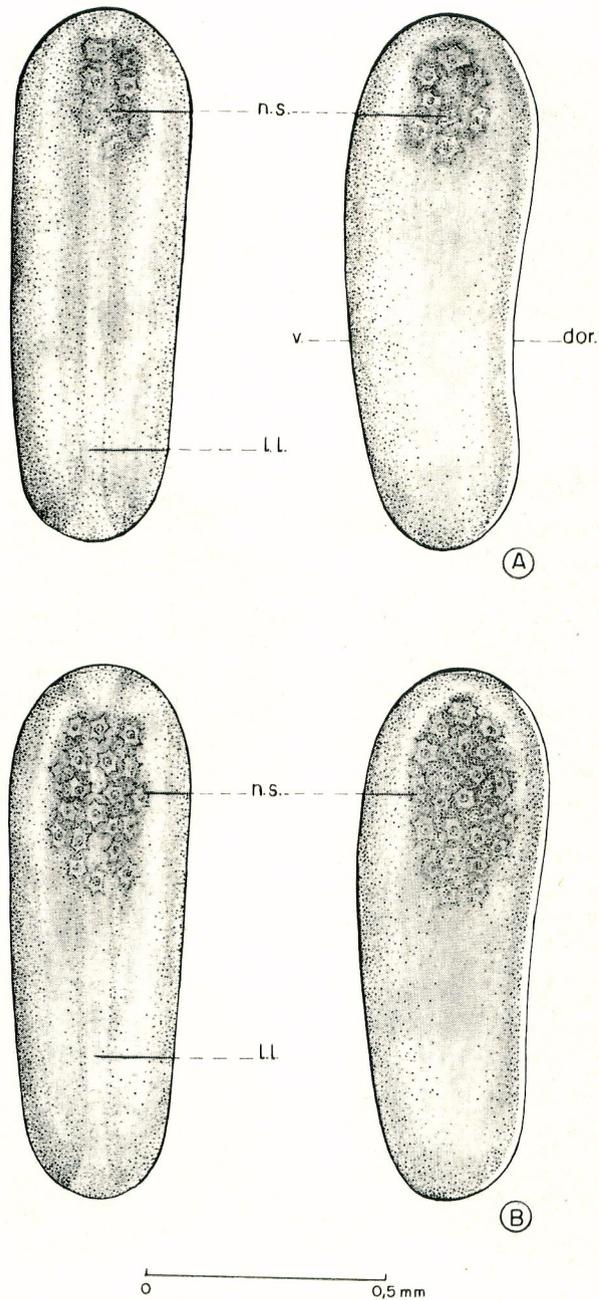


Fig. 3. A, aspectos dorsal e lateral de um embrião com 2 horas de desenvolvimento, mostrando as primeiras divisões mitóticas. B, aspectos semelhantes de um embrião com 4 horas, mostrando a figura elipsoidal formada pelos núcleos de segmentação.

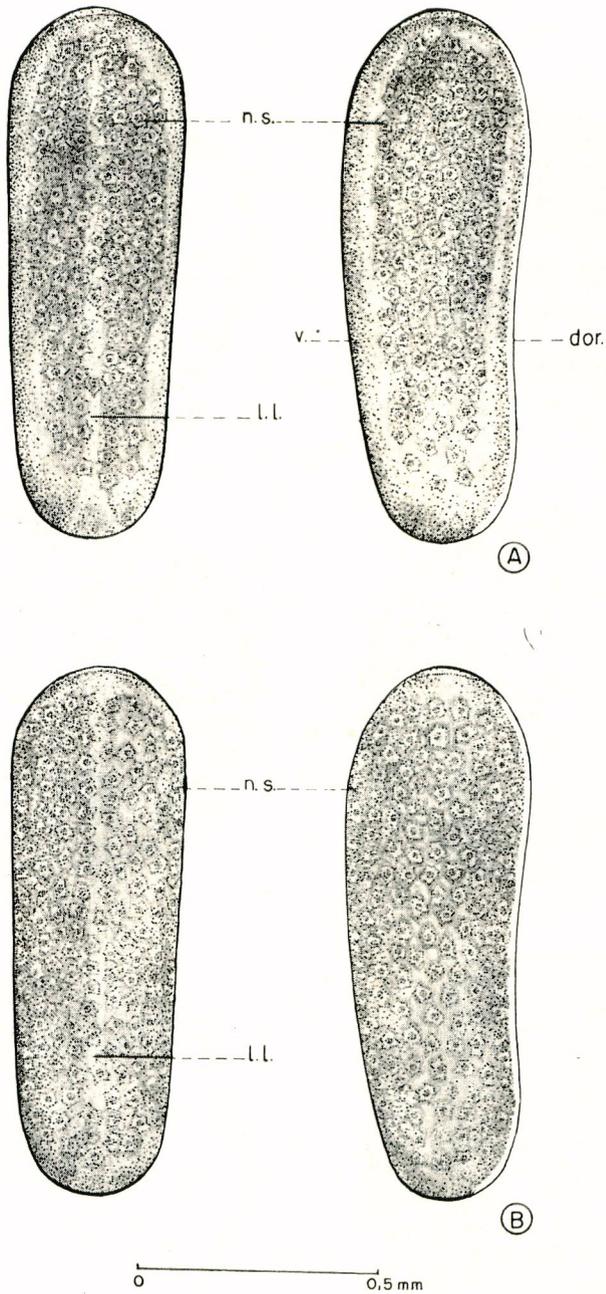


Fig. 4. A, aspectos dorsal e lateral de um embrião com 6 horas de desenvolvimento, mostrando os núcleos de segmentação que se aproximam do ectoplasma. B, aspectos semelhantes de um embrião entre 8 e 10 horas, quando os primeiros núcleos alcançam o ectoplasma.

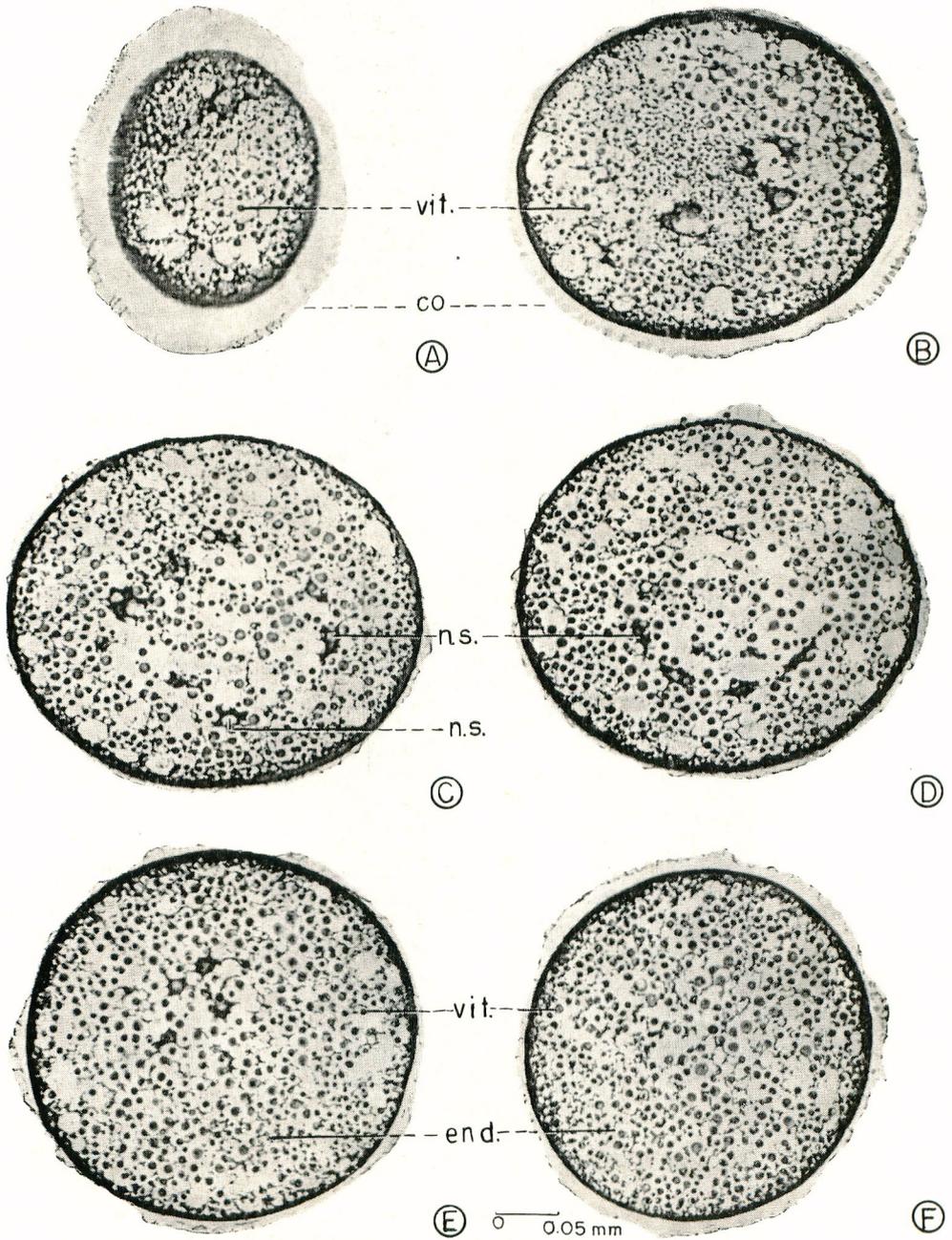


Fig. 5. A — F, cortes transversais em um embrião entre 4 e 6 horas de desenvolvimento, mostrando a distribuição dos núcleos na figura elipsoidal.

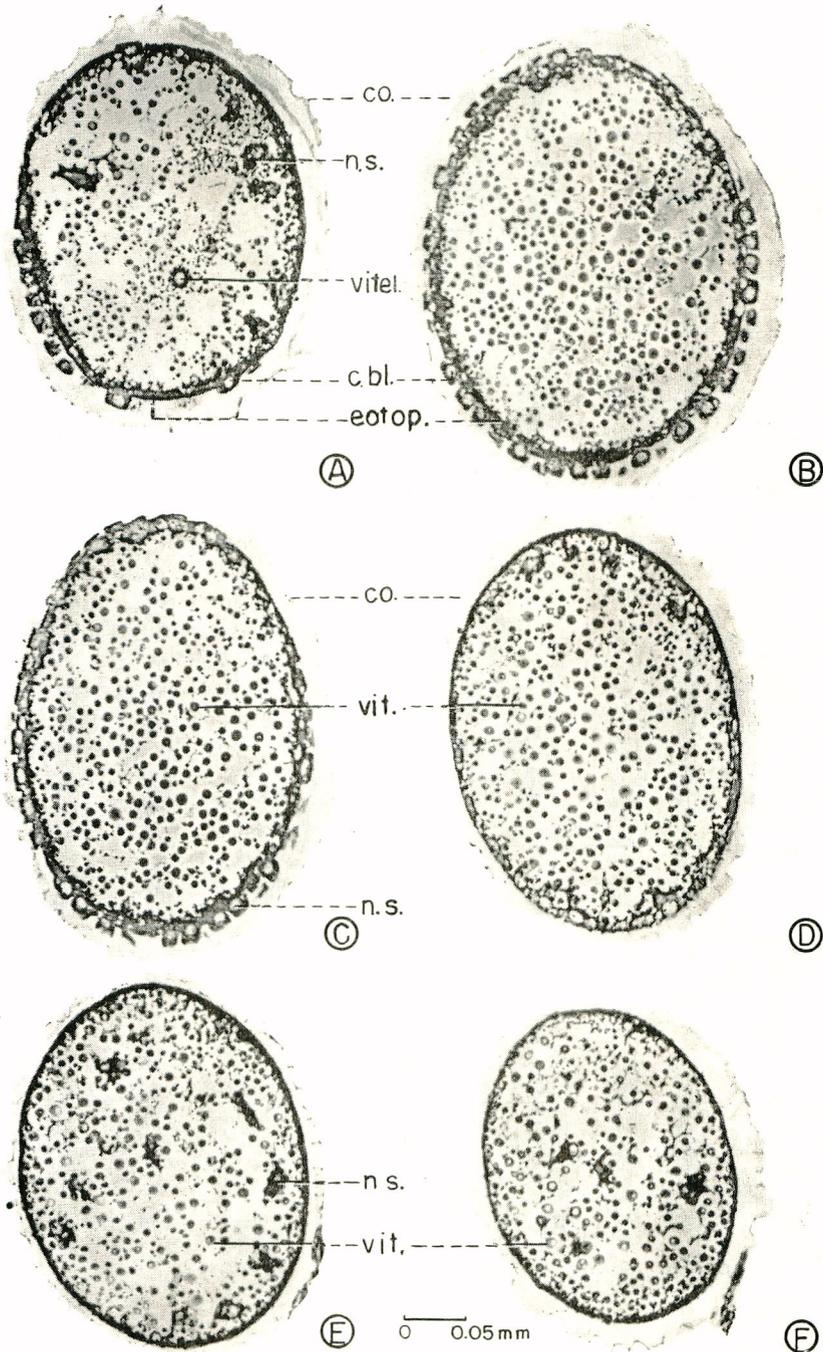


Fig. 6. A — F, cortes transversais em um embrião entre 8 e 10 horas de desenvolvimento, indicando que os primeiros núcleos chegam ao ectoplasma na porção ventral do ovo.

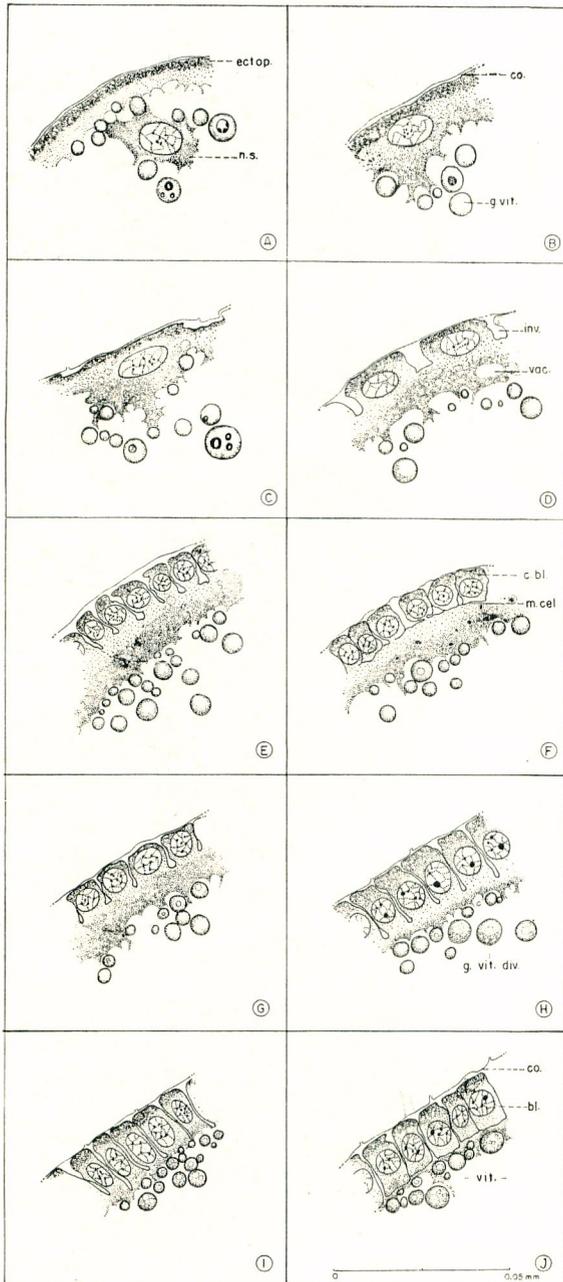


Fig. 7. Correlação entre núcleo de segmentação e ectoplasma, durante a formação do blastoderma: A — D, 4 diferentes fases, encontradas em um embrião entre 8 e 10 horas de desenvolvimento; E — F, fases que mostram a formação do blastoderma primário, como encontradas em embriões entre 16 e 18 horas de desenvolvimento; G — H, fases em que a membrana apical já não existe; em embriões entre 20 e 22 horas de desenvolvimento; I — J, invaginação internuclear, estabelecendo as células blastodermiais definitivas; embriões entre 22 e 24 horas de desenvolvimento.

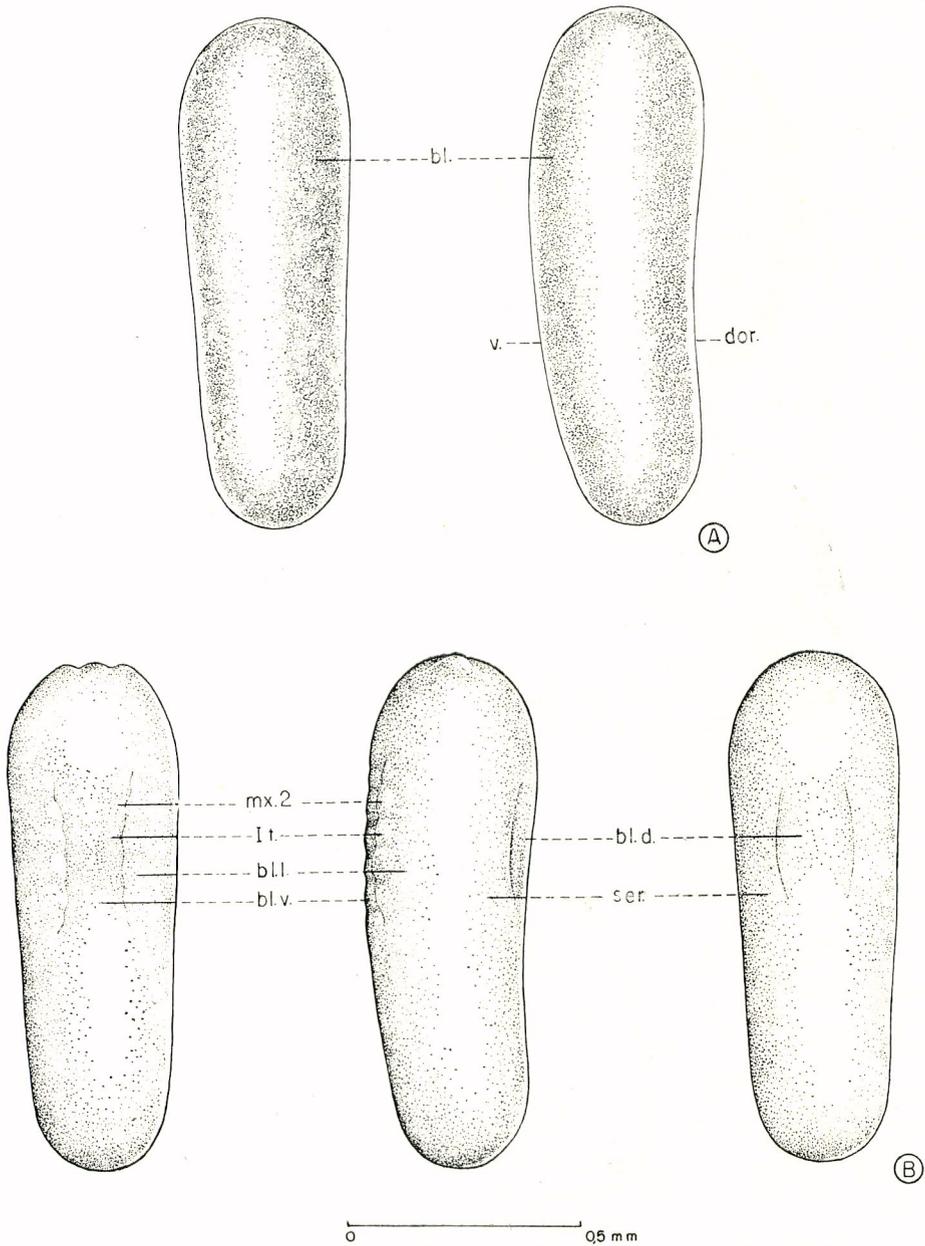


Fig. 8. A, aspectos dorsal e lateral de um embrião entre 14 e 18 horas de desenvolvimento, mostrando o blastoderma primário já estabelecido; B, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião com 20 horas, mostrando que a gastrulação tem início ao mesmo tempo que se estabelece o blastoderma definitivo; no lado dorsal, teve início a diferenciação regional do blastoderma.

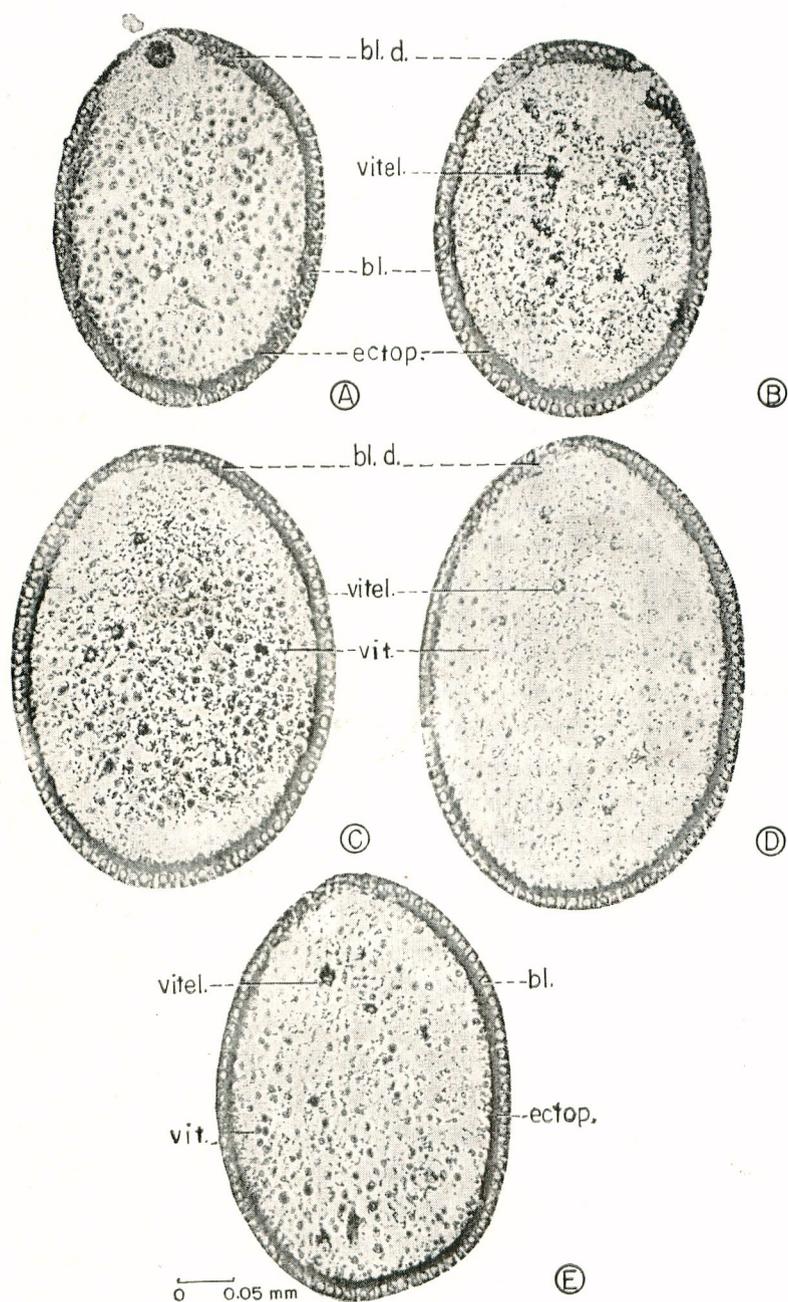


Fig. 9. A — E, cortes transversais em um embrião entre 16 e 18 horas de desenvolvimento, indicando a diferenciação do blastoderma primário.

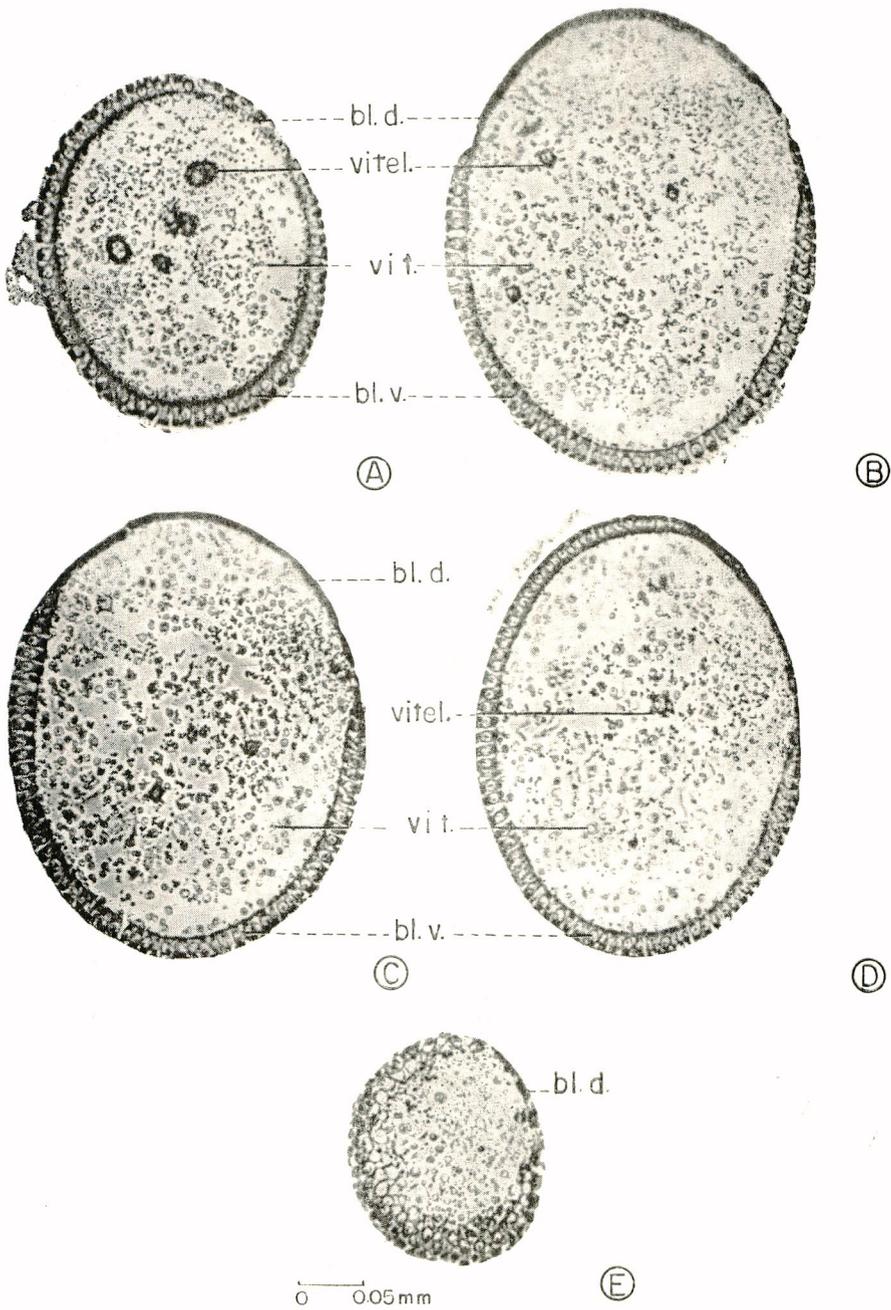


Fig. 10. A — E, cortes transversais em um embrião entre 18 e 20 horas de desenvolvimento em que estão evidenciados tanto o estabelecimento do blastoderma definitivo, como a sua diferenciação dorsal.

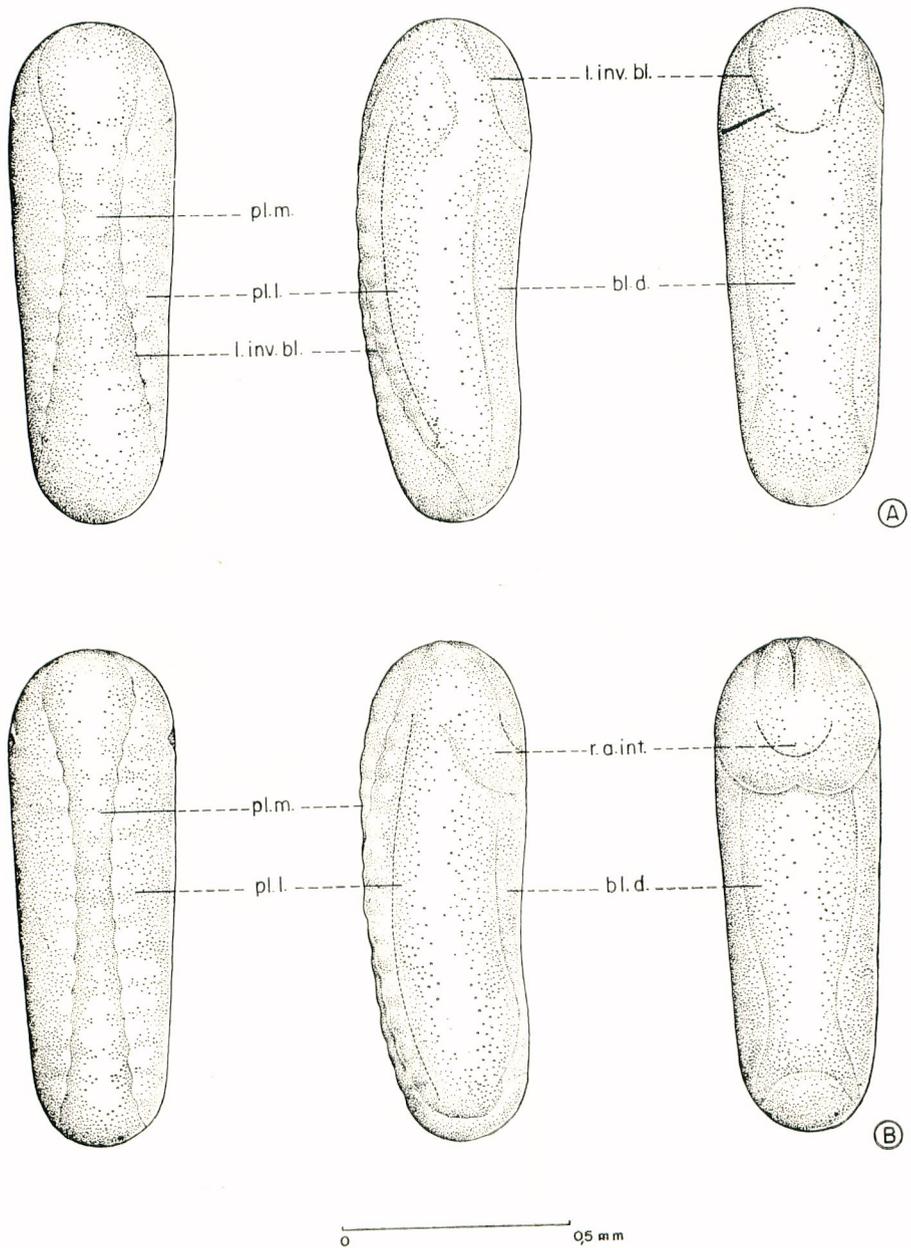


Fig. 11. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião entre 22 e 24 horas de desenvolvimento, mostrando a maneira de invaginação do blastoderma ventral ou placa mediana; B, aspectos semelhantes de um embrião entre 24 e 26 horas de desenvolvimento.

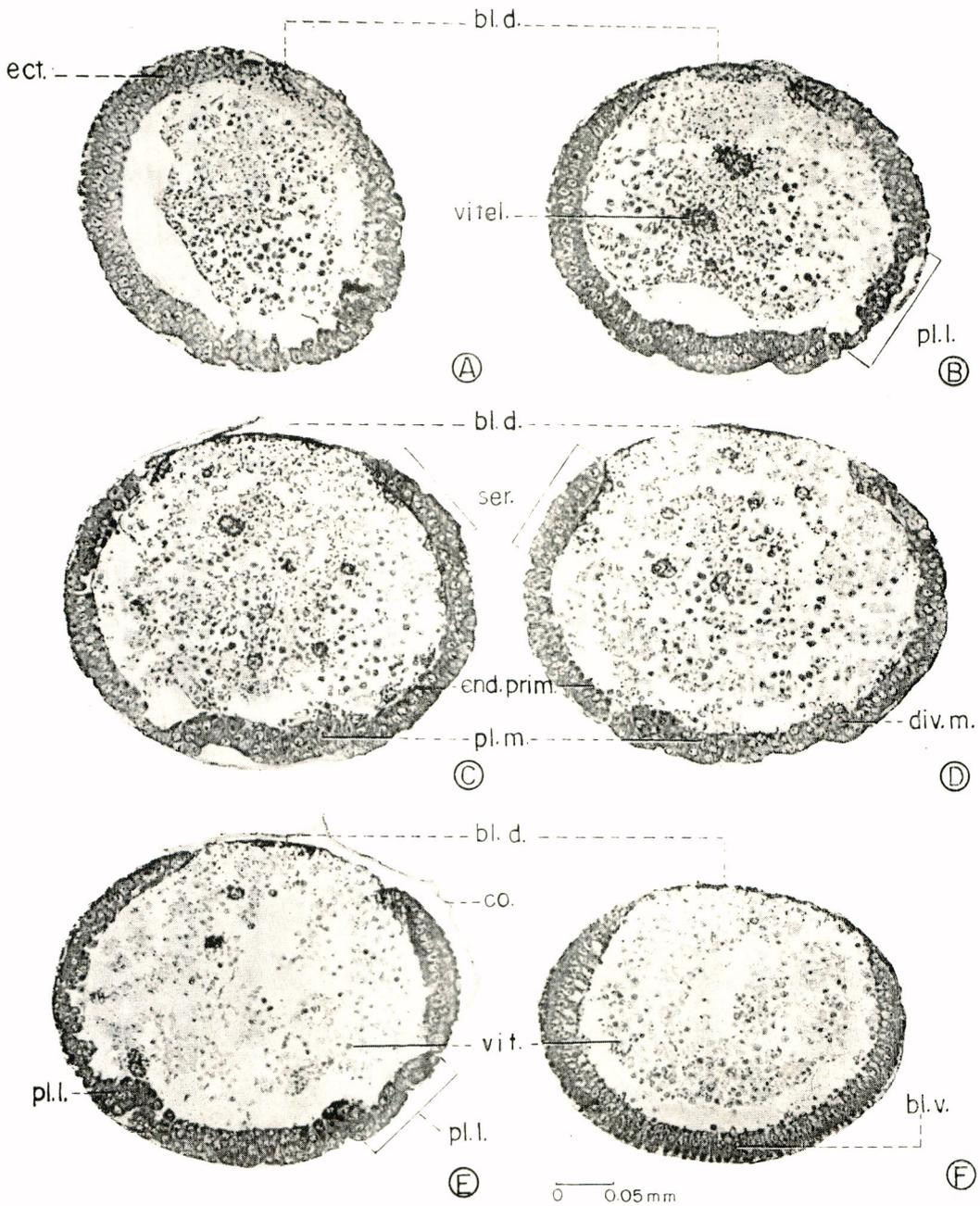


Fig. 12. A — F, cortes transversais em um embrião entre 22 e 24 horas de desenvolvimento, mostrando o início da gastrulação e a migração da placa mediana ventral em direção ao endoplasma.

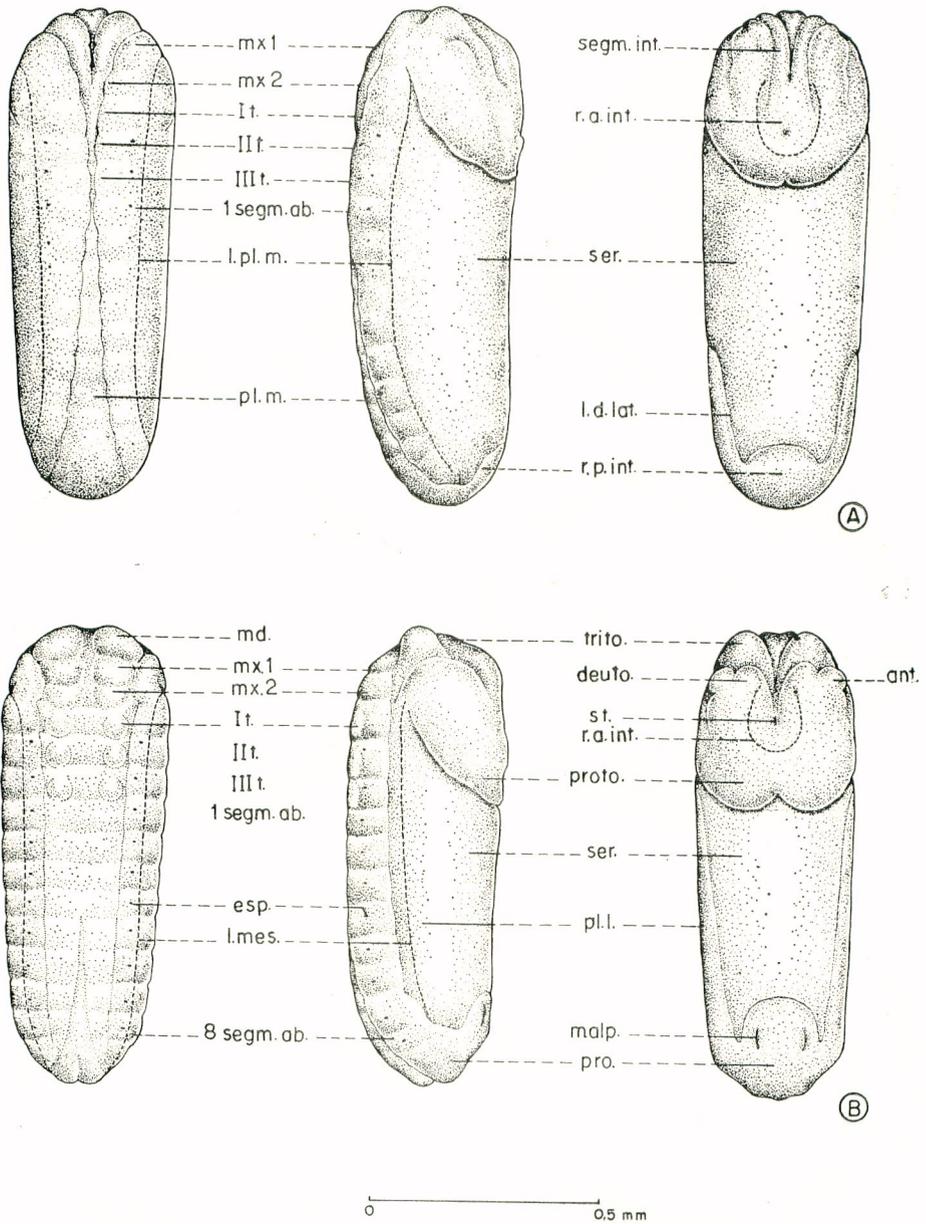


Fig. 13. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião entre 28 e 30 horas de desenvolvimento, mostrando o crescimento progressivo das placas laterais sobre a placa mediano-ventral, que representa o mesoderma; B, aspectos semelhantes de um embrião entre 32 e 34 horas de desenvolvimento; nesse estágio o ectoderma já recobre toda a porção ventral e anterior do embrião.

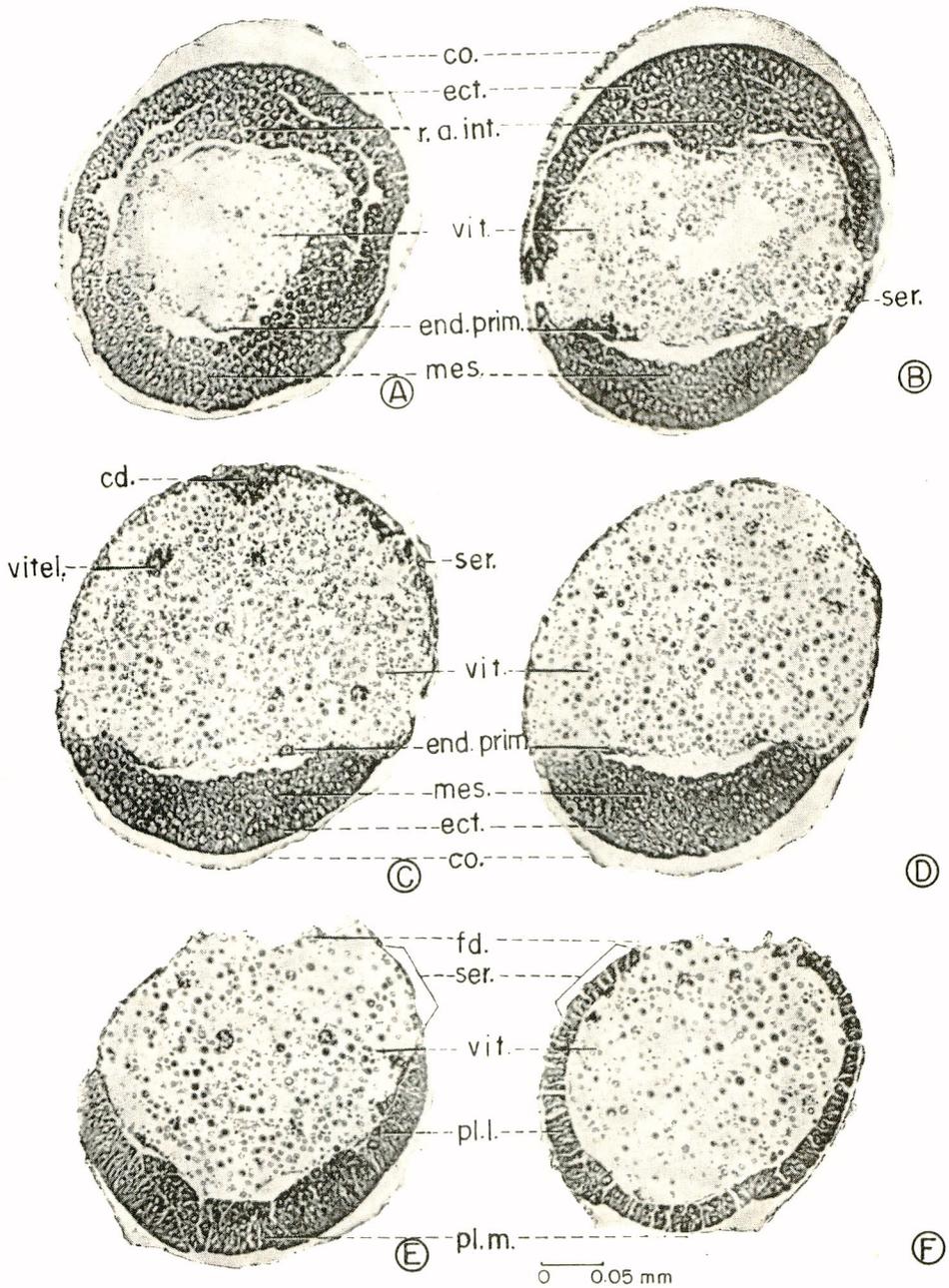


Fig. 14. A — F, cortes transversais em um embrião entre 30 e 32 horas de desenvolvimento, mostrando a formação do ectoderma sobre o mesoderma e o aparecimento do rudimento anterior do intestino médio.

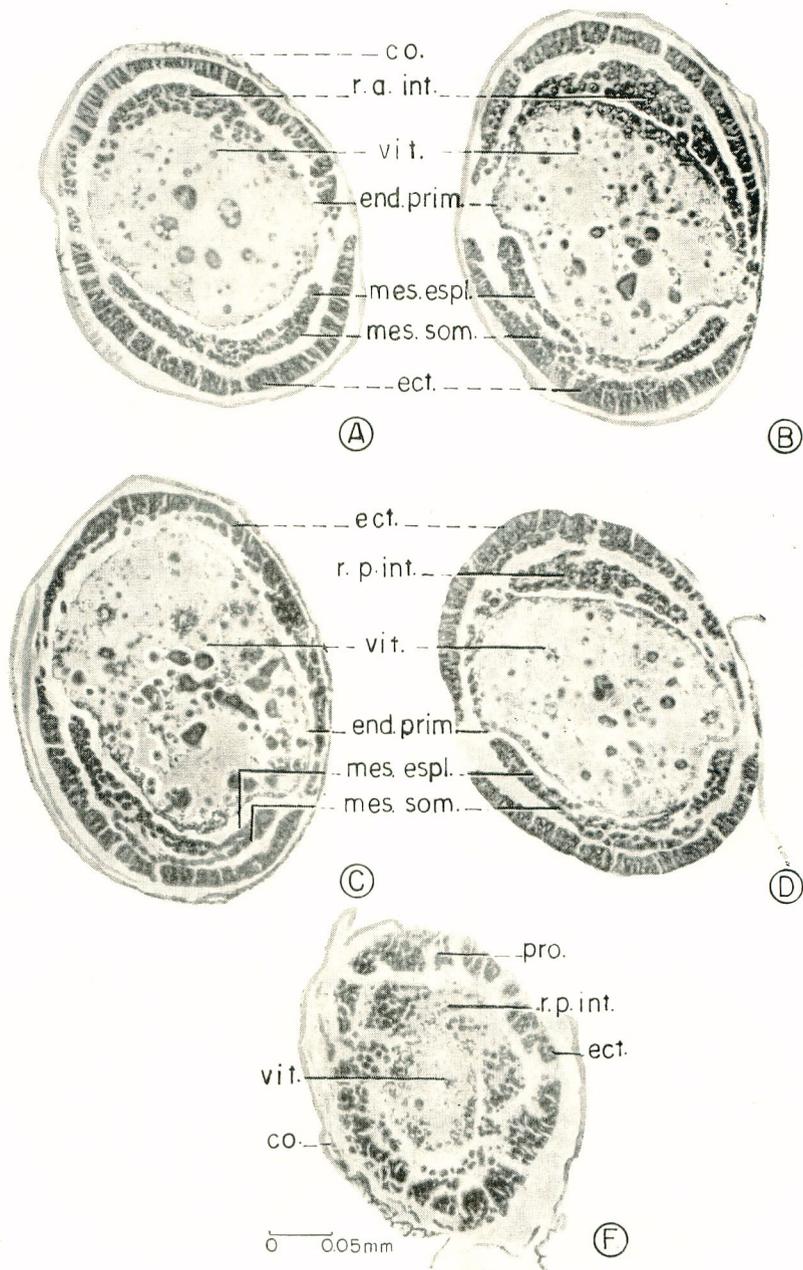


Fig. 15. A — E, cortes transversais em um embrião entre 32 e 34 horas de desenvolvimento, em que está evidenciado o ectoderma dorsal (fechamento temporário) e o mesoderma dividido em dois epitélios; além disso, estão distintos os rudimentos anterior e posterior do intestino.

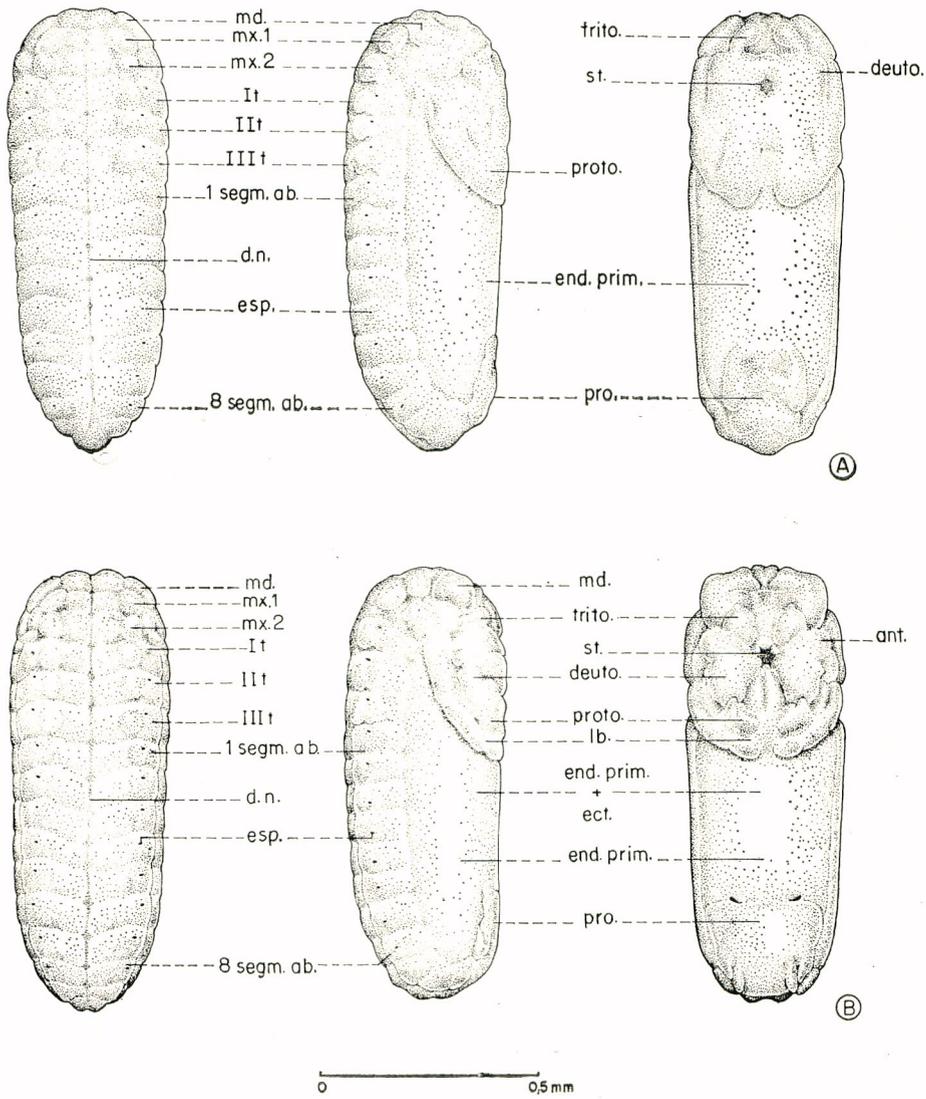


Fig. 16. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião com 36 horas de desenvolvimento, mostrando a segmentação do corpo e início da dobra neural; B, aspectos semelhantes de um embrião com 38 horas.

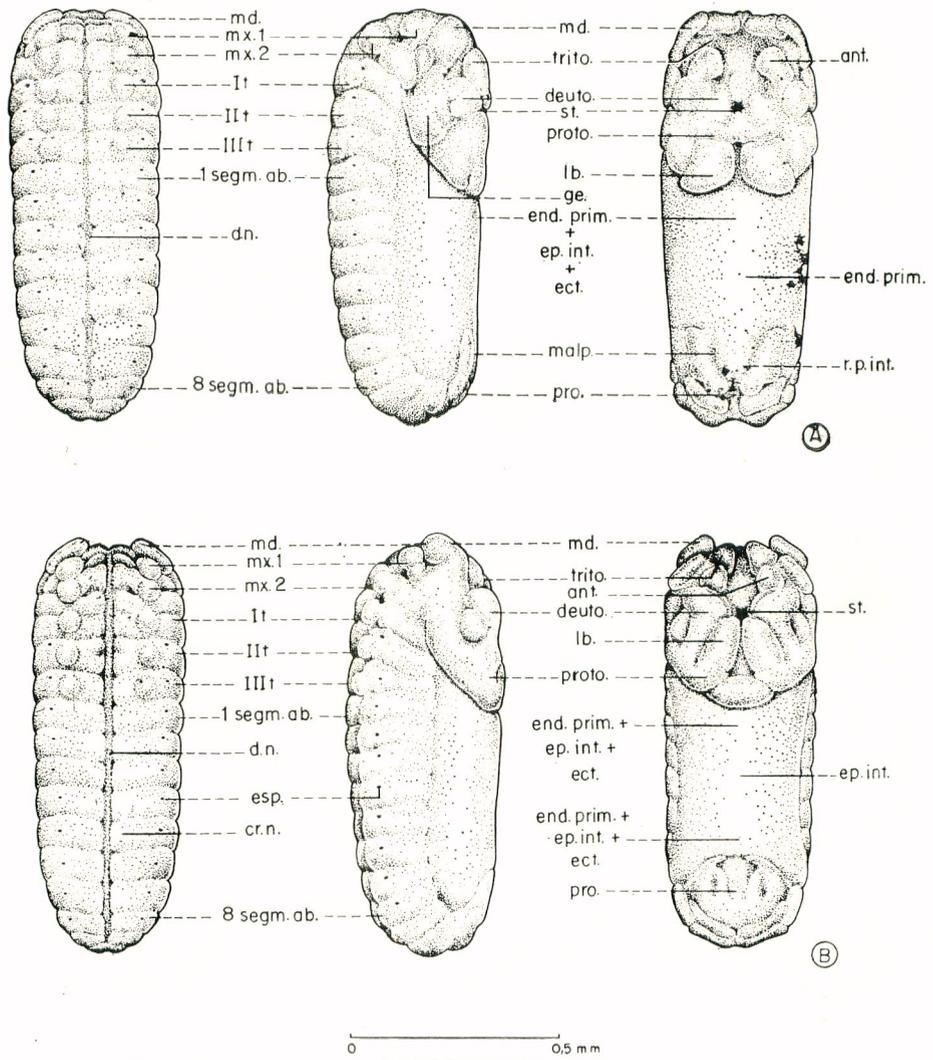


Fig. 17. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião com 42 horas de desenvolvimento; diferenciação do labro; B, aspectos semelhantes de um embrião com 48 horas.

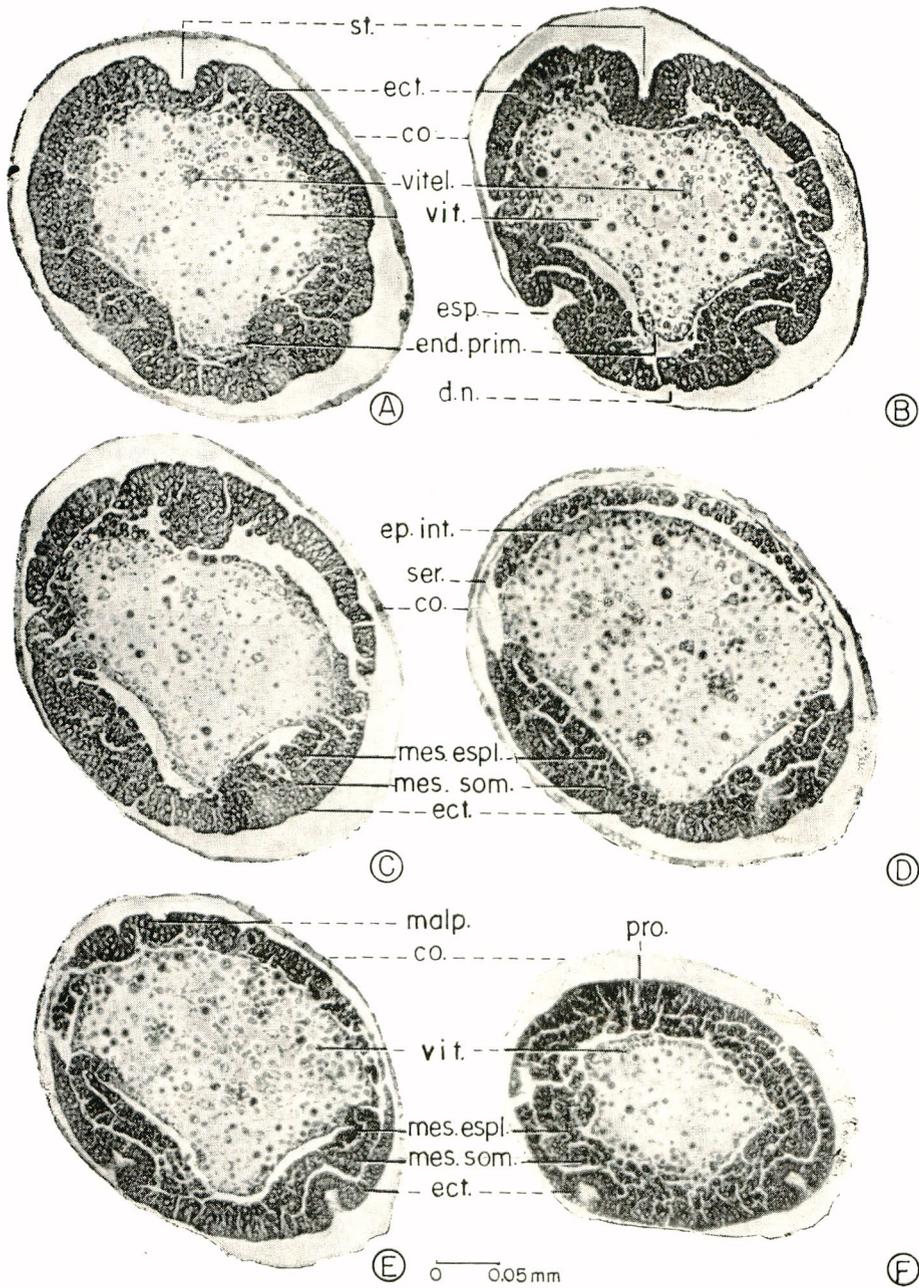


Fig. 18. A — F, cortes transversais em um embrião com 44 a 46 horas de desenvolvimento.

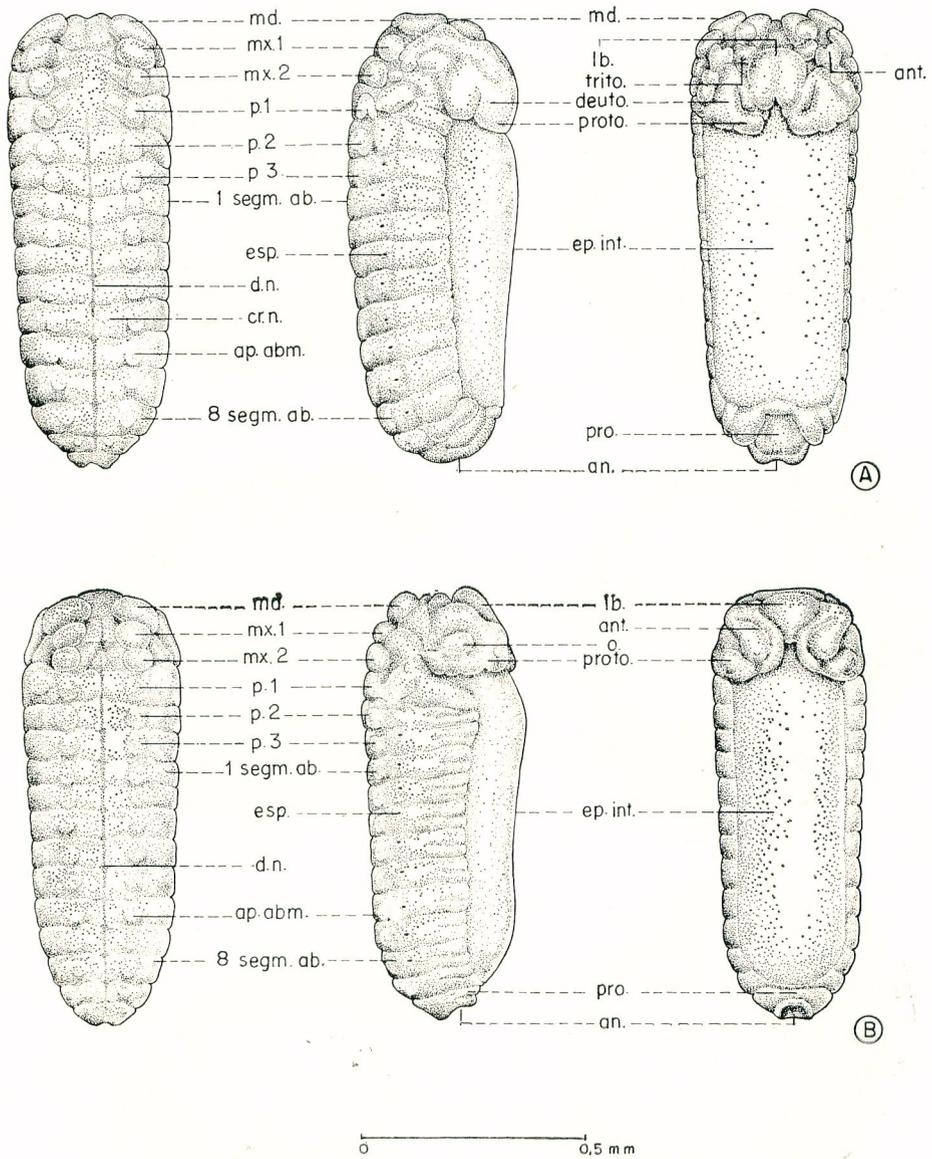


Fig. 19. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião com 50 horas de desenvolvimento, evidenciando os apêndices bucais, torácicos e abdominais; diferenciação do labro e deslocamento no sentido ântero-ventral; B, aspectos semelhantes de um embrião com 54 horas, mostrando o início do fechamento dorsal, diferenciação da cabeça e proctodeo.

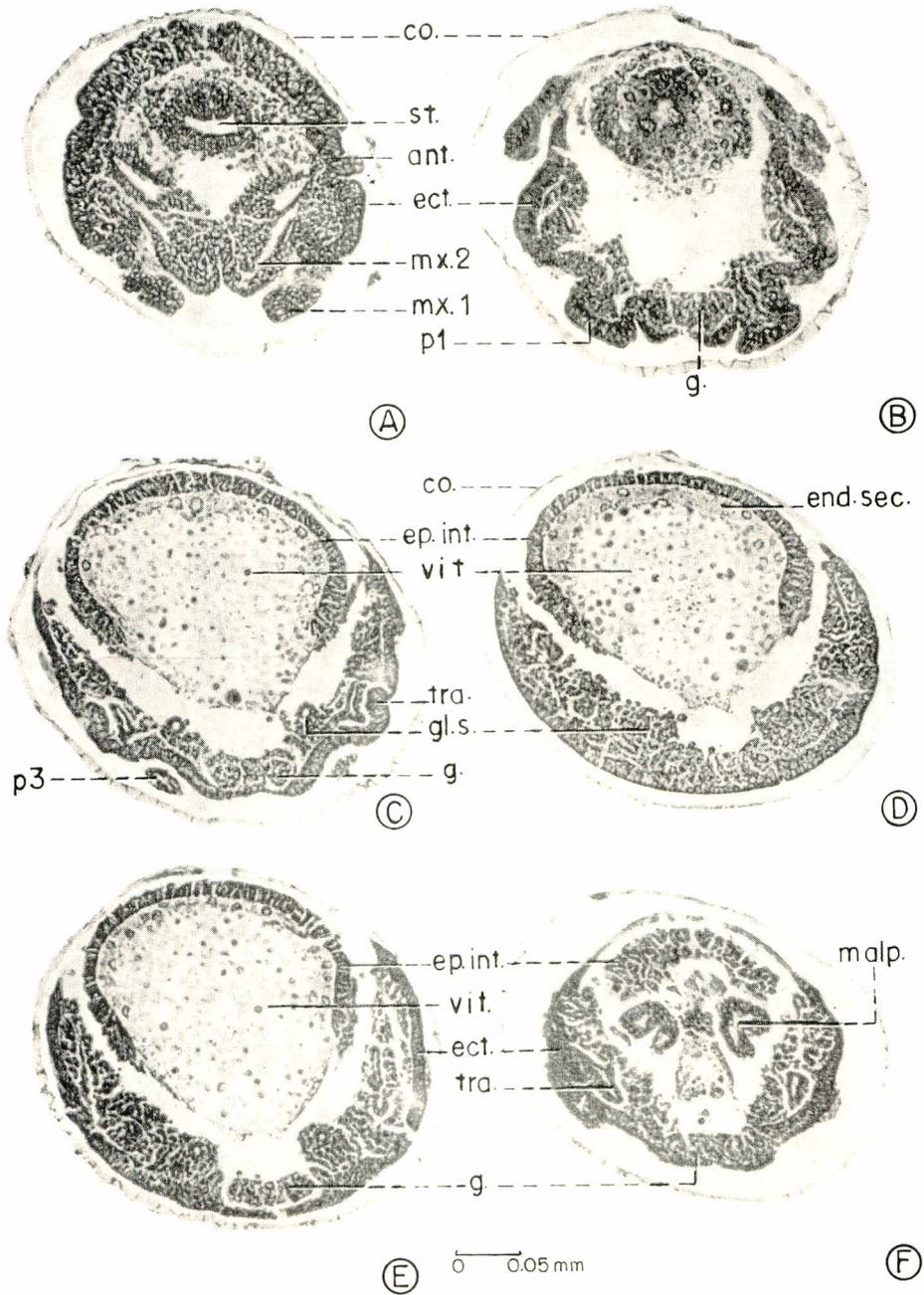


Fig. 20. A — F, cortes transversais em um embrião entre 50-54 horas de desenvolvimento, mostrando a diferenciação do epitélio do intestino médio e o início do fechamento dorsal do corpo.

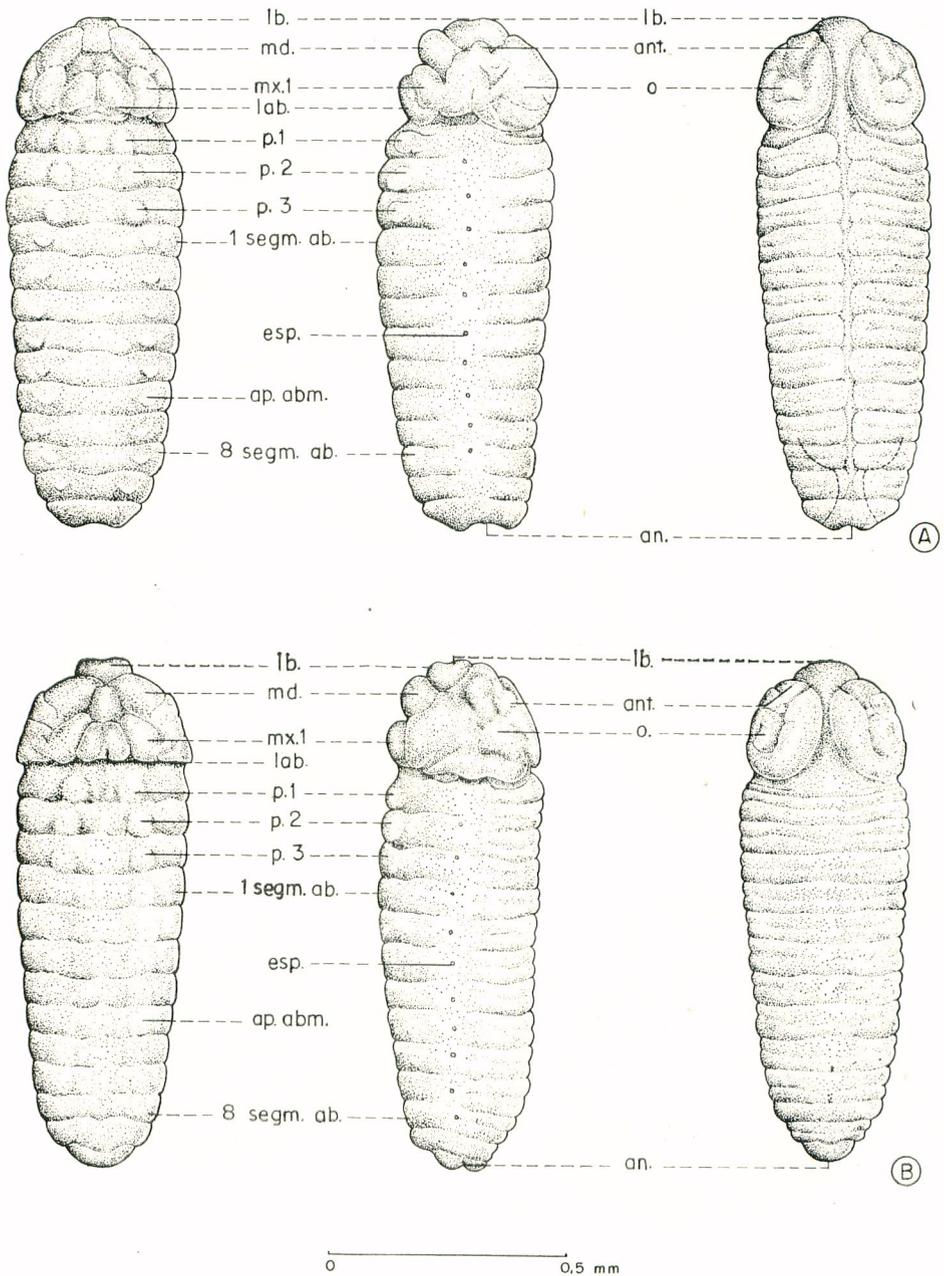


Fig. 21. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião com 58 horas de desenvolvimento, mostrando a disposição dos apêndices bucais ao redor do estomodeo; apêndices torácicos e a degeneração dos apêndices abdominais; B, aspectos semelhantes de um embrião de 60 horas.

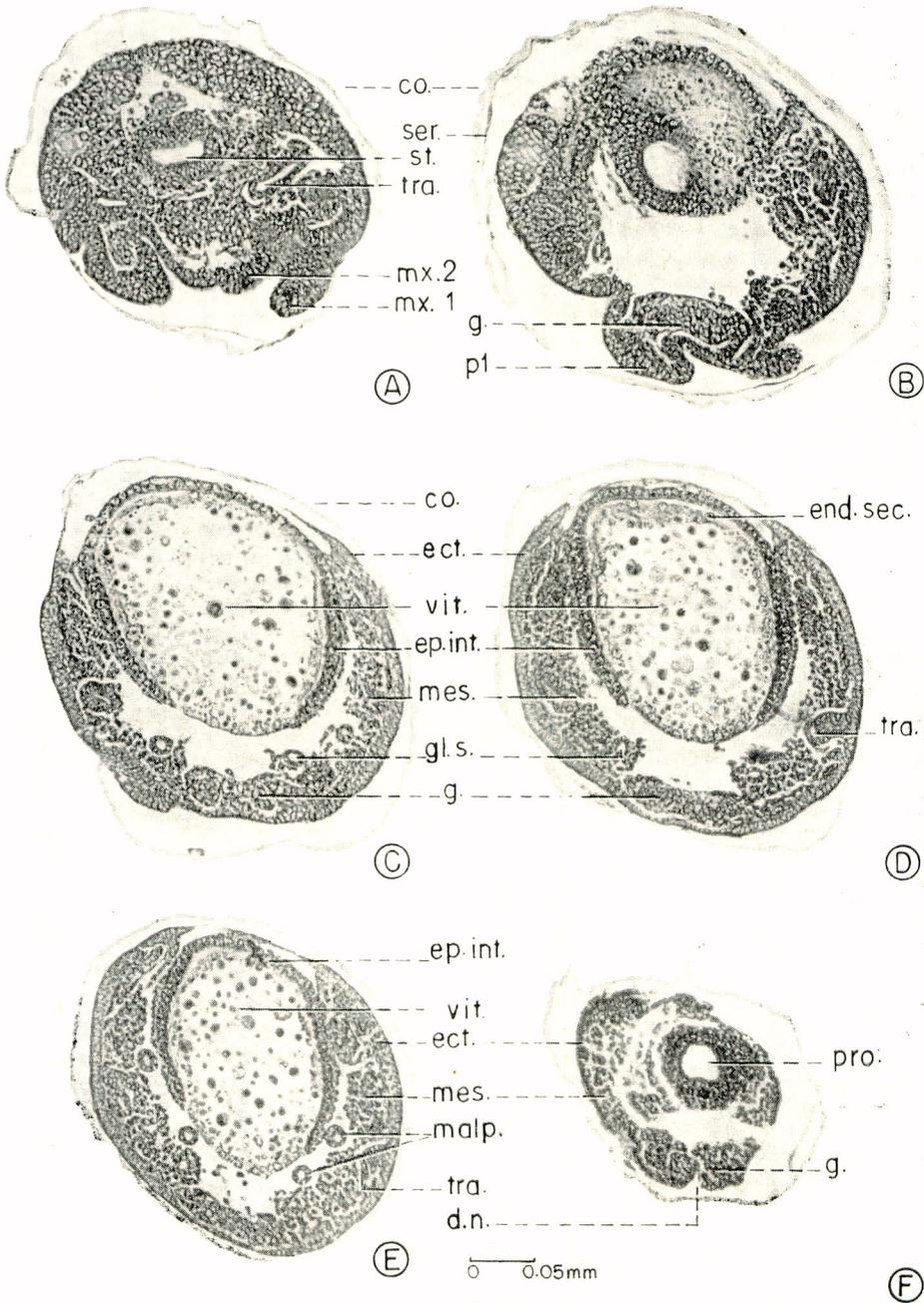


Fig. 22. A — F, cortes transversais em um embrião entre 58-60 horas de desenvolvimento.

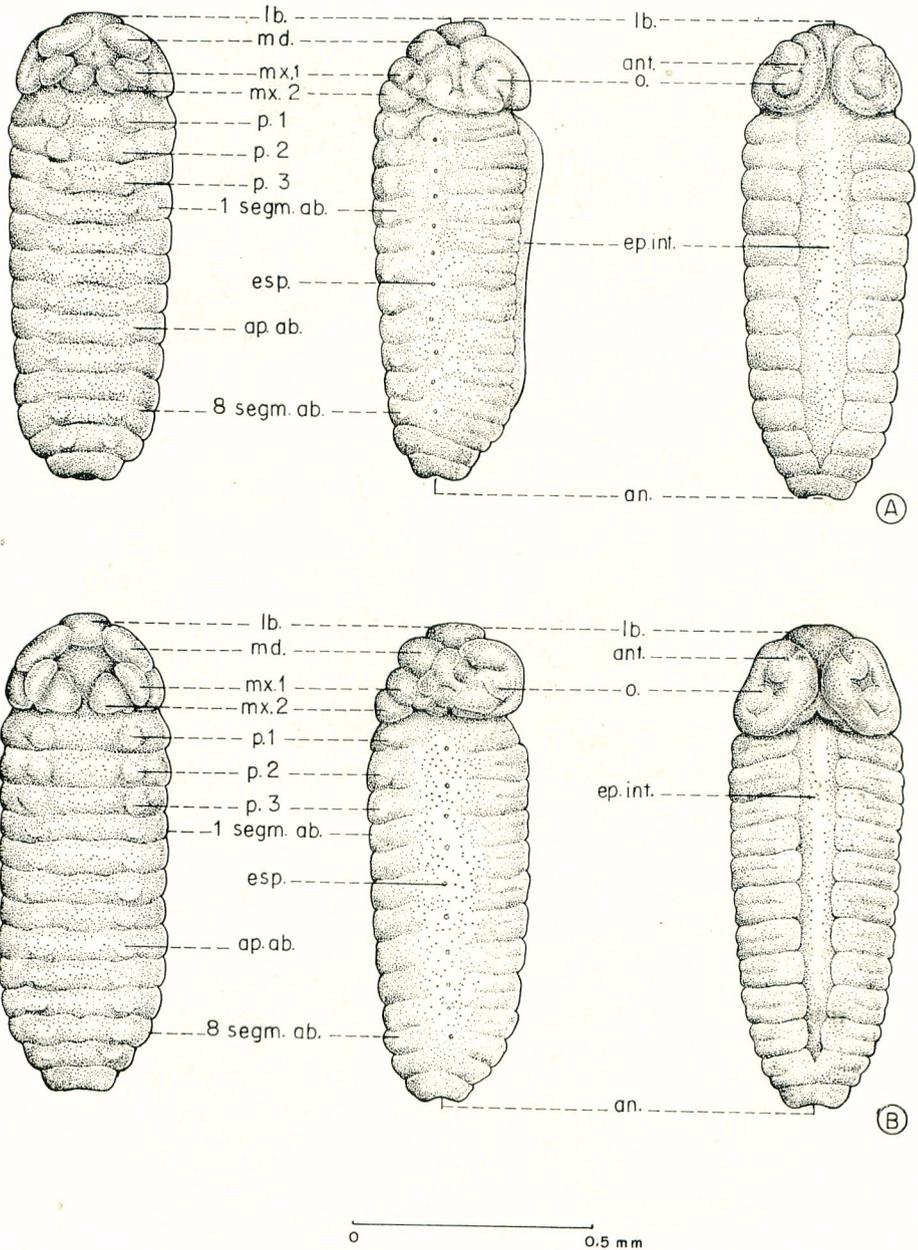


Fig. 23. A, aspectos ventral, lateral e dorsal de um embrião com 66 horas de desenvolvimento, mostrando o início de fusão dos apêndices maxilares II para a formação do lábio; B, aspectos semelhantes de um embrião com 68 horas, mostrando a complementação do fechamento dorsal.

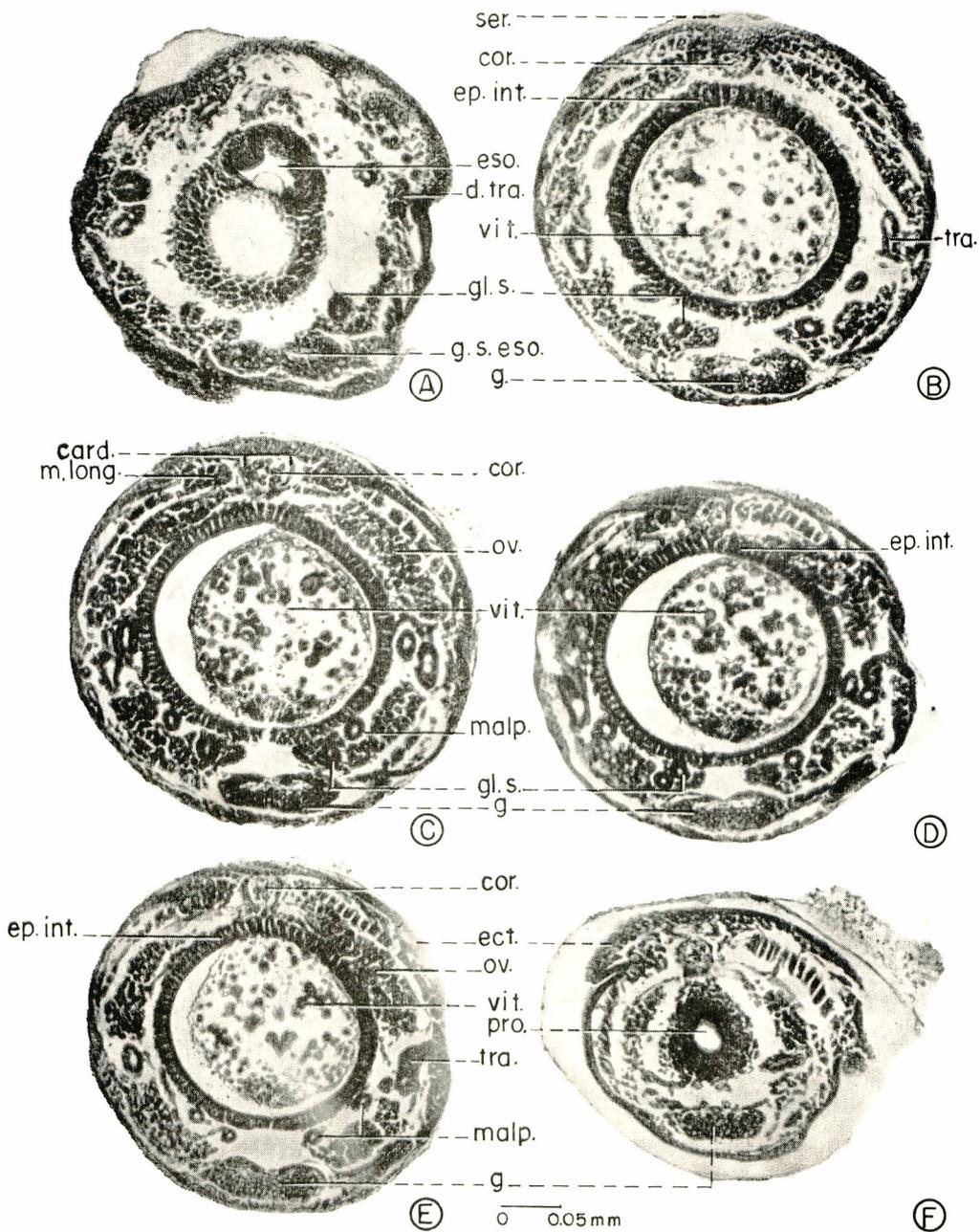
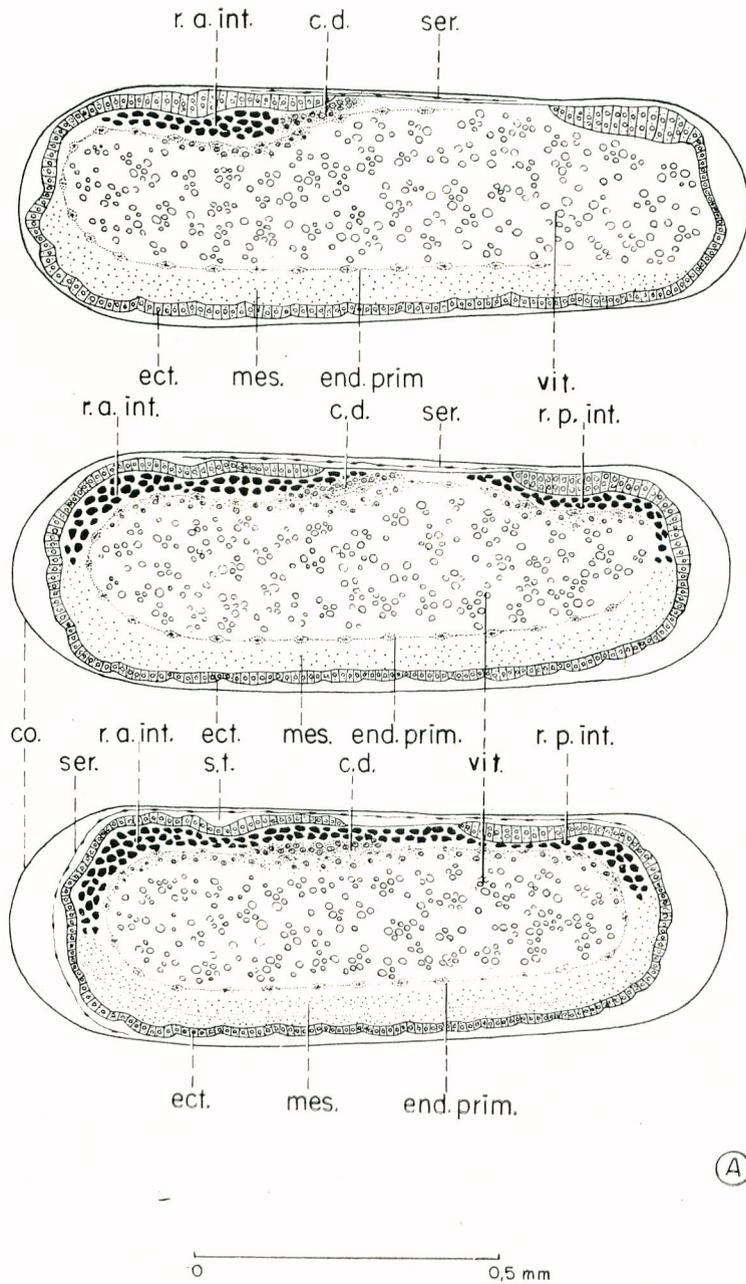


Fig. 24. A — F, cortes transversais em um embrião com 66-68 horas de desenvolvimento, complementação do corpo embrionário.



A

Fig. 25. As figs. a, b e c, foram preparadas para mostrar: a diferenciação do intestino médio; a invaginação do estomodeo e proctodeo; o desenvolvimento da serosa; a substituição do endoderma primário pelo secundário; as relações entre ectoderma, mesoderma e endoderma; o desenvolvimento da glândula de seda e sua extensão máxima; o desenvolvimento dos tubos de Malpighi; a complementação da larva; o encurtamento do embrião e espaço ocupado pelo mesmo em relação ao cório original. Fig. 25a. Embriões com, respectivamente, 28-30; 32-34 e 38-40 horas de desenvolvimento.

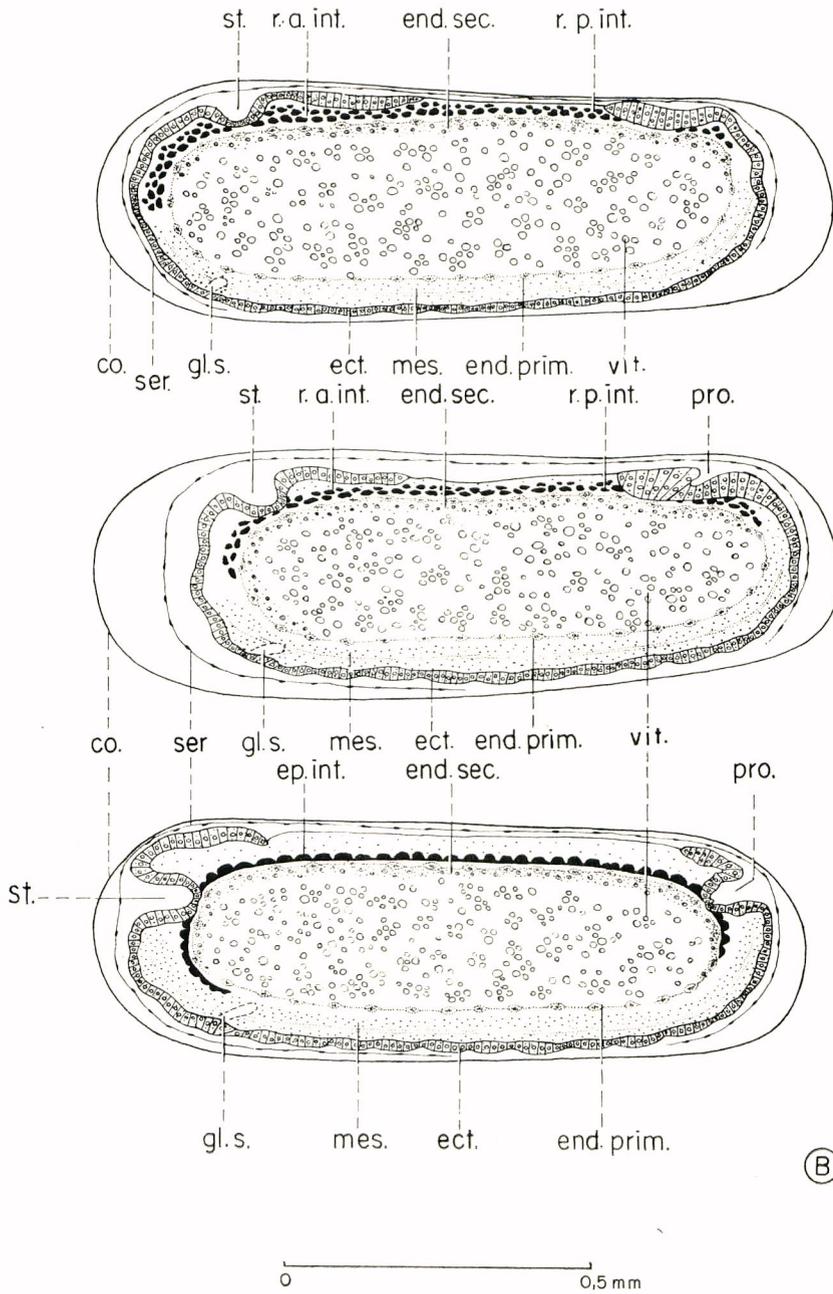


Fig. 25b. Embriões com, respectivamente, 42-44, 46-48 e 50-54 horas de desenvolvimento.

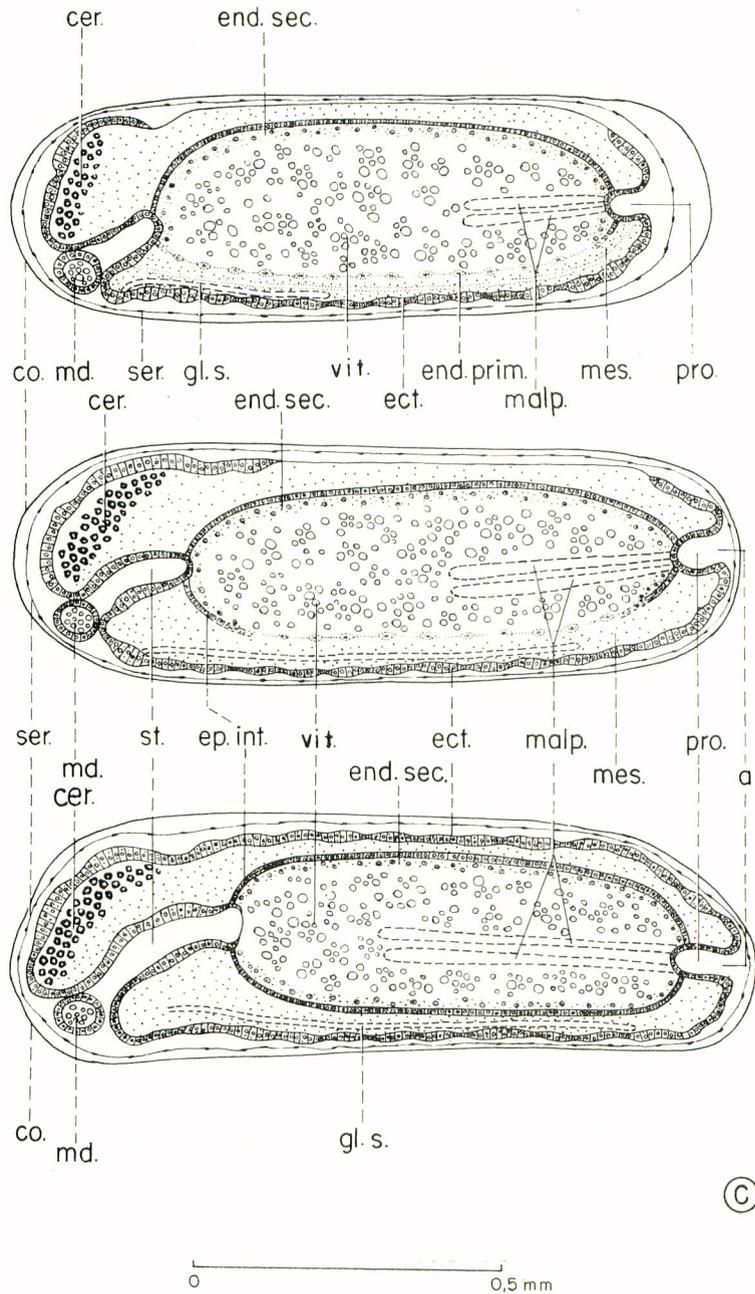


Fig. 25c. Embriões com, respectivamente, 60-62, 62-66 e 66-68 horas de desenvolvimento.

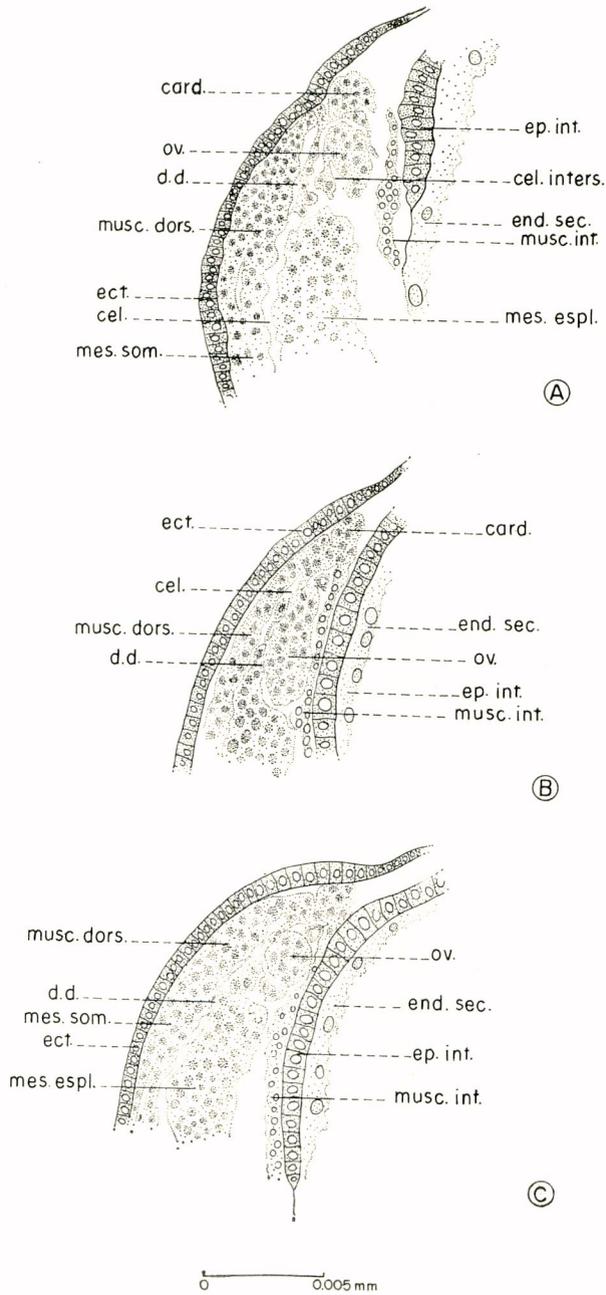


Fig. 26. Diferenciação do mesoderma e formação do ovário; esquemas preparados a partir de cortes transversais. A, embrião com 50-54 horas de desenvolvimento; B, embrião com 54-58 horas de desenvolvimento; C, embrião com 58-62 horas de desenvolvimento.

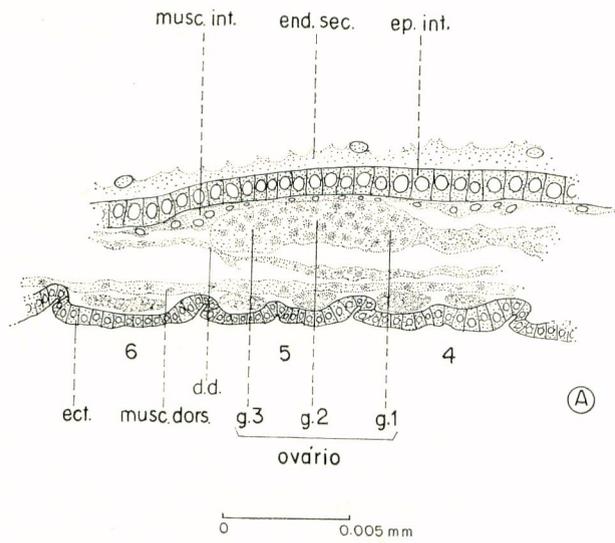


Fig. 27. Esquema de um corte horizontal de um embrião com 46-66 horas de desenvolvimento, mostrando a posição e tamanho do ovário esquerdo.