



Mistérios de ser macho ou fêmea



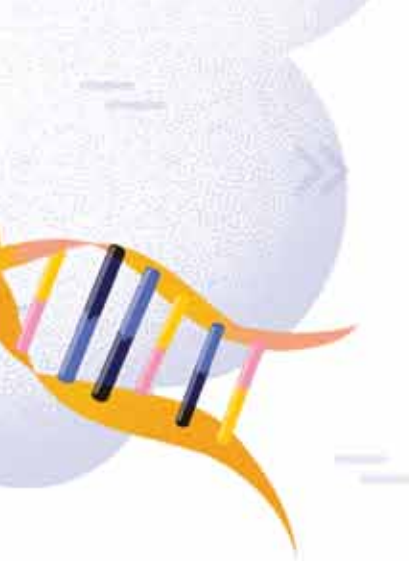
Rã amazônica é o vertebrado com o maior número registrado de cromossomos sexuais

Maria Guimarães

Quando o biólogo Thiago Gazoni examinou pela primeira vez os cromossomos da rã conhecida como jia-da-floresta (*Leptodactylus pentadactylus*), durante o mestrado, que concluiu em 2011 na Universidade Estadual Paulista (Unesp) em Rio Claro, não contava registrar o vertebrado com o maior número de cromossomos sexuais já encontrado, conforme descreveu em artigo publicado no final de janeiro no site da revista *Chromosoma*: são 12 desses pacotes de DNA que,

nessa espécie, se organizam em forma de anel durante a divisão celular, como se dançassem uma ciranda. É um sistema muito distante do X e do Y que determinam se uma pessoa é homem ou mulher. O recordista anterior era o ornitorrinco, com 10 cromossomos sexuais.

“Menos de 5% dos anfíbios cujos cromossomos foram descritos até o momento têm cromossomos sexuais prontamente identificáveis”, diz Gazoni, que aprofundou o estudo durante o doutorado encerrado em 2015. Isso significa



(os autossomos). São 12 sexuais em um conjunto total de 22 cromossomos. “O que define, visualmente, serem cromossomos sexuais é haver diferenças entre os cariótipos de machos e de fêmeas”, explica Gazoni. Os cromossomos exclusivos de um sexo seriam responsáveis por defini-lo. Durante a evolução, o que acontece é que os autossomos vão sofrendo alterações que podem dar origem a cromossomos com genes específicos para um dos sexos. Aos poucos, outros genes próximos ao determinador do sexo vão sendo inativados, dando origem a cromossomos especializados. As partes inativadas ficam mais condensadas e podem ser reconhecidas com métodos adequados de coloração.

Em 2014, Gazoni passou três meses na Universidade de Cambridge, Reino Unido, no laboratório do geneticista Malcolm Ferguson-Smith, para desenvolver uma sonda que conseguisse marcar os cromossomos das rãs e mapear o trânsito de pedaços trocados entre cromossomos distintos. No futuro, um dos objetivos é identificar e localizar os genes relacionados à determinação do sexo nesses anfíbios.

“Ainda não se sabe o significado dos cromossomos sexuais múltiplos”, diz a bióloga Patricia Parise-Maltempi, da Unesp de Rio Claro, orientadora de Gazoni durante o doutorado – que teve como coorientador o zoólogo Célio Haddad, da mesma instituição. Há 10 anos ela fez um estágio de pós-doutorado com Ferguson-Smith para aprender técnicas como a pintura cromossômica, que permite distinguir partes específicas dos cromossomos e comparar cariótipos. Ela se especializou sobretudo em peixes, que também apresentam cromossomos sexuais múltiplos, mas conta que o conhecimento sobre a determinação sexual é ainda bem restrito. Aparentemente, no caso de peixes e da rã *L. pentadactylus*, os excedentes não são inativados – como é o caso nas fêmeas de mamíferos, que empacotam um dos cromossomos X de maneira a manter a atividade genética equiparada à dos machos, portadores de apenas um deles (ver Pesquisa FAPESP nº 260).

ENIGMA EVOLUTIVO

Também não há cromossomos inativados no recordista anterior: o ornitorrinco, estranho animal australiano que, apesar de exibir patas com membranas

Esticado, o DNA de uma célula humana teria 2 metros; no núcleo, é empacotado e dividido em cromossomos que se organizam de forma específica na replicação

que quando se monta o cariótipo – uma forma de organizar e estudar o conjunto de cromossomos de um indivíduo –, na maioria das vezes é impossível distinguir visualmente aqueles relacionados à determinação do sexo. Na verdade, pouco se sabe sobre os genes específicos que tornam os anfíbios machos ou fêmeas, função desempenhada em mamíferos pelo gene SRY.

Mais curioso ainda, as 13 rãs estudadas (seis fêmeas e sete machos) têm mais cromossomos sexuais do que não sexuais

Receitas variadas

Em diferentes grupos de animais, o sistema de determinação do sexo pode depender de cromossomos distintos... ou não

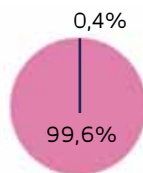
- XX, XY ● ZZ, ZW ● Temperatura
- Hermafrodita ● Indeterminado

MAMÍFEROS



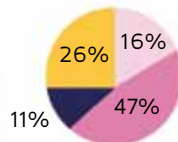
O sistema de cromossomos XX (fêmeas) e XY (machos) vale para todos os mamíferos

AVES



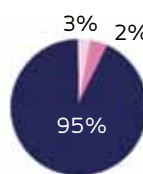
Quase todas as aves têm o sexo definido pelos cromossomos ZZ (machos) e ZW (fêmeas)

RÉPTEIS



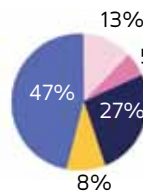
Nem sempre os cromossomos sexuais são distintos dos autossômicos, e em parte das espécies a temperatura durante o desenvolvimento dos ovos define o sexo

ANFÍBIOS



Na maioria das espécies, não se sabe onde estão os genes determinadores do sexo

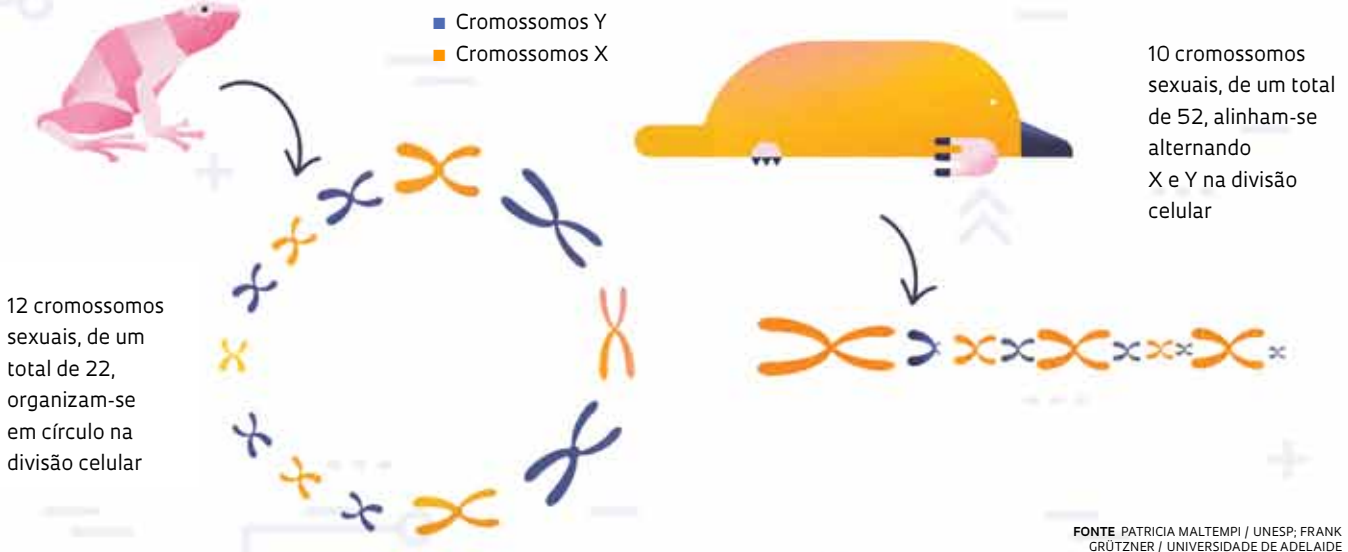
PEIXES



Quase metade das espécies é hermafrodita, (tem órgãos reprodutivos dos dois sexos) com determinação variada para as restantes

Recordistas entre os vertebrados

A rã jia-da-floresta e o ornitorrinco têm o maior número de cromossomos sexuais já encontrados; abaixo exemplos de machos, já que fêmeas têm apenas as versões X



entre os dedos, bico achatado e pôr ovos, não é pato e sim mamífero. Um mamífero à parte – junto com a espinhuda equidna pertence à ordem dos monotremados –, mas mesmo assim alimenta seus filhotes com leite, embora não tenha propriamente mamas. Desde os anos 1970 sabe-se que esses curiosos caçadores subaquáticos têm 52 cromossomos, dos quais 10 sexuais que aparecem enfileirados durante a divisão celular. Demorou cerca de 30 anos para que existissem ferramentas adequadas para estudar esse sistema, segundo explica o geneticista alemão Frank Grützner, da Universidade de Adelaide, na Austrália, que desde 2002 se dedica ao enigma. “Eu tinha aprendido uma técnica chamada hibridização *in situ* por fluorescência, na qual é possível marcar cromossomos em cores diferentes”, conta. “Era claro que ela permitiria solucionar esse complexo sistema, mas foram necessários vários anos de trabalho duro para mostrar que se tratava de cinco pares de cromossomos XX ou XY, que se alternam em fileira durante a meiose, na divisão celular” (ver *infográfico acima*).

Especialmente relevante para entender a evolução dos sistemas de determinação sexual foi a descoberta de que essa cadeia de cromossomos dos ornitorrinco tem genes típicos dos cromossomos

X de mamíferos e Z de aves, de acordo com artigo publicado por Grützner em 2004 na revista *Nature*. É um indício de origem comum entre esses sistemas que até então se acreditava terem surgido de forma independente. Mesmo assim, até agora não está claro qual gene determina os sexos nesse animal. Esforços de sequenciamento do genoma completo estão em curso, com mais dificuldades no que diz respeito ao cromossomo Y. “Recentemente, em colaboração com Henrik Kaessmann [da Universidade de Heidelberg, na Alemanha], descobrimos um candidato potencial – um gene AMH ligado ao Y”, detalha. “É um gene tradicionalmente ligado ao desenvolvimento dos órgãos reprodutivos, será interessante ver como ele pode atuar na determinação sexual nessa espécie.”

IMPRESSÃO DIGITAL

Além das profundas implicações evolutivas do sistema genético de determinação sexual, a configuração dos cromossomos é muito usada como parte da caracterização de espécies, algo como uma impressão digital. Esse era um dos objetivos de Gazoni durante o mestrado orientado pela citogeneticista Sanae Kasahara, da Unesp de Rio Claro, falecida em janeiro deste ano. “Havia questões taxonômicas mal resolvidas no gênero, e por isso

pesquisadores à época no laboratório de Haddad – Olivia Araujo e Felipe Toledo – nos trouxeram um *L. pentadactylus* macho coletado em Paranaita, em Mato Grosso”, conta ele. “Logo vimos que havia vários rearranjos cromossômicos.”

O trabalho se desdobrou por outros caminhos, mas a busca pela classificação continua. “Mostramos no trabalho recente que há duas espécies atualmente sendo chamadas de *L. pentadactylus*, precisamos saber qual delas é a verdadeira”, diz Gazoni. O plano é batizar a nova espécie em homenagem à primeira orientadora, que dedicou a carreira à pesquisa em citogenética de vertebrados. ■

Projetos

1. Contribuições para o entendimento da origem e evolução dos cromossomos sexuais de vertebrados, baseado no estudo de DNAs repetitivos (nº 17/00195-7); Modalidade Auxílio à Pesquisa – Regular; Pesquisadora responsável Patricia Pasquali Parise-Maltempi (Unesp); Investimento R\$ 106.795,21.
2. Diversidade e conservação dos anfíbios brasileiros (nº 13/50741-7); Modalidade Projeto Temático; Programa Biota; Pesquisador responsável Célio Fernando Baptista Haddad (Unesp); Investimento R\$ 4.386.814,61.

Artigos científicos

- GAZONI, T. *et al.* More sex chromosomes than autosomes in the Amazonian frog *Leptodactylus pentadactylus*. **Chromosoma**. On-line. 26 jan. 2018.
- GRÜTZNER, F. *et al.* In the platypus a meiotic chain of ten sex chromosomes shares genes with the bird Z and mammal X chromosomes. **Nature**. v. 432, n. 7019, p. 913-7. 24 out. 2004.