

## **CROMOSSOMOS MEIÓTICOS E MECANISMO DE DETERMINAÇÃO DO SEXO EM UMA ESPÉCIE NOVA DE GRILOS *ENEOPTERA* DO NORDESTE DO BRASIL (ORTHOPTERA, ENEOTERINAE)**

Anelise Fernandes e Silva<sup>1</sup>; Luciano de Pinho Martinas<sup>2</sup>; Edison Zefa<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas – anelise\_fs@hotmail.com*

<sup>2</sup>*Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Coordenação de Pesquisas em Entomologia, Av. André Araújo, 2936, 69060-001, Manaus, Brasil. (lucianodpm@gmail.com)*

<sup>3</sup>*Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas – edzefa@gmail.com*

### 1. INTRODUÇÃO

A contribuição dos Orthoptera para conhecimentos gerais sobre citogenética é significativa, o grande comprimento dos cromossomos, o baixo número do complemento na maioria das espécies e a presença constante de rearranjos autossômicos ou rearranjos envolvendo cromossomos sexuais tem levado pesquisadores a voltarem-se cada vez mais suas pesquisas para este grupo (WHITE, 1973; HEWITT, 1979).

O mecanismo original de determinação do sexo em Orthoptera é o XO (WHITE, 1973, HEWITT, 1979). Porém muitas espécies apresentam o mecanismo neo-XY, originado de processos de translocação ou fusão X/autossomo, bem como mecanismos múltiplos de determinação do sexo, como  $X_1X_2Y♂$ - $X_1X_1X_2X_2♀$  ou  $X_1X_20♂$ - $X_1X_1X_2X_2♀$ , (WHITE, 1973; SAEZ, 1963).

O gênero *Eneoptera* inclui sete espécies que ocorrem nos trópicos e subtropicais da região Neotropical (ROBILLARD e DESUTTER-GRANDCOLAS, 2005), e os únicos estudos cromossômicos são referentes ao cariótipo e mecanismo de determinação do sexo de *Eneoptera surinamensis* que apresenta  $2n=9$ ,  $X_1X_2Y♂$  e  $2n=10$ ,  $X_1X_1X_2X_2♀$  (PIZA, 1946; CLAUS, 1956; MESA & BRAN, 1964).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar os cromossomos meióticos de uma nova espécie de *Eneoptera* que ocorre na Floresta Amazônica e Mata Atlântica, destacando o mecanismo de determinação do sexo, bem como o comportamento dos cromossomos sexuais e autossomos durante a Prófase I.

### 2. METODOLOGIA

Os indivíduos foram coletados em arbustos e serrapilheira de Mata Atlântica, no Parque Nacional de Monte Pascoal, município de Itamaraju, BA em 15/07/2012.

No momento da coleta, registramos o som de chamado de quatro espécimes de *Eneoptera* sp., os quais foram utilizados para distingui-los da

espécie *Eneoptera surinamensis* que ocorre em simpatria, cujo som de chamado foi descrito por Miyoshi et al. (2007). Análises comparativas do complexo fálico de *Eneoptera* sp. com as outras seis espécies do gênero (Robillard e Desutter-Grandcolas, 2005) mostraram tratar de uma nova espécie.

Os quatro indivíduos taxonomicamente analisados foram utilizados para as análises citológicas. Os cromossomos foram obtidos de testículos submetidos à solução hipotônica 0.075M, por 5 à 10 minutos, fixados em Carnoy I (3 partes de álcool etílico e 1 parte de ácido acético glacial) e armazenados em tubos plásticos, acondicionados em refrigerador a 4°C.

As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento, com os folículos testiculares esmagados sobre uma lâmina com uma gota de ácido acético 45%. Após a secagem em temperatura ambiente, o material foi corado com orceína lacto-acéticas 0,5%.

As principais fases da meiose foram selecionadas e fotografadas com câmera fotográfica digital Nikon, S-750, via ocular do microscópio óptico Olympus CX21.

### 3. RESULTADOS

Os machos de *Eneoptera* sp. apresentam  $2n=9$ , com sistema múltiplo de determinação sexual  $X_1X_2Y$ . Sendo os autossomos e os cromossomos sexuais  $X_1$  e  $Y$  metacêntricos e o cromossomo  $X_2$  acrocêntrico.

Os cromossomos sexuais  $X_1$  e  $Y$  são heteropicnóticos positivos em relação aos autossomos, desde a fase de leptóteno até diplóteno intermediário. O cromossomo  $X_1$  apresenta-se em forma de anel nas fases de zigóteno a paquíteno e o cromossomo  $Y$  em forma linear ou anelar, com blocos heteropicnóticos positivos distribuídos irregularmente ao longo de toda sua extensão.

A heteropicnose positiva dos cromossomos  $X_1$  e  $Y$  desaparece gradativamente quando os cromossomos avançam para fase próxima à metáfase I. A partir dessa fase, os cromossomos sexuais  $X_1$  e  $Y$  apresentam o mesmo grau de condensação dos autossomos e do cromossomo  $X_2$ .

O cromossomo  $X_2$  se comporta como os autossomos, ou seja, é isopicnótico durante toda a meiose I.

Durante a metáfase I, torna-se evidente tanto no cromossomo  $X_1$  como no  $Y$  uma constrição elástica na região centromérica, que pode ser observada de acordo com o seu grau de distendimento.

Em algumas metáfases I o cromossomo  $X_1$ , e/ou  $X_2$ , ou ambos se emparelharam junto aos autossomos na placa equatorial. E em duas anáfases e duas telófases se constatou pontes de cromatina entre núcleos anafásicos.

#### 4. DISCUSSÕES

Tanto *Eneoptera* sp. como *E. surinamensis* apresentam a mesma constituição cariotípica e mecanismos de determinação de sexo, com os machos apresentando  $2n=9$ ,  $X_1X_2Y$ . Provavelmente dois passos foram necessários para a origem desse sistema. No primeiro, o cromossomo X metacêntrico ancestral sofreu uma translocação com um cromossomo de um par autossômico acrocêntrico, resultando em um metacêntrico grande (Y), o X original remanescente da quebra passou a ser o  $X_1$  (acrocêntrico), e o remanescente autossômico, o  $X_2$  (acrocêntrico). No segundo passo, houve fusão cêntrica entre o cromossomo acrocêntrico  $X_1$  e um cromossomo autossomo acrocêntrico, resultando em um cromossomo  $X_1$  metacêntrico (CLAUS, 1956; MESA e BRAN, 1964).

Nos Orthoptera, o comportamento dos cromossomos sexuais se diferencia dos autossomos em relação à condensação cromossômica (SAEZ, 1963). Após rearranjos entre o cromossomo X com autossomos, os seguimentos de origem autossômica passam gradativamente a se comportar como os cromossomos sexuais. Essa mudança de comportamento pode ser quantificada pelo grau de heterocromatinização e heteropicnose ao longo dos segmentos de origem autossômica (SAEZ, 1963, MESA et. al 2001).

Embora *Eneoptera* sp. e *E. surinamensis* provavelmente tenham herdado o mecanismo de determinação do sexo de um ancestral comum, o cromossomo Y de *E. surinamensis* apresenta dois blocos heterocromáticos distintos tomando quase toda a extensão de cada braço cromossômico (PIZA, 1946; CLAUS, 1956; MESA & BRAN, 1964) enquanto na espécie aqui analisada, os blocos se distribuem irregularmente ao longo de toda a extensão cromossômica. Outra diferença marcante são as constrições elásticas na região centromérica dos cromossomos  $X_1$  e Y, que não ocorrem em *E. surinamensis*.

As pontes anafásicas foram pouco documentadas em Orthoptera, sendo reportadas apenas nos tetrígídeos *Tetrix tenuicornis* que habitam áreas poluídas com metais pesados (WARCHAŁOWSKA-SLIWA et. al., 2005). As pontes anafásicas podem ser consequência de mutagênicos, os quais aumentam as quebras cromossômicas, com subsequente fusão de cromátides em ordem invertida, ou promovem a fusão entre telômeros. Os espécimes estudados nesse trabalho foram coletados em uma reserva natural, onde supõe-se que seja reduzida a taxa de poluentes.

Novos estudos envolvendo técnicas moleculares serão necessários para compreender o significado do processo de heterocromatinização dos segmentos autossômicos ligados aos cromossomos sexuais, e as possíveis implicações da formação de pontes anafásicas na viabilidade dos espermatozoides e conseqüentemente no sucesso reprodutivo da espécie.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CLAUS, G. 1956. La formule chromosomique du Grylloidea *Eneoptera surinamensis* De Geer et le comportement des chromosomes sexuels de cette espèce au cours de la spermatogenèse. **Ann. Sc. Nat. Paris Zool.** 11 (18): 63-106.
- HEWITT, G.M. Animal cytogenetics: Orthoptera (Grasshoppers and crickets). Stuttgart: **Gerbruder Borntraeger**, 1979, v.3, 170p. (Insecta 1)
- MESA, A.; BRAN, E.J. 1964. Acerca de los cromosomas de *Eneoptera surinamensis*. **Anais do II Congresso Latino-Americano de Zoologia**, São Paulo, 1: 9-16.
- MESA, A.; FONTANETTI, C.S.; GARCÍA-NOVO, P. 2001. Does an x-autosome centric fusion in Acridoidea condemn the species to extinction? **Journal of Orthoptera Research.** 10 (2): 141-146.
- MIYOSHI, A.R.; ZEFA, E., MARTINS, L.P., DIAS, P.G.B.S. DREHMER, C.J., DORNELLES, J.E.F. 2007. Stridulatory file and calling song of two populations of the tropical bush cricket *Eneoptera surinamensis* (Orthoptera, Gryllidae, Eneopterinae). **Iheringia, Sér. Zool.**, 97 (4): 461-465.
- PIZA Jr, S.T. 1946. Uma nova modalidade de sexo-determinação no grilo Sul-Americano *Eneoptera surinamensis*. **Na. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz" Piracicaba**, Brasil, 3: 69-88.
- ROBILLARD, T., DESUTTER-GRANDCOLAS, L. 2005. A revision of Neotropical Eneopterinae crickets (Orthoptera, Grylloidea, Eneopteridae) with a phylogenetic discussion. **Insect Systematics and Evolution** 35 (4): 411-435.
- SAEZ, F.A. 1963. Gradient of the heterochromatinization in the evolution of the sexual system Neo-X-Neo-Y. **Portugaliae Acta Biologica**, série A, 7 (1-2): 111-138.
- WARCHAŁOWSKA-SLIWAA, E.; NIKLINSKAB, M.; GORLICH, A.; MICHAİLOVAD P.; PYZAC, E. 2005. Heavy metal accumulation, heat shock protein expression and cytogenetic changes in *Tetrix tenuicornis* (L.) (Tetrigidae, Orthoptera) from polluted areas. **Environmental Pollution** 133: 373–381.
- WHITE, M.J.D. Animal cytology and evolution. 3.ed. London: **Cambridge University Press**, 1973. 961p.