

ORGANIZAÇÃO E SEGREGAÇÃO MEIÓTICA DOS CROMOSSOMOS SEXUAIS
X₁X₂Y EM DUAS ESPÉCIES DE GRILOS DO GÊNERO ENEOPTERA
(ORTHOPTERA, GRYLLIDAE)

PAULO ROBERTO BOEIRA FUCULO JUNIOR¹; ANELISE FERNANDES E SILVA²;
LUCIANO DE PINHO MARTINS²; EDISON ZEFA³

¹Universidade Federal de Pelotas – paulo.fuculo@hotmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – anelise_fs@hotmail.com

²Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - lucianodpm@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – edzefa@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os primeiros estudos cromossômicos em *Eneoptera surinamensis* (DE GEER, 1773) foram realizados por PIZA (1946), que determinou $2n = 9, XY_1Y_2$ para os machos e $2n=8, XX$ para as fêmeas. Essa constituição cariotípica foi revista por CLAUS (1956) e MESA & BRAN (1964) que demonstraram que os machos apresentam $2n = 9, X_1X_2Y$ e as fêmeas $2n = 10, X_1X_1X_2X_2$.

Os cromossomos autossomos de *E. surinamensis* formam bivalentes que se organizam na placa equatorial em função dos quiasmas, e segregam para pólos opostos durante a anáfase I. Os cromossomos sexuais X_1X_2Y , embora aquiasmáticos se orientam corretamente durante a metáfase I e anáfase I, migrando para os pólos opostos possibilitando a formação de 50% dos gametas com os cromossomos X_1 e X_2 e 50% com o cromossomo Y.

Dentre as espécies de Orthoptera e Mantodea que apresentam o mecanismo de determinação do sexo do tipo X_1X_2Y , o grau de pareamento dos cromossomos sexuais durante a meiose I é variável, e está relacionado ao tempo relativo de origem do sistema, de modo que quanto mais antigo for o rearranjo X/autossomos para a formação do mecanismo múltiplo de determinação do sexo, menor a frequência de quiasmas e o grau de pareamento desses cromossomos (WHITE, 1941; SAEZ, 1963; MESA et. al. 2001). Desta forma, em Orthoptera e Mantodea há espécies em que os cromossomos X_1X_2Y apresentam quiasmas e consequentemente formam trivalentes na Meiose I, e espécies em que o pareamento é reduzido ou totalmente ausente, como ocorre em *E. surinamensis* (WHITE, 1941; WHITE, 1973; MESA & BRAN, 1964).

Havendo ou não a formação de trivalentes na meiose I, os cromossomos X_1 e X_2 devem migrar para um dos pólos da célula e o cromossomo Y para o pólo oposto para que os gametas sejam viáveis, porém, nem sempre a segregação é correta. Em *Scotussa daguerrei* e *Eurotettix lilloanus* a formação de quiasmas e o pareamento dos cromossomos sexuais durante a meiose I é eventual e ocorrem problemas na orientação dos cromossomos durante a migração para pólos opostos, com conseqüente formação de gametas inviáveis (MESA, 1964; WHITE, 1941).

Em *E. surinamensis* não há nenhum tipo de pareamento ou quiasmas entre os cromossomos X_1X_2Y e também ocorrem problemas de migração incorreta com formação de gametas inviáveis (CLAUS, 1956; MESA & BRAN, 1964).

O objetivo deste trabalho foi caracterizar o comportamento dos cromossomos sexuais X_1X_2Y durante a meiose I em duas espécies de *Eneoptera*, destacando o processo de organização e segregação dos cromossomos e sexuais durante a metáfase I e anáfase I/telófase I.

METODOLOGIA

Os espécimes de *E. surinamensis* foram coletados em arbustos e serapilheira na Reserva Florestal Adolfo Ducke (Floresta Amazônica), município de Manaus, AM, em 08/11/2010 (03 indivíduos); no Parque Nacional de Monte Pascoal (Mata Atlântica), município de Itamaraju, BA em 15/07/2012 (01 indivíduo) e na Reserva Biológica de Duas Bocas (Mata Atlântica), município de Cariacica, ES em 21/07/2012 (02 indivíduos). Quatro indivíduos de *Eneoptera* sp. foram coletados no Parque Nacional de Monte Pascoal (Mata Atlântica), município de Itamaraju, BA em 15/07/2012.

A determinação taxonômica de *E. surinamensis* foi realizada de acordo com a morfologia dos escleritos fálcos (ROBILLARD & DESUTTER-GRANDCOLAS, 2005), além das características do som de chamado (MIYOSHI et al., 2007). A nova espécie de *Eneoptera* encontra-se em fase de descrição (Martins et al., em preparação).

As preparações citológicas foram obtidas a partir de testículos hipotonizados em solução de citrato de sódio (0.075M) por 5-10min, e fixados em Carnoy I (3 partes de álcool etílico e 1 parte de ácido acético glacial). O material foi macerado sobre lâmina com ácido acético 45% e as lâminas foram secadas ao ar livre, e coradas comorceína lacto-acético 0,5%.

Foram analisadas cinco lâminas de cada indivíduo e selecionadas as melhores fases da meiose I, sendo contabilizado o número total de metáfases I e anáfases I/telófases I em cada indivíduo, bem com o posicionamento e a distribuição dos cromossomos sexuais e autossomos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos espécimes de *E. surinamensis* das três localidades foram observadas 94 metáfases I, 53 delas com os cromossomos sexuais X_1 e X_2 corretamente orientados para um pólo da célula e o cromossomo Y para o pólo oposto. Em 41 núcleos, os cromossomos sexuais X_1 e/ou X_2 e/ou Y apresentaram os centrômeros posicionados na placa equatorial, juntamente com os autossomos bivalentes.

Em *E. surinamensis* das três localidades ocorreram 73 anáfases I/telófases I. Em 35 delas, os cromossomos sexuais se orientaram normalmente, com o X_1 e X_2

para um dos pólos da célula e o cromossomo Y para o pólo oposto. Em 38 núcleos houve atraso na migração dos cromossomos X_1 e/ou X_2 e/ou Y, os quais se mantiveram na placa equatorial, enquanto os autossomos mostraram-se mais avançados rumo aos pólos, ou formaram pontes de cromatina entre os núcleos irmãos.

Nos espécimes de *Eneoptera* sp. foram registrados 111 núcleos em metáfase I, 70 deles com os cromossomos sexuais X_1 e X_2 corretamente orientados para um pólo da célula e o cromossomo Y para o pólo oposto. Em 41 núcleos, os cromossomos sexuais X_1 e/ou X_2 e/ou Y apresentaram os centrômeros posicionados na placa equatorial, juntamente com os autossomos bivalentes.

Nos mesmos espécimes de *Eneoptera* sp. foram observadas 26 anáfases I/telófase I. Em 20 delas os cromossomos sexuais se orientaram normalmente, com o X_1 e X_2 para um pólo da célula e o Y para o pólo oposto. Em seis núcleos houve atraso na migração dos cromossomos sexuais, com formação de pontes de cromatina, semelhante ao observado em *E. Surinamensis*.

Em *E. surinamensis* e *Eneoptera* sp., um número relativamente expressivo de núcleos apresentaram os cromossomos sexuais X_1 e/ou X_2 e/ou Y orientados na placa equatorial em função do centrômero durante a metáfase I. Esse comportamento é esperado para os cromossomos univalentes durante a metáfase II, em que os cromossomos se posicionam na placa equatorial em função dos centrômeros, permitindo que as cromátides irmãs migrem para pólos opostos durante a anáfase II.

O posicionamento dos cromossomos sexuais X_1 e/ou X_2 e/ou Y na placa equatorial durante a metáfase I sugere que seguirão para uma possível divisão equacional na anáfase I. Em casos em que há divisão equacional de cromossomos univalentes na anáfase I, os cinetocoros irmãos ficam dispostos numa orientação anfitélica para que ocorra divisão do centrômero e migração das cromátides irmãs para pólos opostos (MESA, 1984).

O processo de divisão equacional de cromossomos univalentes na anáfase I é mais lento quando comparado à separação dos cromossomos bivalentes, provavelmente devido aos processos enzimáticos envolvidos na separação dos centrômeros que unem as cromátides irmãs (SHAMU & MURRAY, 1992). Sugerimos que esse atraso seja o responsável pela formação das pontes de cromatina entre os núcleos telofásicos que ocorrem em *E. surinamensis* e *Eneoptera* sp.

O alinhamento dos cromossomos sexuais na placa equatorial e a migração tardia na Anáfase I, com formação de pontes de cromatina sugerem a formação de gametas inviáveis nessas espécies. Por outro lado, tanto *E. surinamensis* como *Eneoptera* sp. apresentam ampla distribuição geográfica (ZEFA, E. com. pess.), e compartilham a mesma estrutura cromossômica, preservando os mesmos fenômenos durante a meiose I e anáfase I/telófase I. Essas características sugerem o parentesco próximo entre as duas espécies e que esses fenômenos são relativamente conservados.

CONCLUSÕES

Os cromossomos sexuais X_1X_2Y de *E. surinamensis* são assinápticos e em alguns núcleos apresentam comportamento anômalo, incluindo o atraso na transição de metáfase I para anáfase I, segregação incorreta para os pólos e formação de pontes de cromatina entre núcleos anafásicos. Esse é o primeiro relato desse conjunto de anomalias meióticas presentes em duas espécies de Orthoptera proximamente relacionadas. Novos estudos serão necessários para compreender de modo essas anomalias influenciam no sucesso reprodutivo dessas espécies.

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.
- Mesa, A. 1984. The chromosomes of a relict species of eumastacid: *Daguerreacris tandiliae* Descamps & Liebermann, 1970 (Orthoptera, Eumastacoidea, Morseinae). Rev. Brasil. Genet. 7 (2): 219-229.
- 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 *Eneopteras urinamensis*. 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.
- Shamu, C. E.; Murray, A. W. 1992. Sister chromatid separation in frog egg extracts requires DNA topoisomerase II activity during anaphase. The Journal of Cell Biology, v. 117 (5), 921-934.
- White, M.J.D. 1941. The evolution of the sex chromosome. I. The X_0 and X_1X_2Y mechanisms in praying mantids. J. Genet. 42: 143-172.
- White, M.J.D. Animal cytology and evolution. 3.ed. London: Cambridge University Press, 1973. 961p.