

COMPORTAMENTO MEIÓTICO DOS CROMOSSOMOS SEXUAIS EM DUAS POPULAÇÕES DE *ENEOPTERA SURINAMENSIS* (ORTHOPTERA, ENEOPTERIDAE)

SILVA, Anelise Fernandes e¹, MARTINS, Luciano de Pinho³, CORDEIRO, Juliana¹, ROCHA, Marla Piumbini², ZEFA. Edison¹.

¹ Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário Capão do Leão s/n, Capão do Leão.

² Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Av. André Araújo, 2936, Manaus.

1 INTRODUÇÃO

Os grilos *Eneoptera surinamensis* (De Geer, 1773) apresentam ampla distribuição na região Neotropical e são frequentemente encontrados em grande densidade populacional em vegetação arbustiva, principalmente em bordas florestais (Zefa et. al. 2006, Miyoshi et. al. 2007, Eades et. al. 2012).

O primeiro estudo citogenético dessa espécie foi realizado por Piza (1946), com exemplares coletados em Piracicaba, SP. Na ocasião o autor determinou $2n=9$, XY_1Y_2 para os machos e $2n=8$, XX para as fêmeas. Essa constituição cariotípica foi revista por Claus (1956), analisando exemplares de Itatiba, SP e por Mesa e Bran (1964) a partir de exemplares coletados no Peru, Bolívia e Brasil. Esses autores determinaram $2n=9$ nos machos e $2n=10$ nas fêmeas, sendo o mecanismo de determinação do sexo X_1X_2Y nos machos e $X_1X_1X_2X_2$ nas fêmeas.

Claus (1956) caracterizou o comportamento dos cromossomos de *E. surinamensis* nos espermatócitos I e II, mostrando que os cromossomos X_1 e Y são heteropicnóticos positivos no espermatócito I, tornando isopicnóticos na Metáfase I. No espermatócito II esses elementos migram para pólos opostos preservando a heteropicnose positiva, enquanto o X_2 mantém-se isopicnótico em relação aos autossomos. Tanto Claus (1964) como Mesa e Bran (1964) relataram que ocasionalmente ocorre contato entre os cromossomos X_1 e Y durante a meiose.

O objetivo desse trabalho foi caracterizar os cromossomos meióticos de duas populações alopátricas de *E. surinamensis*, uma da Reserva Florestal Adolpho Ducke, Manaus, AM, e a outra do Parque Nacional do Iguaçu, PR, com destaque ao comportamento dos cromossomos sexuais na meiose I.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Locais de coleta e espécimes analisados: município de Foz do Iguaçu, Paraná, Floresta Semi-decidual ($25^{\circ}27'S$; $54^{\circ}34'W$), data da coleta: 21/02/2003, quatro machos adultos, data da coleta: 14/04/2003, seis machos adultos; município de Manaus, AM, Reserva Florestal Adolpho Ducke, Floresta Ombrófila Densa de Terra Firme, data da coleta: 08/11/2010, três machos adultos.

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, os quais foram acondicionados em refrigerador.

As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento: colocou-se o material fixado sobre uma lâmina com uma gota de ácido acético 45%, macerou-se o material espalhando-o pela lâmina; secou-se a lâmina a temperatura ambiente; corou-se com orceína lacto-acéticas 0,5%.

Os cromossomos foram fotografados com câmera fotográfica digital Nikon, S-750, via ocular do microscópio óptico Olympus CX21.

3 RESULTADOS

Os indivíduos machos, de ambas as populações apresentaram $2n=9$, com sistema de determinação sexual X_1X_2Y . Os cromossomos autossomos são metacêntricos, os cromossomos sexuais X_1 e Y são metacêntricos e o cromossomo X_2 acrocêntrico. O cromossomo Y é um pouco maior que o cromossomo X_1 , e o cromossomo X_2 possui o mesmo tamanho do braço curto do cromossomo Y .

No estágio de leptóteno inicial os núcleos apresentam um bloco densamente corado que representa a cromatina sexual; nas fases de leptóteno final, zigóteno e paquíteno os cromossomos sexuais X_1 , X_2 e Y ocorrem individualmente em heteropicnose positiva. A partir do diplóteno final/diacinese, os cromossomos sexuais tornam-se isopicnóticos em relação aos autossomos. Os cromossomos sexuais são uniformemente corados em toda a extensão da cromátide durante todo o ciclo heteropicnótico.

Tanto em diplóteno como em metáfase I, o cromossomo Y pode ou não se manter unido ao cromossomo X_1 por um quiasma terminal, enquanto o cromossomo X_2 permanece univalente.

Observamos a divisão equacional do cromossomo X_1 em três metáfases I, duas anáfases I e em uma telófase.

4 DISCUSSÃO

O mecanismo original de determinação do sexo em Orthoptera é o $X0$ (White, 1973, Hewitt, 1979). Os mecanismos múltiplos de determinação do sexo surgiram por rearranjos envolvendo o cromossomo X com autossomos, dando origem ao mecanismo neo- XY e variantes como X_1X_2Y , X_1X_20 , dentre outros (Saez, 1963). Em *E. surinamensis*, considerando que machos são $2n=9$, X_1X_2Y , e fêmeas são $2n=10$, $X_1X_1X_2X_2$, provavelmente dois passos foram necessários para a origem do sistema X_1X_2Y . 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).

No que se refere à condensação dos cromossomos, em Orthoptera o comportamento dos cromossomos sexuais é diferente dos autossomos (Saez, 1963). Em Tettigonioidea, o X é heteropicnótico positivo e em Acridoidea e Grylloidea ocorre heteropicnose reversa (White, 1953). Após ocorrer rearranjos X /autossomos, verifica-se que os segmentos de origem autossômica passam gradativamente a se comportar como os cromossomos sexuais. Essa mudança de comportamento pode ser observada analisando o grau de heterocromatinização e

heteropicnose ao longo dos segmentos de origem autossômica (Saez, 1963, Mesa et. al 2001). Desta forma, podemos inferir que o grau de heterocromatinização e heteropicnose dos segmentos autossômicos indica o tempo relativo de origem do novo sistema de determinação do sexo, ou seja, quanto maior o grau de heterocromatinização e heteropicnose positiva ao longo dos antigos autossomos, mais antigo será o rearranjo na população.

Nós observamos os três cromossomos sexuais em heteropicnose positiva desde o leptóteno até o diplóteno intermediário, diferente do que foi constatado por Claus (1956). Nessas fases, toda a extensão dos cromossomos sexuais se condensa de forma homogênea, indicando que os rearranjos para a origem do sistema é antigo, e provavelmente ocorreu antes da dispersão da espécie, cuja distribuição abrange os trópicos e subtropicais da região Neotropical.

O mecanismo de determinação do sexo X_1X_2Y implica na migração do cromossomo X_1 e X_2 para um dos pólos da célula e do cromossomo Y para o pólo oposto, durante a Meiose I, para que sejam produzidos gametas balanceados. Teoricamente seria esperada uma associação entre os cromossomos X_1 , X_2 e Y, por meio de quiasmas para orientar os cromossomos na placa equatorial da célula, garantindo estabilidade no processo de distribuição dos cromossomos sexuais. Contudo verifica-se por meio de citogenética convencional, que não há ligação aparente entre esses cromossomos, ou, algumas vezes, o X_1 é fracamente ligado ao Y.

A estabilidade do sistema é garantida pela organização dos cinetócoros, de modo a garantir que os cromossomos X_1 e X_2 migrem para um pólo da célula e o Y para o pólo oposto (Wolf, 1994). Esse tipo de organização permite a formação de gametas balanceados, e é suficientemente eficiente ao ponto de estar difundido entre todas as populações de *E. surinamensis* estudadas, largamente distribuídas geograficamente, sem aparente fluxo gênico entre elas. Por outro lado, a divisão equacional do cromossomo X_1 que encontramos em nossas análises indica que pode haver falhas no sistema. Quando esse fenômeno ocorre há a produção de uma parte dos gametas desbalanceados. Esses gametas poderão ser inviáveis ou fecundar óvulos X_1X_2 que produzirão zigotos ou indivíduos inviáveis. Em Mantodea, onde o mecanismo X_1X_2Y é relativamente bem difundido, são frequentes as falhas de pareamento e a malformação de trivalentes conduzindo a não disjunção dos cromossomos (White, 1941).

A divisão equacional do cromossomo X na meiose I foi reportada em algumas espécies de Orthoptera com mecanismo X_0 de determinação do sexo (Mesa, 1984). Nessas espécies os gametas originados no processo serão 100% viáveis, uma vez que 50% apresentarão o cromossomo X e os outros 50% não o possuirão.

Embora *E. surinamensis* apresente ampla distribuição geográfica, o processo meiótico e o mecanismo de determinação do sexo são bastante conservados, especialmente no que se refere às particularidades do processo meiótico, como a união ocasional dos cromossomos X_1 e Y na Meiose I, bem como a relação de picnose entre autossomos e cromossomos sexuais. A divisão equacional do cromossomo X está sendo reportada pela primeira vez nessa espécie e provavelmente é o primeiro relato desse fenômeno em Grylloidea, com mecanismo múltiplo de determinação do sexo.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Claus, G. 1956. La formule chromosomique du Gryllodea *Eneoptera surinamensis* De Geer et Le comportement des chromosomes sexuels de cette espèce au cours de la spermatogenèse. Ann. Sc. Nat. Paris Zool., série 11, 18: 63-106.
- Eades, D.C., Otte, D., Cigliano, M.M. & Braun, H. (2012) Orthoptera Species File Online. Version 2.0/4.0. [Cited 03/07/2012] Available from: <http://Orthoptera.SpeciesFile.org>
- Hewitt, G.M. 1979. Animal cytogenetics: Orthoptera (Grasshoppers and crickets). Stuttgart: Gerbruder Borntraeger, 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, 1964.
- Mesa, A. 1984. The chromosomes of a relict species of Eumastacid: *Daguerreacris tandilliae* Descamps & Liebermann, 1970 (Orthoptera, Eumastacoidea, Moresinae). Rev. Brasil. Genet. 7(2): 219-229.
- Mesa, A; Fontanetti, C. S. Garcia-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, Akio R. et al. 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, S de T. Jr. 1946. Uma nova modalidade de sexo determinação no grilo Sul-Americano *Eneoptera surinamensis*. An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queiroz" Piracicaba, Brasil. 3:69-88.
- Saez, F.A. 1963. Gradient of the heterochromatinization in the evolution of the sexual system Neo-X-NeoY. Portugalia Acta Biologica, Série A, 7(1-2):111-138.
- White M.J.D. 1953. Multiple sex chromosome mechanism in the grasshopper genus *Paratylotropidia*. American Naturalist 87: 237-244.
- White, M. J. D. 1941. The evolution of the sex chromosomes. II. The X-chromosome in the Tettigonidae and Acrididae and the principle of "evolutionary isolation" of the X. J. Genet. , Tokyo 42:173-190
- White, M.J.D. Animal cytology and evolution. 3.ed. London: Cambridge University Press, 1973. 961p.
- Wolf, K. W. 1994. How meiotic cells deal with non-exchange chromosomes. Bioessays. 16: 107-114.
- Zefa, E.; Rúbio, F. M.; Rinaldi, A. R.; Gollin, L. H.; Silva, D. B. F.; Dias, P. G. B. S. 2006. Seasonal life cycle of the tropical cricket *Eneoptera surinamensis* (Orthoptera, Gryllidae, Eneopterinae). Iheringia, Sér. Zool., 96(2):267-269.