

CITOTAXONÔMIA DE GRILOS *Oecanthus* SERVILLE, 1831, COM REVISÃO DOS CROMOSSOMOS DAS ESPÉCIES DE OECANTHINAE (ORTHOPTERA, GRYLLOIDEA, GRYLLIDAE)

Anelise Fernandes¹, Maria Kátia Matiotti da Costa², Edison Zefa³.

¹Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas – anelise_fs@hotmail.com

²Departamento de Biodiversidade e Ecologia, Faculdade de Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul - katiamatotti@yahoo.com.br.

³Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas – edzefa@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A subfamília Oecanthinae é composta por 169 espécies com distribuição mundial, e dentro desta encontra-se o gênero *Oecanthus* (Serville, 1831) como o mais representativo, somando 69 espécies válidas, seis delas encontradas no território brasileiro (Eades *et al.* 2016). Apenas cinco espécies tiveram seus cromossomos estudados, focando em curtas descrições do número cromossômico e sistema de determinação do sexo (Ohmachi, 1927, 1935; Johnson, 1931; Makino, 1932; Kitada, 1949; Hewitt, 1979).

Dentre os espécimes estudados citologicamente estão *O. indicus* (Saussure, 1878), *O. nigricornis* Walker, 1869 e *O. quadripunctatus* Beutenmüller, 1894 que apresentam $2n=19$, X0 (Johnson, 1931; Ohmachi, 1935; Kitada, 1949), e *O. longicauda* Matsumura, 1904 e *O. pellucens* (Scopoli, 1763), com $2n=20$, XY (Ohmachi, 1927, 1935; Makino, 1932, Hewitt, 1979). Todos estes compartilham a mesma assimetria cariotípica com um grupo de autossomos grandes e o sexual X, e outro com autossomos pequenos e o cromossomo Y (Johnson, 1931; Makino, 1932; Ohmachi, 1927, 1935; Kitada, 1949).

Neste trabalho foram caracterizados os cariotípos de quatro espécies de *Oecanthus* que ocorrem no território brasileiro, com destaque ao número e morfologia cromossômica, bem como o mecanismo de determinação do sexo.

2. METODOLOGIA

Os espécimes de *Oecanthus* sp. foram coletados em arbustos e gramíneas com redes de varredura, às margens da rodovia BR101, que limita a área de conservação “Reserva Natural Vale”, no município de Linhares, ES, Brasil ($19^{\circ}05'817''S$, $040^{\circ}03'116''W$) em 28 de julho de 2012.

Os indivíduos de *Oecanthus pictus* Milach & Zefa, 2015, *Oecanthus pallidus* Zefa, 2012 e *Oecanthus lineolatus* Saussure, 1897 foram coletados em plantações de

tabaco e arbustos no distrito de São João da Reserva, município de São Lourenço do Sul, RS, Brasil ($31^{\circ}17'39.43''S$, $52^{\circ}09'02.76''W$).

Os cromossomos foram obtidos a partir dos testículos, ovários e intestino dos espécimes previamente injetados com solução 0,05% de colchicina por 5h, e posteriormente hipotonizados em solução de KCl (0,075 M) por 5-10 min, e fixados em Carnoy I (3 etanol: 1 ácido acético). Após pelo menos uma hora no fixador, os tecidos foram macerados em Ácido Acético 45% e os cromossomos corados com Orceína Lacto-Acética 0,5%.

As principais fases da meiose foram selecionadas e fotografadas com câmera fotográfica digital Nikon, S3200, via ocular do microscópio óptico Olympus CX21. O índice centromérico (ic) dos cromossomos foi obtido de acordo com Levan *et al* (1964).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A espécie *O. lineolatus*, apresentou o número diploide $2n=18+XY\delta=20$ e $2n=18+XX\varphi=20$, com dois pares de cromossomos autossomos metacêntricos grandes (ic=40,9; ic=42,10), um dos pares com constrição secundária, e sete pares de cromossomos puntiformes. Os cromossomos sexuais consistem em um X submetacêntrico grande (ic=31,25) e o Y puntiforme.

Os indivíduos de *Oecanthus* sp. apresentaram número cromossômico diploide de $2n=16+XY\delta=18$ e $2n=16+XX\varphi=18$, com dois pares de autossomos meta e submetacêntricos grandes, ic=48 e ic=36,84, respectivamente, e seis pares de autossomos puntiformes. O sistema sexual XY é composto por um cromossomos X submetacêntrico grande (ic=25,92) e o Y puntiforme. Foi observado a presença de um cromossomo B em algumas divisões, e um segmento isopcnótico entre os cromossomos sexuais X e Y, que são heteropicnóticos positivos, a partir de Diplóteno I.

Oecanthus pallidus apresentou $2n=16+XY\delta=18$ e $2n=16+XX\varphi=18$, com dois pares de metacêntricos grandes (ic=47,8; ic=47,36) e seis pares de autossomos puntiformes, sendo o cromossomo X metacêntrico grande (ic=41,17) e o Y subtelocêntrico pequeno (ic=20). Em diplóteno I, os cromossomos sexuais XY se comportam como bivalentes heteromórficos, porém heteropicnóticos positivos, com um segmento isopcnótico entre eles.

O. pictus, o número cromossômico é $2n=20+X0\delta=21$ e $2n=20+XX\varphi=22$, com três pares de cromossomos autossomos grandes, um metacêntrico (ic=45), um subtelocêntrico (ic=16,66) e um acrocêntrico (ic=7,69), e sete pares puntiformes. O cromossomo X é um metacêntrico grande (ic=45,45).

Considerando as cinco espécies de *Oecanthus* estudadas citogeneticamente, três são do continente asiático e duas da América do Norte. As espécies asiáticas *O. longicauda*, *O. indicus* e *O. pellucens* apresentam três pares de autossomos, todos grandes e acrocêntricos, e seis pares autossomos puntiformes (Ohmachi, 1927, 1935; Makino, 1932; Kitada, 1949; Hewitt, 1979). Enquanto isso, as espécies norte

americanas *O. quadripunctatus* e *O. nigricornis*, possuem dois pares de autossomos grandes, meta ou submetacêntricos, e sete pares pequenos de acrocêntricos (Johnson, 1931; Ohmachi, 1935; Kitada, 1949).

A espécie de *O. pictus* apresentou cariótipo semelhante ao das espécies asiáticas, com um par de autossomos pequenos a mais. Além disso, mostrou diferença quanto ao posicionamento centromérico de dois cromossomos autossônicos grandes (metacêntrico e telocêntrico), bem como no cromossomo X.

Por outro lado, *O. lineolatus*, *Oecanthus* sp. e *O. pallidus* apresentam complemento cromossômico semelhante às espécies Norte Americanas, porém, as duas últimas, com um par de cromossomos autossomos a menos. Essa redução no número cromossômico pode ter sido o resultado de uma translocação robertsoniana envolvendo um par de autossomos pequenos e o cromossomo X (White & Morley, 1955; White, 1978).

Em Orthoptera o mecanismo sexual mais comum e menos derivado é o $XO\text{♂}$ - $XX\text{♀}$, e geralmente o cromossomo X apresenta heteropicnose em relação aos autossomos (White, 1973, Hewitt, 1979). Rearranjos entre o cromossomo X e autossomos podem originar mecanismo de determinação do sexo como o Neo-XY.

Em Acrididae, os rearranjos X/autossomos são acompanhados por um processo gradual de heterocromatinização do cromossomo neo-Y, diminuição e ausência de crossing over entre os antigos segmentos autossônicos, seguida pela heterocromatinização gradativa do braço de origem autossônica do neo-X. Ao final do processo, os cromossomos neo-X e o neo-Y apresentam-se completamente heteropicnóticos em relação aos autossomos (Saez, 1963).

A diferença de picnose possibilita a distinção precisa dos cromossomos sexuais em relação aos autossomos durante o processo meiótico, e ainda permite detectar a quantidade relativa de heterocromatina nos segmentos de origem autossônica dos cromossomos sexuais neo-XY (Saez, 1963). Quanto maior o grau de heterocromatinização dos segmentos autossônicos desses cromossomos, mais antiga é a origem do rearranjo na população (White, 1941; 1951; Saez, 1963; Mesa et. al. 2001).

Se for considerado que o processo de heterocromatinização que ocorre em Acridoidea acontece em *Oecanthus* (Grylloidea), pode-se sugerir que em *O. pallidus* e *Oecanthus* sp. o mecanismo Neo-XY é relativamente recente pela presença do seguimento heteropicnótico negativo entre os cromossomos X e Y em diplóteno I (White, 1941; 1951; Saez, 1963; Mesa et. al. 2001).

Os cromossomos do gênero *Oecanthus* demonstram-se bem conservados, com poucas variações entre si quanto ao número diplóide e morfologia. Os bivalentes puntiformes são de difícil determinação morfológica, decorrente de seu tamanho reduzido. Portanto, estudos moleculares serão necessários para esclarecer a origem do sistema Neo-XY, e a importância da heterocromatinização nesse processo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Eades, D.C.; Otte, D.; Cigliano, M.; Braun, H. **Orthoptera species file.** Version 5.0/5.0. 2016.
- Hewitt, G.M. Orthoptera: Grasshoppers and crickets. In: Jolui, B. (Ed.), **Animal Cytogenetics 3. Insecta I.** Gebrüder-Borntraeger, Berlin-Stuttgart, 170p. 1979.
- Johnson, H.H. Centrioles and other Cytoplasmic components of the male germ cells of the Gryllidae. Akad. Verlag Ges. 1931.
- Kitada, S. Preliminary notes on the chromosomes of *Oecanthus indicus*. **Kromosomo** 5-6: 227-228. 1949.
- Levan, A.; Fredga, K.; e Sandberg, A.A. Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. **Hereditas**, 52(2), 201-220. 1964.
- Makino, S. An Unequal Pair of Idiochromosomes in the tree-cricket, *Oecanthus longicauda* Mats. **Journal of Faculty of Science**, Hokkaijo Imperial Univ., Ser. VI. Vol. 2, Nº1. 1932.
- Mesa, A.; Fontanetti, C.S.; García-Novo, P. Does an x-autosome centric fusion in Acridoidea condemn the species to extinction? **Journal of Orthoptera Research**. 10 (2):141-146. 2001.
- Ohmachi, F. A. Preliminary note on cytological studies on Grylloidea (Chromosome-numbers and sex-chromosomes of eighteen species). **Proceedings of the Imperial Academy**, 3(7), 451–56. 1927.
- Ohmachi, F. A. Comparative Study of Chromossome Complements in the Grylloidea in Relation to Taxonomy. **Bulletin of Mie Imperial College of Agriculture and Forestry**, 5, 1-48. 1935.
- Saez, F. A. Gradient of heterochromatinization in the evolution of the sexual system “neo-X neo-Y”. **Portugaliae Acta Biologica**. Ser A, 7, 111-138. 1963.
- White, M. J. D. The evolution of the sex chromosomes. **Journal of Genetics**, 42(1-2), 173-190. 1941.
- White, M.J.D. Cytogenetics of orthopteroid insects. **Advances in Genetics**, 4, 268–330. 1951.
- White, M. J. D. Chain processes in chromosomal speciation. **Systematic Biology**, 27(3), 285-298. 1978.
- White, M.J.D., & Morley, F. H. W. Effects of pericentric rearrangements on recombination in grasshopper chromosomes. **Genetics**, 40 (5), 604. 1955.