

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Instituto de Biologia

Curso de Ciências Biológicas



Trabalho de Conclusão de Curso

**Citogenética de quatro espécies de grilos *Oecanthus* SERVILLE, 1831
(Orthoptera, Gryllidae), com revisão dos cariótipos das espécies de
*Oecanthinae***

Anelise Fernandes e Silva

Pelotas, 2017

Anelise Fernandes e Silva

**Citogenética de quatro espécies de grilos *Oecanthus* SERVILLE, 1831
(Orthoptera, Gryllidae), com revisão dos cariótipos das espécies de
*Oecanthinae***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal
de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título
de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Edison Zefa

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na
Publicação

F364c Fernandes, Anelise

Citogenética de quatro espécies de grilos *Oecanthus* SERVILLE, 1831 (Orthoptera, Gryllidae), com revisão dos cariótipos das espécies de Oecanthinae/Anelise Fernandes; Edison Zefa, orientador. — Pelotas, 2018.

33 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) — Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 2018.

1. Citotaxonomia. 2. Cromossomos. 3. Inseto. 4. Mecanismo sexual. 5. Meiose. I. Zefa, Edison, orient. II. Título.

CDD : 595.72

Anelise Fernandes e Silva

Citogenética de quatro espécies de grilos *Oecanthus* SERVILLE, 1831 (Orthoptera, Gryllidae), com revisão dos cariótipos das espécies de Oecanthinae

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 6 de dezembro de 2017

Banca examinadora:

.....

Prof. Dr. Ediso Zefa (Orientador)

Doutor em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho

.....

Prof. Dr^a. Juliana Cordeiro

Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

.....

Prof. Dr^a. Monica Laner Blauth

Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Agradecimentos

Primeiramente, agradeço ao apoio, amor e companheirismo da minha mãe Alayde, e irmã Caroline, que durante os anos da minha graduação me ajudaram a enfrentar diversas dificuldades, além de sempre me incentivarem. Ao meu pai Francisco, que apesar da distância, sempre me apoiou e incentivou para que eu desse o meu melhor.

Agradeço aos meus tios e tias José Maurício, Gessi, Doralino e Claudia, que sempre tiveram grande amor e carinho por mim, e se fizeram presentes durante a minha vida acadêmica. Também aos meus primos; Jonas, Marina, Pâmela e Fernanda, por me apoiarem e trazerem alegrias para a minha vida, e saber que sempre poderei contar com eles.

Ao meu querido orientador Edison Zefa, agradeço por toda a paciência e tudo que me ensinou, tanto em relação a vida acadêmica quanto a vida pessoal. Sempre mantendo contato e desejando o melhor para mim, mesmo quando as distâncias se tornaram grandes.

Agradeço aos meus colegas e amigos de laboratório Marcelo, Robson, Elliott, Pedro, Renan, Thamiris, Vitor, Christian, Riuler e Ítalo, que permitiram que cada dia em meio a pesquisa fosse único.

Agradeço a parceria das minhas amigas Liana, Sandra e Bruna que sempre estiveram por perto e presentes na minha vida. Me ajudando e celebrando os melhores momentos de faculdade e crescimento pessoal. Que a nossa amizade resista as distâncias e aos rumos diferentes que nossas vidas estão tomando.

Aos amigos, Heloiza, Suellen, Letícia, Felipe, Daniele e Filipe, que fiz durante o meu intercâmbio, agradeço por terem sido mais que amigos, mas sim, minha família por um período tão importante. E apesar da distância, que nossa amizade continue forte.

Agradeço a todos os amigos e professores, que acima não foram citados, mas que de alguma forma contribuíram e fizeram diferença na minha graduação, serão recordados com muito carinho.

Resumo

FERNANDES, Anelise. **Citogenética de quatro espécies de grilos *Oecanthus* SERVILLE, 1831 (Orthoptera, Gryllidae), com revisão dos cariótipos das espécies de Oecanthinae.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Ciências Biológicas – Bacharelado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A subfamília Oecanthinae apresenta 169 espécies, sendo 69 do gênero *Oecanthus*. Destas, seis tiveram os cromossomos estudados: *O. indicus*, *O. nigricornis* e *O. quadripunctatus* com $2n=19$, $X0♂$, *O. longicauda* e *O. pellucens* com $2n=20$, $XY♂$, e *O. valensis* com $2n=18$, $XY♂$. Todos compartilham a mesma assimetria cariotípica com um grupo de cromossomos grandes e outro de pequenos. Objetiva-se caracterizar os cariótipos de quatro espécies de *Oecanthus* que ocorrem no Brasil, com destaque à descrição cariotípica e sistema sexual. Indivíduos de *O. valensis* foram coletados em arbustos na BR-101 que limita a Reserva Natural Vale, Linhares, ES, e os indivíduos de *O. pictus*, *O. pallidus* e *O. lineolatus* em plantações de tabaco, São Lourenço do Sul, RS. Os cromossomos foram obtidos de testículos e intestino médio dos espécimes previamente injetados com colchicina 0,05%. O material foi hipotonizado em solução de KCl 0,075M por 5-10 min, e fixados em Carnoy I. Os tecidos foram macerados em ácido acético 45% e corados com orceína lacto-acética 0,5%. *Oecanthus lineolatus*, apresentou $2n=20$, $XY♂$, com dois pares de cromossomos autossomos metacêntricos grandes, e sete pares de cromossomos puntiformes. *Oecanthus valensis* apresentou $2n=18$, $XY♂$, com dois pares de autossomos meta e submetacêntricos grandes, e seis pares de autossomos puntiformes. *Oecanthus pallidus* apresentou $2n=18$, $XY♂$, com dois pares de metacêntricos grandes e seis pares de autossomos puntiformes. *Oecanthus pictus* apresentou $2n=21$, $X0♂$, com três pares de cromossomos autossomos grandes, um metacêntrico, um subtlocêntrico e um acrocêntrico, e sete pares puntiformes. Comparando com as espécies estudadas, *O. pictus* possui cariótipo semelhante ao das espécies asiáticas, e *O. lineolatus*, *O. valensis* e *O. pallidus* ao das espécies norte americanas. Em Orthoptera o mecanismo sexual menos derivado é o $X0♂-XX♀$, e rearranjos X/autossomo podem originar mecanismos como o neo-XY. A heteropicnose permite detectar a quantidade relativa de heterocromatina nos segmentos de origem autossômica (XR e Y) dos cromossomos sexuais do sistema sexual neo-XY. Sugere-se que em *O. pallidus* e *O. valensis* o mecanismo neo-XY é relativamente recente, pois o cromossomo Y encontra-se quase completamente em heteropicnose positiva semelhante ao segmento XL, enquanto o XR se mantém em heteropicnose negativa. Em contrapartida, sugere-se que o mecanismo sexual de *O. lineolatus* seja mais antigo, pois apresenta os segmentos XR+Y com o mesmo grau de picnose do segmento XL. Em *O. pictus* o cromossomo X apresenta heteropicnose positiva no começo da prófase I e picnose similar a dos cromossomos autossomos no final da prófase I.

Palavras chaves: citotaxonômia, cromossomos, inseto; mecanismo sexual, meiose.

Abstract

FERNANDES, Anelise. **Cytogenetics of four species of *Oecanthus* SERVILLE, 1831 (Orthoptera, Gryllidae) crickets, with revision of karyotypes of *Oecanthinae* species.** 2017. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Ciências Biológicas – Bacharelado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

The subfamily Oecanthinae presents 169 species, 69 of de genus *Oecanthus*, which six had their chromosomes studied: *O. indicus*, *O. nigricornis* and *O. quadripunctatus* with $2n=19$, $X0♂$, *O. longicauda*, and *O. pellucens* with $2n=20$, $XY♂$, and *O. valensis* with $2n=18$, $XY♂$. All of them share the same karyotypic asymmetry with one group of large chromosomes and another with small ones. The objective of this study was to characterize the karyotypes of four species of *Oecanthus* that occur in Brazil, with emphasis on the karyotype and sexual system description. Individuals of *O. valensis* were collected in shrubs at BR-101 that limits the Reserva Natural do Vale, Linhares, ES; and the individuals of *O. pictus*, *O. pallidus* and *O. lineolatus* in tobacco plantations, São Lourenço do Sul, RS. Chromosomes were obtained from testes and medium intestine of individuals previously injected with 0.05% colchicine. The material was hypotonized in 0.075M KCl solution for 5-10min, and fixed in Carnoy I. The tissues were macerated in 45% acetic acid and stained with 0.5% lacto-acetic orcein. *Oecanthus lineolatus*, shows $2n=20$, $XY♂$, with two pairs of large metacentric autosomal chromosomes, and seven pairs of dot-like chromosomes. *Oecanthus valensis* presentes $2n=18$, $XY♂$, with two pairs of large meta and submetacentric autosomal chromosomes and six pairs of dot-like autosomes. *Oecanthus pallidus* shows $2n=18$, $XY♂$, with two pairs of large metacentric and six pairs of dot-like autosomes. *Oecanthus pictus* shows $2n=21$, $X0♂$, with three pairs of large autosomes, one metacentric, one subtelocentric, and one acrocentric, and seven dot-like pairs. Comparing with the species studied, *O. pictus* has karyotype similar with the Asian species, and *O. lineolatus*, *O. valensis*, and *O. pallidus* with the North American. In Orthoptera the least derivate sex mechanism is $X0♂-XX♀$, and rearrangements X/autosomes may originate mechanisms such neo-XY. Heteropycnosis allows the detection of the relative amount of heterochromatin in the segments of autosomal origin (XR e Y) of the neo-XY sex chromosomes. It is suggested that in *O. pallidus* and *O. valensis* the neo-XY mechanism is relatively recent, since the Y chromosome is almost completely in positive heteropycnosis, on the contrary, of XR that remains with negative heteropycnosis. In contrast, it is suggested that the sexual mechanism of *O. lineolatus* is older, since it presents the segments XR + Y with the same degree of picnosis of segment XL. In *O. pictus* the X chromosome presents positive heteropycnosis in the beginning of prophase I and similar picnosis to the autosomal chromosomes at the end of prophase I.

Key words: cytotaxonomy, chromosomes, insect, sexual mechanism, meiosis.

Lista de Figuras

Figura 1	Processo de formação do mecanismo sexual neo-X-neo-Y, a partir do rearranjo entre o cromossomo X acrocêntrico e um par de cromossomos autossômicos. Originando o cromossomo X metacêntrico e o Y acrocêntrico, sendo o cromossomo diminuto perdido nas divisões seguintes.....	16
Figura 2	Cariótipos dos machos de espécies de <i>Oecanthus</i> . <i>O. lineolatus</i> , com $2n=20$, XY; <i>O. valensis</i> , $2n=18$, apresentou um cromossomo B; <i>O. pallidus</i> , $2n=18$, XY; e <i>O. pictus</i> , $2n=21$, X0.....	20
Figura 3	Divisões meióticas em folículos testiculares de <i>Oecanthus lineolatus</i> . A – Paquíteno com o cromossomo X em heteropicnose positiva; B – Diplóteno; C - Metáfase I; D - Anáfase I com o cromossomo X em um dos polos e o Y supostamente indicado.....	21
Figura 4	Diplóteno em macho de <i>Oecanthus lineolatus</i> com destaque aos cromossomos XL e Y, mostrando a ausência do segmento heteropicnótico negativo entre eles (seta). Um dos pares de autossomos grandes apresenta constrições elásticas na região terminal de seus braços (f).....	21
Figura 5	Divisões meióticas em folículos testiculares de <i>Oecanthus valensis</i> . A – Zigóteno, com o segmento XL heteropicnótico positivo; B - Diplóteno; e C - Metáfase I.....	22
Figura 6	Divisões meióticas em folículos testiculares de <i>Oecanthus valensis</i> . A - Diplóteno com os cromossomos X e Y pareados,	

	sendo o segmento XL e Y heteropicnótico positivo, e o segmento XR heteropicnótico negativo; B - Metáfase I com o bivalente X-Y na placa equatorial.....	22
Figura 7	Ponte de cromatina (seta) observada em um dos indivíduos de <i>Oecanthus valensis</i> em Anáfase/Telófase II.....	23
Figura 8	Divisões meióticas em folículos testiculares de <i>Oecanthus pallidus</i> . A – Paquíteno/Diplóteno com destaque aos segmentos XL e XR do cromossomo X e cromossomo Y; B - Diplóteno; e C - Metáfase I.....	23
Figura 9	Segmento isopcnótico (i) entre os cromossomos sexuais XL e Y nas fases de Diplóteno durante Meiose I observado nos indivíduos de <i>Oecanthus pallidus</i>	24
Figura 10	Divisões meióticas em folículos testiculares de <i>Oecanthus pictus</i> . A – Diplóteno; B – Metáfase I; C - Anáfase I.....	24

Lista de Tabelas

Tabela 1	Informações das espécies de <i>Oecanthus</i> revisadas e estudadas neste trabalho de acordo com a data de publicação da descrição cariotípica, indicando os locais onde foram encontradas, o nome científico das espécies, o número diploide (2n), o sistema de determinação sexual, a morfologia dos cromossomos autossômicos e sexuais, e os autores que descreveram o cariótipo de cada espécie.....	28
Tabela 2	Número de indivíduos coletados e utilizados no preparo de lâminas de acordo com o sexo em cada espécie de <i>Oecanthus</i> analisadas neste trabalho.....	18

Sumário

1. Introdução.....	11
1.1 Objetivos Gerais	12
1.2 Objetivos Específicos.....	12
2. Revisão de Literatura.....	13
3. Materiais e Métodos.....	18
4. Resultados.....	19
5. Discussão.....	25
6. Considerações finais.....	29
Referências.....	30

1 Introdução

A ordem Orthoptera apresenta cerca de 27.900 espécies, sendo que 170 compõem a subfamília Oecanthinae e, dentro desta, encontra-se o gênero *Oecanthus* (Serville, 1831). Este apresenta distribuição mundial, com 70 espécies válidas, sendo seis registradas no território brasileiro (CIGLIANO et al., 2017). Até o momento, apenas seis espécies tiveram seus cromossomos estudados, focando em curtas descrições do número cromossômico e sistema de determinação do sexo (OHMACHI, 1927b, 1935; JOHNSON, 1931; MAKINO, 1932; KITADA, 1949; HEWITT, 1979; MILACH et al., 2016).

Dentre as espécies estudadas citologicamente, *O. indicus* (Saussure, 1878), *O. nigricornis* Walker, 1869 e *O. quadripunctatus* Beutenmüller, 1894 apresentam $2n=19$, X0 (JOHNSON, 1931; OHMACHI, 1935; KITADA, 1949), *O. longicauda* Matsumura, 1904 e *O. pellucens* (Scopoli, 1763), $2n=20$, XY (OHMACHI, 1927b, 1935; MAKINO, 1932, HEWITT, 1979), e *O. valensis* Milach & Zefa, 2016 $2n=18$, XY (MILACH et al., 2016). Essas espécies compartilham a mesma assimetria cariotípica, incluindo autossomos grandes, junto com o cromossomo sexual X, e autossomos pequenos, onde o cromossomo Y se encontra (JOHNSON, 1931; MAKINO, 1932; OHMACHI, 1927, 1935; KITADA, 1949; MILACH et al., 2016).

Em Orthoptera o mecanismo sexual mais comum e menos derivado é o X0♂-XX♀ e, geralmente, o cromossomo X apresenta heteropicnose positiva em relação aos autossomos (WHITE, 1978, HEWITT, 1979). A diferença de picnose permite a identificação dos cromossomos sexuais em relação aos autossomos durante o processo meiótico, principalmente nas fases iniciais da Prófase I (SAEZ, 1963).

Rearranjos entre o cromossomo X e cromossomos autossomos podem originar diferentes mecanismos de determinação do sexo (WHITE, 1954, 1957; SAEZ, 1963). Como o mecanismo neo-XY formado pela fusão entre o cromossomo sexual X e um cromossomo de um par autossômico, encontrado em *O. longicauda* (OHMACHI, 1927b; SAEZ, 1963; KAISER e BACHTROG, 2010; CASTILLO, 2010). O mecanismo X₁X₂Y, observado em *Eneoptera surinamensis*, que se originou a partir de dois rearranjos subsequentes entre o cromossomo X e autossomos (MESA e BRAN, 1964; FERREIRA e CELLA, 2006). E também, o mecanismo X₁X₂0 encontrado em

Cycloptiloides americanus e *Endecous ubajarensis*, que surgiu da dissociação do cromossomo X original como primeiro passo, e a ocorrência de inversão pericêntrica ou adição de cromatina como segundo (MESA et al., 2002; PALACIOS-GIMENEZ e CABRAL-DE-MELLO, 2014; ZEFA et al., 2014).

Este trabalho permitirá incrementar o conhecimento sobre os cromossomos de espécies de *Oecanthus*, abordando questões relevantes sobre o processo de heteropicnotização de segmentos X/autossômicos no processo de origem do mecanismo de determinação do sexo do tipo XX-XY a partir do modelo ancestral XX-X0.

1.1 Objetivos Gerais

Caracterizar o cariótipo de *O. lineolatus*, *O. valensis*, *O. pallidus* e *O. pictus* que ocorrem no território brasileiro, com destaque ao número e morfologia cromossômica, bem como o mecanismo de determinação do sexo.

1.2 Objetivos Específicos

- Determinar o número cromossômico diploide das quatro espécies de *Oecanthus*;
- Elaborar cariótipos e caracterizar a morfologia dos cromossomos, com base no índice centromérico;
- Descrever fases da meiose nestas espécies, com destaque à Prófase I;
- Caracterizar a morfologia e descrever o comportamento dos segmentos heterocromáticos dos cromossomos sexuais durante a Prófase I e determinar o tempo relativo de origem do sistema de determinação do sexo nessas espécies.

2 Revisão de Literatura

A ordem Orthoptera é constituída pelos gafanhotos, grilos e esperanças, e pode ser destacada pela grande contribuição para genética, principalmente após a redescoberta dos trabalhos realizados por Mendel no começo do século XX (HEWITT, 1979; CIGLIANO et al., 2017). Por possuírem cromossomos grandes e com número diploide reduzido, muitos estudos citogenéticos foram voltados para este grupo (HEWITT, 1979). Além disso, apresentam três possíveis variações quanto aos tipos de mecanismos sexuais (X0-XX, XY-XX e múltiplos cromossomos sexuais), o que torna os Orthoptera importantes para o desenvolvimento de novas descobertas sobre comportamento cromossômico (MAKINO, 1932).

Os cromossomos das espécies pertencentes à família Gryllidae apresentam condições em que o número diploide varia gradualmente, e o formato dos cromossomos sexuais são geralmente constantes, com exceção da subfamília Oecanthinae (OMACHI, 1927a). A variação no número cromossômico neste grupo pode ser associada a rearranjos e translocações, existindo relação entre o tamanho dos cromossomos e o número diploide. Em espécies com cariótipos com número menor de cromossomos, estes serão metacêntricos, e os que apresentam maior número cromossômico tendem a possuir cromossomos acrocêntricos. Sendo assim, a redução numérica adquirida por meio de fusões cromossômicas ocorre de acordo com o curso evolutivo dessas espécies (OMACHI, 1927b; WHITE, 1951).

Considerando as 69 espécies de *Oecanthus* descritas até o momento (CIGLIANO et al., 2017), apenas seis foram estudadas citogeneticamente, dentre elas estão: *O. valensis*, *O. pellucens*, *O. nigricornis*, *O. quadripunctatus*, *O. indicus* e *O. longicauda*.

Oecanthus valensis Milach e Zefa, 2016 foi recentemente descrito e sua distribuição, até o momento, se restringe a região sudoeste do Brasil (CIGLIANO et al., 2017). O número diploide de *O. valensis* é $2n=18$ com mecanismo sexual XY♂-XX♀, com cariótipo composto por dois pares de cromossomos autossomos metacêntricos/submetacêntricos grandes e seis pares de cromossomos pequenos e puntiformes (Tabela 1); os cromossomos sexuais X e Y se pareiam na meiose, formando um par heteromórfico, sendo os cromossomos X semelhante aos

autossomos metacêntricos e Y pequeno e puntiforme. Além disso pode ser observado a presença ou não de um pequeno cromossomo B (supernumerário) puntiforme (MILACH et al., 2016).

Oecanthus pellucens Scopoli, 1763 é uma espécie amplamente distribuída no continente Asiático, Europeu e norte da África, apresentando cariótipo com $2n=20$ e mecanismo sexual do tipo $XY♂-XX♀$ (MONTALENTI et al., 1965; HEWITT, 1979; CIGLIANO et al., 2017). O cromossomo Y é muito pequeno e o X um acrocêntrico grande, três pares de autossomos acrocêntricos grandes e seis pares puntiformes (Tabela 1). Foram observados, em algumas divisões, a presença de um pequeno cromossomo B que é similar em tamanho ao cromossomo Y (HEWITT, 1979).

Cromossomos supernumerários são cromossomos sem homólogos no cariótipo e que aparecem adicionalmente nos núcleos celulares, sendo encontrados em alguns indivíduos de uma determinada população (HEWITT, 1979). A frequência de ocorrência desses cromossomos possui variação geográfica, ou seja, os supernumerários podem ser comuns em uma população e raros ou ausentes em outra (WHITE, 1951). Esses cromossomos podem ter se originado de rearranjos ou quebras dos cromossomos autossomos ou sexuais, sendo compostos de várias sequências repetitivas e transposons, e mostrando-se heterocromáticos no ciclo meiótico (CAMACHO et al., 2000). Os cromossomos B podem causar diferentes efeitos nas divisões celulares. A exemplo do estudo realizado por Remis (1987), os cromossomos B influenciam na formação e frequência de quiasmas em espécies de gafanhotos da família Acrididae.

Oecanthus nigricornis Walker, 1869 ocorre nos Estados Unidos e Canadá (CIGLIANO et al., 2017), com número cromossômico de $2n=19$ e mecanismo sexual $X0♂-XX♀$. O cariótipo é formado por dois pares de cromossomos autossomos metacêntricos grandes, e o cromossomo X metacêntrico grande, e sete pares de autossomos puntiformes (Tabela 1) (JOHNSON, 1931; MAKINO, 1932; OHMACHI, 1935; HEWITT, 1979).

Oecanthus quadripunctatus Beutenmüller, 1894 apresenta-se amplamente distribuído na América do Norte, sendo registrada no Canadá, Estados Unidos e México (CIGLIANO et al., 2017). Os indivíduos dessa espécie apresentam número diploide de $2n=19$, com mecanismo sexual $X0♂-XX♀$ (JOHNSON, 1931; KITADA, 1949). O cariótipo é constituído por dois pares de cromossomos autossomos

metacêntricos grandes, o X com o mesmo tamanho e morfologia dos metacêntricos, e sete pares de autossomos pequenos (Tabela 1) (BEAUDRY, 1973).

Oecanthus indicus (Saussure, 1878) apresenta ocorrência de registros no continente Asiático, nas regiões da Índia, Malásia e Vietnã (CIGLIANO et al., 2017). O número de cromossomos dessa espécie é $2n=19$, com sistema sexual $X0^{\text{♂}}-XX^{\text{♀}}$ (HEWITT, 1979; KITADA, 1949). Os cromossomos podem ser separados em dois grupos, um com sete grandes e outro com doze pequenos. O primeiro grupo é composto por cromossomos acrocêntricos grandes, entre eles pode se observar um univalente correspondente ao X. Enquanto que, o segundo grupo apresenta cromossomos puntiformes (Tabela 1) (NAKAMURA e KITADA, 1955).

Oecanthus longicauda Matsumura, 1904 se encontra amplamente distribuída na região leste do continente Asiático, com registros na Rússia, China, Japão, Coreia e Taiwan (MAKINO, 1932; CIGLIANO et al., 2017). Seu cariótipo consiste em $2n=20$, com mecanismo de determinação do sexo do tipo $XY^{\text{♂}}-XX^{\text{♀}}$ (OHMACHI, 1927b; MAKINO, 1932). O cariótipo dessa espécie nos machos consiste em doze cromossomos autossomos puntiformes e seis autossomos grandes acrocêntricos, sendo o Y um cromossomo pequeno e o X um grande (Tabela 1). O cromossomo X acrocêntrico pode ser distinguido dos autossomos por ser o segundo ou terceiro maior cromossomo do conjunto. Por outro lado, o cromossomo Y não apresenta clara identificação decorrente de seu tamanho diminuto, sabe-se apenas que um dos cromossomos pequenos será correspondente a ele. Nas fêmeas será observado um par de cromossomos sexuais do mesmo tamanho, sendo assim, o cariótipo apresenta doze cromossomos puntiformes e oito acrocêntricos (JOHNSON, 1931; MAKINO, 1932; OHMACHI, 1927b, 1935; HEWITT, 1979).

Segundo os resultados obtidos por Makino (1932) foi observada redução de até um terço no tamanho do cromossomo Y nos indivíduos de *O. longicauda*. Os cromossomos podem apresentar mudanças em seu tamanho por diversas razões, como por exemplo o método em que o material foi fixado ou corado. Porém, o autor defende que os motivos dessa redução não seriam químicos. Pois ao comparar o cromossomo X de um indivíduo com o Y em tamanho normal e um com o tamanho reduzido, não se observa nenhuma mudança morfológica. Este comportamento poderia ser relativo à evolução do cromossomo Y sugerida por Wilson (1911), em que o Y iria reduzir de tamanho gradualmente até desaparecer, ocorrendo uma transição do mecanismo XY para $X0$.

Nos insetos, o sistema $XY^{\text{♂}}-XX^{\text{♀}}$ teria se originado de um sistema considerado menos derivado, $X0^{\text{♂}}-XX^{\text{♀}}$. Esse mecanismo seria o resultado de uma translocação entre o cromossomo acrocêntrico X e um dos cromossomos de um par autossômico. O cromossomo X e o cromossomo autossômico sofrem quebra, e depois fusão, formando um cromossomo metacêntrico e um pequeno, composto por regiões centroméricas, e frequentemente perdido no decorrer das divisões celulares. Com isso, o cromossomo neo-X é resultado do processo de fusão de X e A', e o cromossomo autossomo livre (A'') resultando no neo-Y. Durante as fases da meiose o cromossomo neo-Y se pareia com seu homólogo, ou seja, o cromossomo A' aderido ao antigo segmento X (Figura 1) (WHITE, 1954, 1957; SAEZ, 1963; KAISER e BACHTROG, 2010; CASTILLO, 2010).

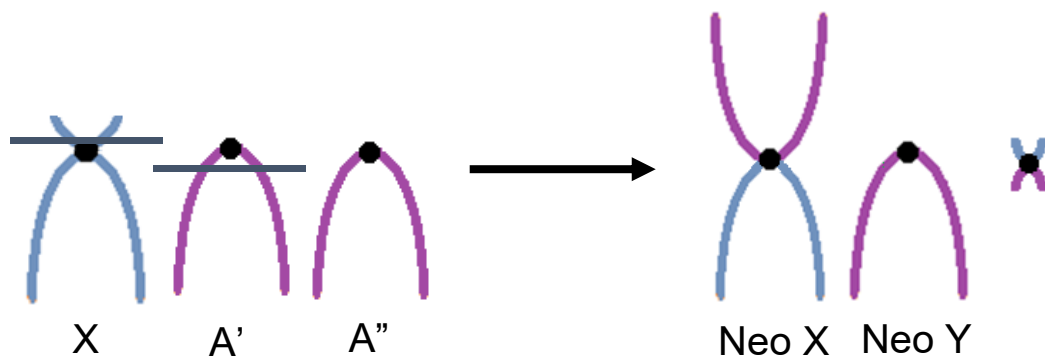


Figura 1 – Processo de formação do mecanismo sexual neo-X-neo-Y, a partir do rearranjo entre o cromossomo X acrocêntrico e um par de cromossomos autossômicos. Originando o cromossomo X metacêntrico e o Y acrocêntrico, sendo o cromossomo diminuto perdido nas divisões seguintes.

Existem evidências cromossômicas que permitem perceber a ocorrência do sistema neo-X-neo-Y. Em Acrididae, os rearranjos X/autossomos são acompanhados da ausência de *crossing-over* entre os antigos segmentos autossômicos, seguida pela heterocromatinização gradativa do braço de origem autossômica do neoX. 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 dos cromossomos sexuais em relação aos autossomos durante o processo meiótico, e ainda permite detectar a quantidade relativa de heterocromatina nos segmentos de origem autossômica dos cromossomos sexuais neo-XY (SAEZ, 1963). Quanto maior o grau de heterocromatinização dos segmentos autossômicos desses cromossomos, mais antiga é a origem do rearranjo na população (WHITE, 1941; 1951; SAEZ, 1963; MESA et al. 2001).

Segundo Mesa et al. (2001), o processo de heterocromatinização dos segmentos autossômicos envolvidos no rearranjo X/autossomo conduz a um processo de reorganização da cromatina, acompanhada de comportamento anômalo desses cromossomos durante a Prófase I, fato que não é adaptativo. Os autores sustentam essa hipótese pela quantidade pequena de espécies de gafanhotos com fusão X/autossomo na fase inicial de heterocromatinização e poucas espécies na fase final, com todos os braços dos cromossomos neo-XY completamente heterocromáticos. Se o processo X/autossomo fosse adaptativo, haveria maior quantidade de táxons mais amplos como tribos e famílias incluindo todas as espécies carregando o mecanismo neo-XY.

3 Material e Métodos

Os indivíduos de *O. valensis* Milach e Zefa, 2016 (Tabela 2) 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°05'817"S, 040°03'116"W), em 28 de julho de 2012.

Os indivíduos de *O. pictus* Milach e Zefa, 2015, *O. pallidus* Zefa, 2012 e *O. lineolatus* Saussure, 1897 (Tabela 2) foram coletados em plantações de tabaco e arbustos no distrito de São João da Reserva, município de São Lourenço do Sul, RS, Brasil (31°17'39.43"S, 52°09'02.76"W) em março de 2012.

Os cromossomos foram obtidos a partir dos testículos e intestino médio de indivíduos previamente injetados com solução de colchicina 0,05% por 5h, e posteriormente hipotonizados em solução de KCl 0,075M por 5-10 min, e fixados em Carnoy I (3 álcool etílico: 1 ácido acético glacial). Os tecidos fixados 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) permite a classificação morfológica dos cromossomos mitóticos e foi obtido de acordo com Levan et al (1964). O índice é calculado através da fórmula $i = \frac{100s}{c}$, em que *c* é o comprimento total do cromossomo e *s* o do braço curto (LEVAN et al., 1964). A montagem dos cariótipos foi realizada com a utilização do programa Adobe Photoshop CC 2015. Os cariótipos das espécies deste trabalho foram comparados com estudos de cromossomos de espécies de *Oecanthus* disponíveis na literatura.

Tabela 2 – Número de indivíduos coletados e utilizados no preparo de lâminas de acordo com o sexo em cada espécie de *Oecanthus* analisadas neste trabalho.

Espécie/ N° de indivíduos	Coletados		Analisados	
	♂	♀	♂	♀
<i>Oecanthus valensis</i>	16	12	10	7
<i>Oecanthus pictus</i>	66	33	20	5
<i>Oecanthus pallidus</i>	8	3	3	1
<i>Oecanthus lineolatus</i>	25	14	8	3

4 Resultados

A espécie *O. lineolatus*, apresentou o número diploide $2n=18+XY\♂=20$ e $2n=18+XX\♀=20$, com dois pares de cromossomos autossomos metacêntricos grandes ($ic=40,9$; $ic=42,10$), o par dois com constrições secundárias, e sete pares de cromossomos autossomos puntiformes. Os cromossomos sexuais consistem em um X submetacêntrico grande ($ic=31,25$) e o Y puntiforme (Figura 2) (Tabela 1). Nas fases de Meiose I os cromossomos sexuais X e Y se comportam como bivalentes, formando quiasmas em Prófase I, se posicionando juntos na placa equatorial em Metáfase I, e depois migrando cada um para um dos polos da célula em Anáfase I (Figura 3). Nesta espécie não foi observado segmento heteropicnótico nos segmentos XR e Y (Figura 4). As constrições elásticas nos braços dos bivalentes grandes observadas durante o Diplóteno I, provavelmente correspondem às constrições secundárias observadas nesse par em Diplóteno (Figura 4).

Os indivíduos de *O. valensis* apresentaram número cromossômico diploide de $2n=16+XY\♂=18$ e $2n=16+XX\♀=18$, 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 cromossomo X submetacêntrico grande ($ic=25,92$) e o Y puntiforme (Figura 2) (Tabela 1). Durante a meiose os cromossomos sexuais se comportam como bivalentes, sendo possível observar o aumento gradual da heterocromatinização dos segmentos XL e Y em Prófase I (Figura 5). Foi observado a presença de um cromossomo B em algumas divisões, e um segmento heterocromático entre os cromossomos XL e Y, que são heteropicnóticos positivos, a partir de Diplóteno I (Figuras 2, 5 e 6). Em dois indivíduos foram encontradas pontes de cromatina em Anáfase/Telófase II (Figura 7).

Oecanthus pallidus apresentou $2n=16+XY\♂=18$ e $2n=16+XX\♀=18$, 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 subtlocêntrico pequeno ($ic=20$) (Figura 2) (Tabela 1). Em Diplóteno I, os cromossomos sexuais X e Y se comportam como bivalentes heteromórficos, porém heteropicnóticos positivos, com um segmento heterocromático entre eles, que corresponde ao cromossomo XR, adicionado ao XL (Figura 8 e 9). Na fase de

Metáfase I os cromossomos XY se posicionam na placa equatorial da célula (Figura 8).

Na espécie *O. pictus*, o número cromossômico é $2n=20+X0♂=21$ e $2n=20+XX♀=22$, com três pares de cromossomos autossomos grandes, um metacêntrico (ic=45), um subtolocêntrico (ic=16,66) e um acrocêntrico (ic=7,69), e sete pares puntiformes. O cromossomo X é um metacêntrico grande (ic=45,45) (Figura 2) (Tabela 1). Nas fases de meiose o cromossomo X se comporta como univalente migrando para um dos polos da célula em Metáfase I, e apresentando heteropiconose positiva em relação aos autossomos nas fases iniciais de Prófase I, e similar no final de Diplóteno I (Figura 10).



Figura 2 – Cariótipos dos machos de espécies de *Oecanthus*. *O. lineolatus*, com $2n=20$, XY; *O. valensis*, $2n=18$, XY, apresentou um cromossomo B; *O. pallidus*, $2n=18$, XY; e *O. pictus*, $2n=21$, X0.

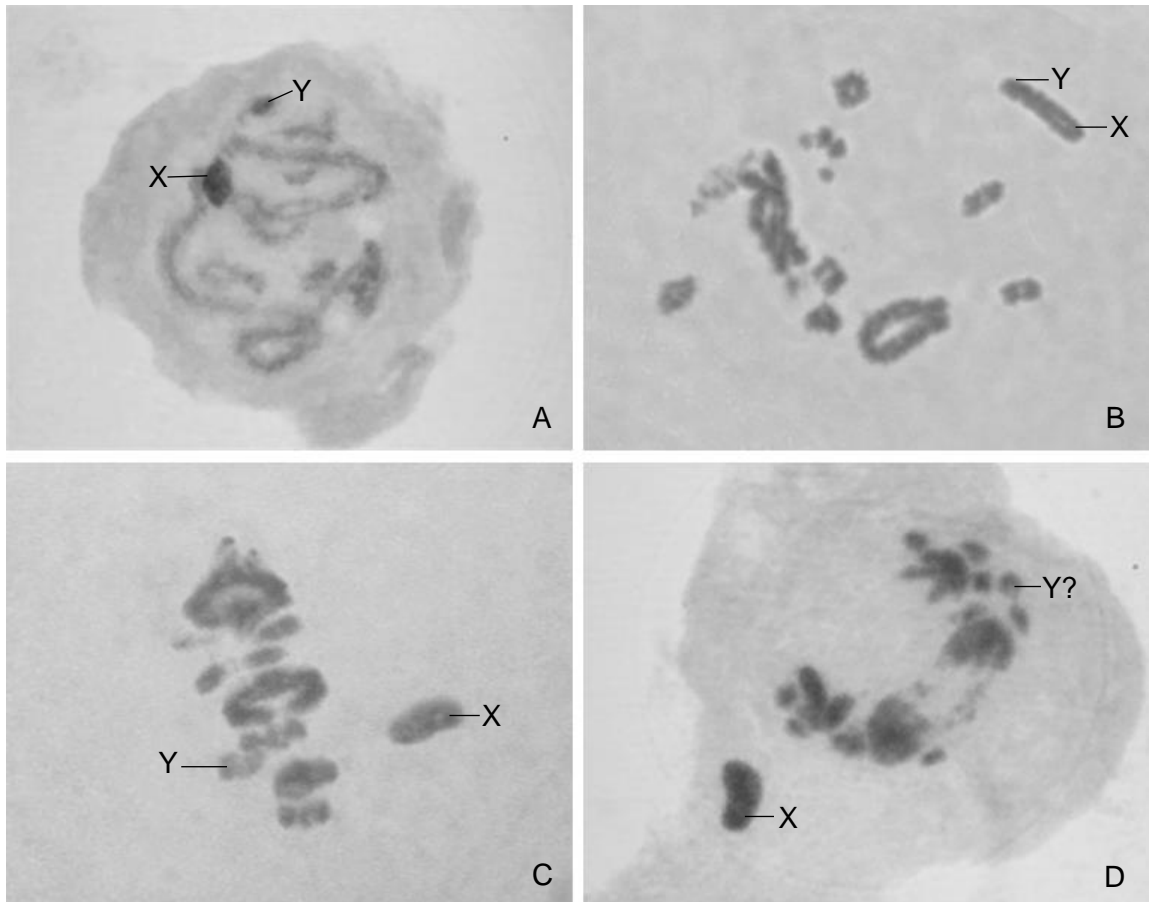


Figura 3 – Divisões meióticas em folículos testiculares de *Oecanthus lineolatus*. A – Paquíteno com o cromossomo X em heteropícnose positiva; B – Díploteno; C - Metáfase I; D - Anáfase I com o cromossomo X em um dos polos e o Y supostamente indicado.

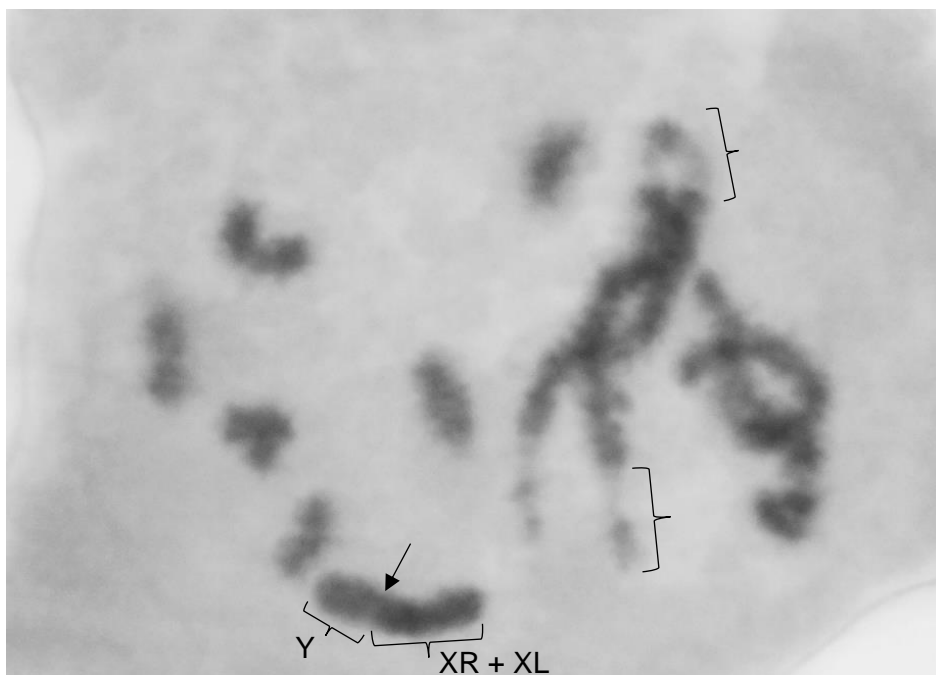


Figura 4 – Díploteno em macho de *Oecanthus lineolatus* com destaque aos cromossomos XL e Y, mostrando a ausência do segmento hetropicnótico negativo entre eles (seta). Um dos pares de autossomos grandes apresenta constrictões elásticas na região terminal de seus braços ({}).

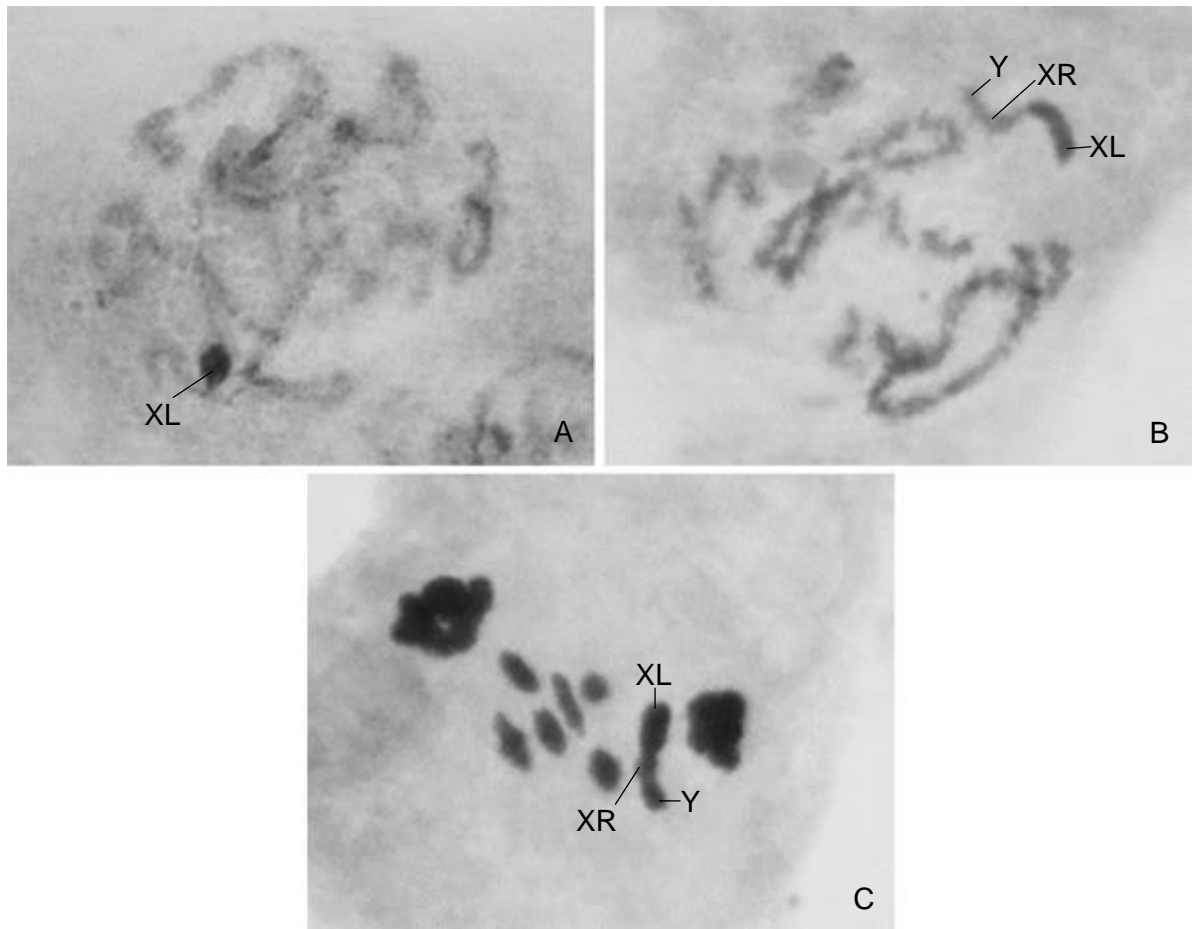


Figura 5 – Divisões meióticas em folículos testiculares de *Oecanthus valensis*. A – Zigóteno, com o segmento XL heteropícnótico positivo; B - Diplóteno; e C - Metáfase I.

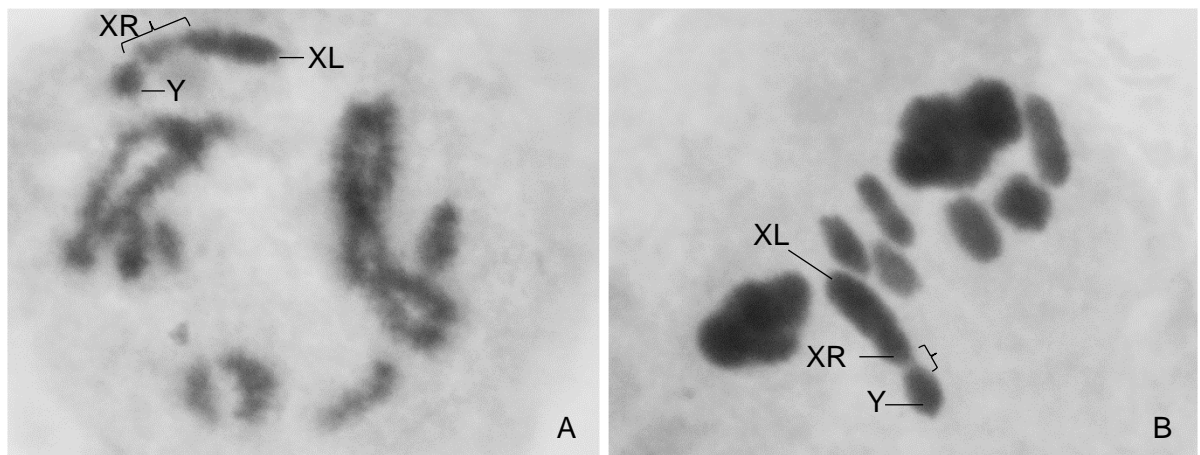


Figura 6 – Divisões meióticas em folículos testiculares de *Oecanthus valensis*. A - Diplóteno com os cromossomos X e Y pareados, sendo o segmento XL e Y heteropícnótico positivo, e o segmento XR heteropícnótico negativo; B - Metáfase I com o bivalente X-Y na placa equatorial.

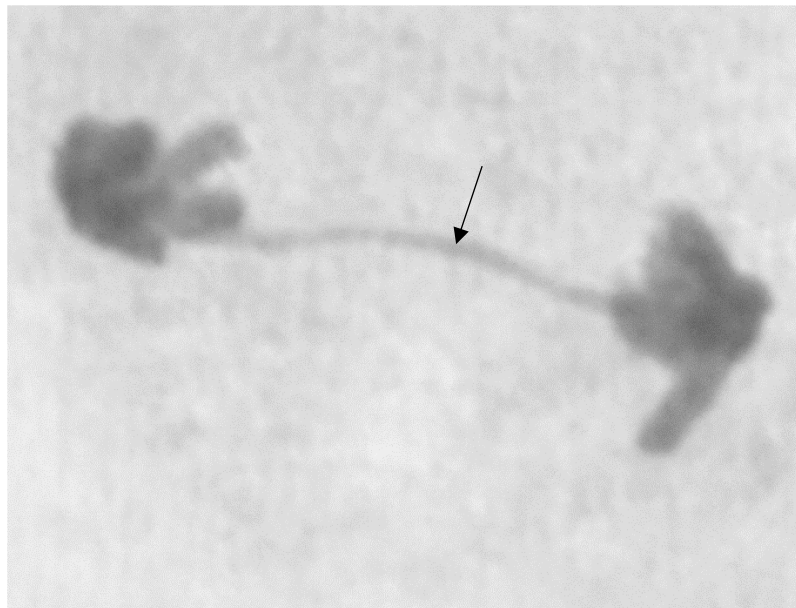


Figura 7 – Ponte de cromatina (seta) observada em um dos indivíduos de *Oecanthus valensis* em Anáfase/Telófase II.

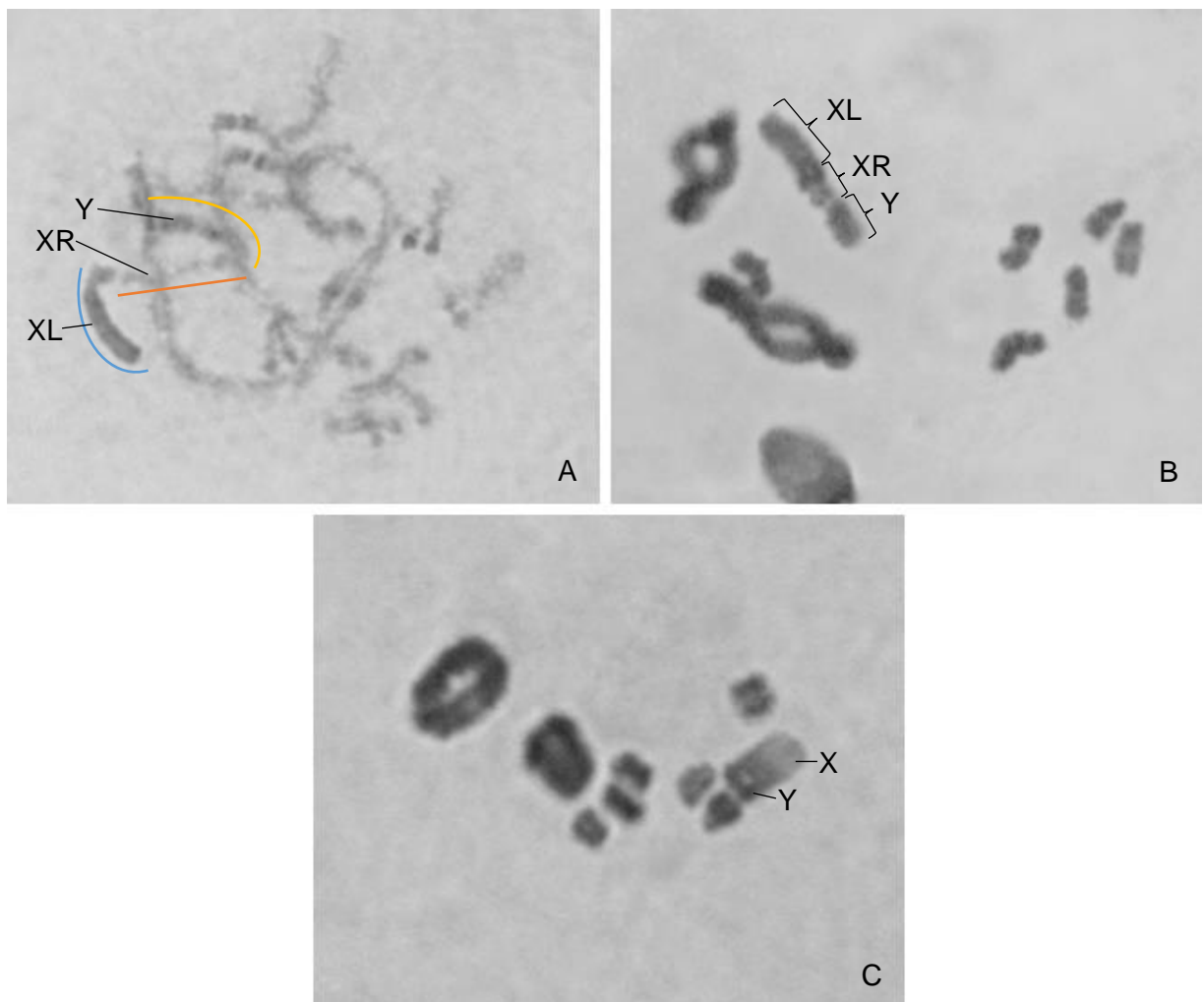


Figura 8 - Divisões meióticas em foliculos testiculares de *Oecanthus pallidus*. A – Paquíteno/Diplóteno com destaque aos segmentos XL e XR do cromossomo X e cromossomo Y; B - Diplóteno; e C - Metáfase I.

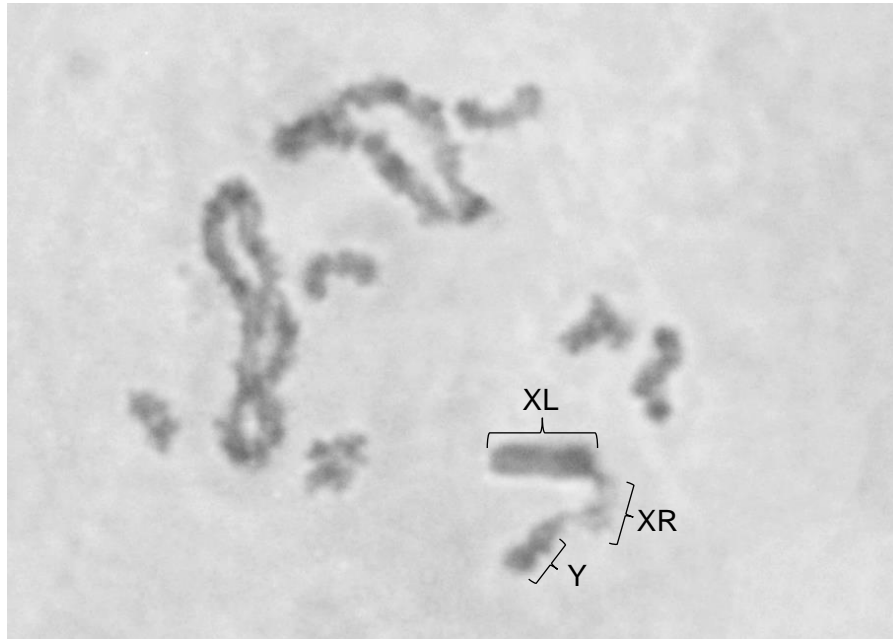


Figura 9 – Segmento isopcnótico (Y) entre os cromossomos sexuais XL e Y nas fases de Diplóteno durante Meiose I observado nos indivíduos de *Oecanthus pallidus*.

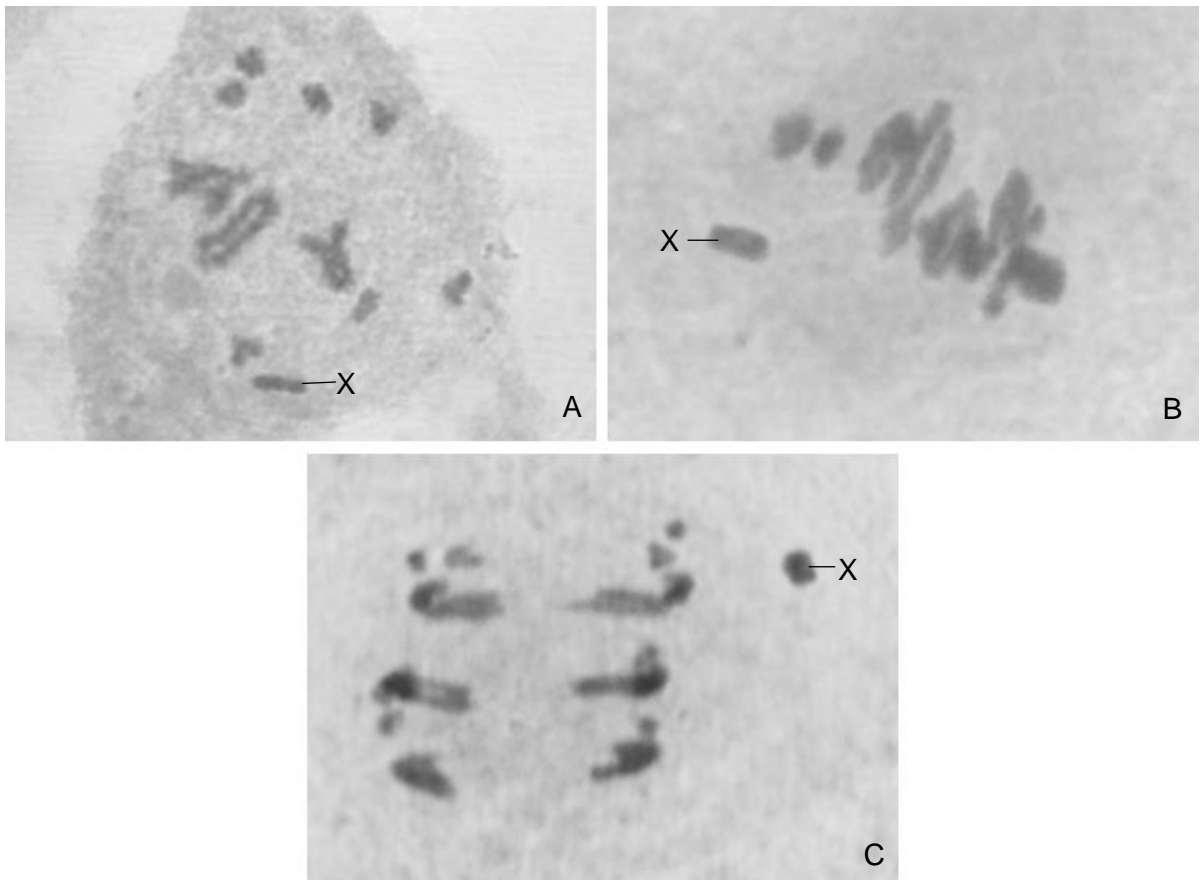


Figura 10 - Divisões meióticas em folículos testiculares de *Oecanthus pictus*. A – Diplóteno; B – Metáfase I; C - Anáfase I.

5 Discussão

Considerando as seis espécies de *Oecanthus* estudadas citogeneticamente, três são do continente asiático (Regiões Paleárticas), duas da América do Norte (Região Neártica) e uma da América do Sul (Região Neotropical). As espécies paleárticas, *O. longicauda*, *O. indicus* e *O. pellucens* apresentam três pares de autossomos, todos grandes e acrocêntricos, e seis pares autossomos puntiformes (OHMACHI, 1927b, 1935; MAKINO, 1932; KITADA, 1949; HEWITT, 1979). As espécies neárticas, *O. quadripunctatus* e *O. nigricornis* possuem dois pares de autossomos grandes metacêntricos, e sete pares pequenos de acrocêntricos (JOHNSON, 1931; OHMACHI, 1935; KITADA, 1949). A espécie Neotropical *O. valensis*, apresenta dois pares de autossomos metacêntricos ou submetacêntricos e seis pares de autossomos puntiformes (MILACH et al., 2016).

Em comparação com as espécies estudadas, *O. pictus* apresentou cariótipo semelhante ao das espécies paleárticas, com um par de autossomos pequenos a mais. Porém, mostrou diferença quanto ao posicionamento centromérico de dois cromossomos autossômicos grandes (metacêntrico e telocêntrico), bem como no cromossomo X. Por outro lado, as espécies *O. lineolatus*, *O. valensis* e *O. pallidus* apresentam complemento cromossômico semelhante às espécies neárticas (MILACH et al., 2016). Porém, as duas últimas, com um par de cromossomos autossomos pequenos 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 e MORLEY, 1955; WHITE, 1978).

Os cromossomos supernumerários ocorrem em indivíduos de *O. pellucens* e *O. valensis*, sendo pequenos e similares ao cromossomo Y (HEWITT, 1979; MILACH et al., 2016). A origem dos supernumerários ainda é um tanto incerta, e nos grupos de Orthoptera foram mais estudados em gafanhotos, podendo ser usados como marcadores diagnósticos de uma espécie (HEWITT, 1979). Estudos em alguns organismos mostraram que os cromossomos B apresentam DNA semelhante ao encontrado em cromossomos autossomos, e também apresentam sequências próprias (BEUKEBOOM, 1994).

Em Orthoptera o sistema cromossômico sexual mais comum e, aparentemente, menos derivado é o $X0^{\text{♂}}-XX^{\text{♀}}$, e geralmente o cromossomo X apresenta heteropicnose em relação aos autossomos (WHITE, 1978; HEWITT, 1979). Rearranjos entre o cromossomo X e autossomos podem originar mecanismo de determinação do sexo como o neo-XY (WHITE, 1951).

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 autossômicos, seguida pela heterocromatinização gradativa do braço de origem autossômica 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 autossômica dos cromossomos sexuais neo-XY (SAEZ, 1963). Quanto maior o grau de heterocromatinização dos segmentos autossômicos 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 Acrididea acontece em *Oecanthus* (Grylloidea), sugerimos que em *O. pallidus* e *O. valensis* o mecanismo neo-XY é relativamente recente pela presença do seguimento heterocromático (XR) entre os cromossomos XL e Y em Diplóteno I. Enquanto que em *O. lineolatus* o rearranjo seria mais antigo pela ausência deste seguimento (WHITE, 1941; 1951; SAEZ, 1963; MESA et al. 2001).

O processo de heterocromatinização dos segmentos XR/Y de *O. valensis* e *O. pallidus* encontra-se em fase intermediária, uma vez que o cromossomo Y é completamente heterocromático, e o segmento XR eucromático, enquanto que em *O. lineolatus* o processo está quase completo. Se a fusão X/autossomo fosse recente, ambos os segmentos seriam eucromáticos, se fosse antiga, seriam totalmente heterocromáticos.

A presença de mecanismo $X0$ em *O. pictus*, que apresenta o maior número cromossômico dentre as espécies estudadas, indica que esse cariótipo é menos derivado, pois ainda não houve o processo de fusão X/autossomo, como ocorre com as espécies que apresentam o mecanismo de determinação do sexo do tipo neo-XY.

A origem das espécies de *Oecanthus* é recente na história evolutiva dos grilos (SHAROV, 1971), e as poucas espécies analisadas apresentam cariótipos relativamente conservados, com pouca variação quanto ao número cromossômico e mantendo a assimetria cromossômica como característica do grupo. Contudo ocorre variação na morfologia dos cromossomos maiores, considerando as regiões onde as espécies ocorrem.

Tabela 2 – Informações das espécies de *Oecanthus* revisadas e estudadas neste trabalho de acordo com a data de publicação da descrição cariotípica, indicando os locais onde foram encontradas, o nome científico das espécies, o número diploide (2n), o sistema de determinação sexual, a morfologia dos cromossomos autossômicos e sexuais, e os autores que descreveram o cariótipo de cada espécie.

Locais	Espécies	2n	Sistema sexual	Morfologias	Autores
Ásia	<i>O. longicauda</i>	20	XX/XY	- 6 Acrocêntricos grandes - 12 Puntiformes - X Acrocêntrico grande - Y Puntiforme	Ohmachi, 1927b
América do Norte	<i>O. nigricornis</i>	19	XX/X0	- 4 Metacêntricos grandes - 14 Puntiformes - X Metacêntrico grande	Johnson, 1931
América do Norte	<i>O. quadripunctatus</i>	19	XX/X0	- 4 Metacêntricos grandes - 14 Puntiformes - X Metacêntrico grande	Johnson, 1931
Ásia, Europa, e Norte da África	<i>O. pellucens</i>	20	XX/XY	- 6 Acrocêntricos grandes - 12 Puntiformes - X Acrocêntrico grande - Y Puntiforme	Montalenti et al., 1965
Ásia	<i>O. indicus</i>	19	XX/X0	- 6 Acrocêntricos grandes - 12 Puntiformes - X Acrocêntrico grande	Hewitt, 1979
América do Sul	<i>O. valensis</i>	18	XX/XY	- 4 Meta/submetacêntrico grandes - 12 Puntiformes - X Submetacêntrico grande - Y Puntiforme	Milach et al., 2016
América do Sul	<i>O. pictus</i>	21	XX/X0	- 2 Metacêntricos grandes - 2 Subtelocêntrico grandes - 2 Acrocêntricos grandes - 14 Puntiformes - X Metacêntrico grande	Presente estudo
América do Sul	<i>O. pallidus</i>	18	XX/XY	- 4 Metacêntricos grandes - 12 Puntiformes - X Metacêntrico grande - Y Subtelocêntrico Pequeno	Presente estudo
América do Sul	<i>O. lineolatus</i>	20	XX/XY	- 4 Metacêntricos grandes - 14 Puntiformes - X Submetacêntrico grande - Y Puntiforme	Presente estudo

6 Considerações finais

Os estudos de citogenética no grupo de *Oecanthus* são poucos, porém mostram que existem muito pontos importantes para se esclarecer sobre a evolução cromossômica no gênero. As espécies estudadas apresentam carótipos assimétricos, com um grupo de cromossomos grandes e um de pequenos, e o número diploide do gênero varia de $2n=18$ a 21, com mecanismos $X0/XX$ e XY/XX . Sendo *O. pictus* com $2n=21$, $X0$; *O. longicauda*, *O. pellucens* e *O. lineolatus*, $2n=20$, XY ; *O. indicus*, *O. nigricornis* e *O. quadripunctatus* com $2n=19$, $X0$; e *O. valensis* e *O. pallidus* com $2n=18$, XY .

A redução no número cromossômico possivelmente é decorrente de fusões cêntricas entre cromossomos autossômicos e entre o cromossomo X e autossomos. As fusões envolvendo o cromossomo sexual resultaram na origem do mecanismo sexual neo-XY. Estes rearranjos X/autossomos são acompanhados por um processo gradual de heterocromatinização do cromossomo neo-Y e do braço XR do cromossomo neo-X. A partir desta heterocromatinização identificamos que a origem do rearranjo X/autossomo é intermediário em três das espécies estudadas. Contudo estudos moleculares serão necessários para esclarecer a origem do sistema neo-XY nessas espécies, e a importância da heterocromatinização nesse processo.

Os cromossomos autossomos grandes variaram quanto a morfologia, enquanto que a dos puntiformes não foi possível determinar, decorrente de seus tamanhos pequenos, dificultando a determinação dos pares na montagem dos cariótipos. Neste caso seria interessante a utilização de marcadores e colorações diferentes para melhor definição da morfologia e pareamento destes cromossomos.

A continuação dos estudos citogenéticos, em conjunto com a biologia molecular, serão de grande importância para melhor descrever a derivação cromossômica no grupo, além de permitir melhores obtenções de informações quanto a morfologia, mecanismo sexual e a ocorrência de rearranjos entre cromossomos.

Referências

- BEAUDRY, J. R. Une analyse des complements chromosomiques de certains orthopteres du Quebec et sa signification taxonomique et evolutionnaire. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, v. 15, n. 1, p. 155-170, 1973.
- BEUKEBOOM, L. W. Bewildering Bs: an impression of the 1st B-Chromosome Conference. **Heredity**, v. 73, n. 3, p. 328-335, 1994.
- CAMACHO, J.P.M.; SHARBEL, T.F.; BEUKEBOOM, L.W. B-chromosome evolution. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 355, n. 1394, p. 163-178, 2000.
- CASTILLO, E. R.; MARTI, D. A.; BIDAU, C. J. Sex and neo-sex chromosomes in Orthoptera: a review. **Journal of Orthoptera Research**, v. 19, n. 2, p. 213-231, 2010.
- CIGLIANO, M. M.; BRAUN, H.; EADES, D. C.; OTTE, D. Orthoptera Species File. Version 5.0/5.0. Disponível em: <<http://Orthoptera.SpeciesFile.org>>. Acesso em: maio 2017.
- FERREIRA, A.; CELLA, D. M. Chromosome structure of *Eneoptera surinamensis* (Orthoptera, Grylloidea, Eneopterinae) as revealed by C, NOR and N banding techniques. **Chromosome Science**, v. 9, n. 2, p. 47–51, 2006.
- HEWITT, G. M. Orthoptera: Grasshoppers and crickets. In: Jolui, B. (Ed.), **Animal Cytogenetics 3**. Insecta I. Gebrüder-Borntraeger, Berlin-Stuttgart, p. 170, 1979.
- JOHNSON, H. H. Centrioles and other Cytoplasmic components of the male germ cells of the Gryllidae. Nova Iorque. **Akad. Verlag Ges**, p. 116-162, 1931.
- KAISER, V. B.; BACHTROG, D. Evolution of sex chromosomes in insects. **Annual review of genetics**, v. 44, p. 91-112, 2010.
- KITADA, S. Preliminary notes on the chromosomes of *Oecanthus indicus*. **Kromosomo**, v. 5, n. 6, p. 227-228, 1949.

LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes. **Hereditas**, v. 52, n. 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., v. 2, n. 1, 1932.

MESA, A.; BRAN, E. J. Acerca de los cromosomas de Eneoptera surinamensis. **Ann. II. Congr. Latinoam. de Zool**, v. 1, p. 9-16, 1964.

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**, v. 10, n. 2, p. 141-146, 2001.

MESA, A.; GARCÍA-NOVO, P.; DOS SANTOS, D. X1X2O (male)–X1X1X2X2 (female) chromosomal sex determining mechanism in the cricket *Ciclotyloides americanus* (Orthoptera, Grylloidea, Mogoplistidae). **Journal of Orthoptera Research**, v. 11, n. 1, p. 87-90, 2002.

MILACH, E. M., DA COSTA, M. K. M., MARTINS, L. D. P., NUNES, L. A., SILVA, D. S. M., GARCIA, F. R. M., DE OLIVEIRA, E. C.; ZEFA, E. New species of tree cricket *Oecanthus* Serville, 1831 (Orthoptera: Gryllidae: Oecanthinae) from Reserva Natural Vale, Espírito Santo, Brazil, with chromosome complement. **Zootaxa**, v. 4173, n 2, p.137-146, 2016.

MONTALENTI, G; ROCCHI, A.; FONTANA, P. G. Il Corredo Cromosomico Di *Oecanthus pellucens* (ORTHOPTERA GRYLLOIDEA). **Atti Della Accademia Nazionale Dei Lincei Rendiconti-Classe Di Scienze Fisiche-Matematiche & Naturali**, v. 39, n. 5, p. 237-&, 1965.

NAKAMURA, K., KITADA, J. I. Chromosomes of some orthopteroid insects, with special reference to sex-chromosomes. **Cytologia**, v. 20, n. 2, p. 119-132, 1955.

OHMACHI, F. A. Preliminary Note on a New System in the Classification of Gryllodea. **Proceedings of the Imperial Academy**, v. 3, n. 7, p. 457-460, 1927.

OHMACHI, F. A. Preliminary note on cytological studies on Gryllodea (Chromosome-numbers and sex-chromosomes of eighteen species). **Proceedings of the Imperial Academy**, v. 3, n. 7, p. 451–56, 1927.

OHMACHI, F. A. Comparative Study of Chromosome Complements in the Grylloidea in Relation to Taxonomy. **Bulletin of Mie Imperial College of Agriculture and Forestry**, v. 5, p. 1-48, 1935.

PALACIOS-GIMENEZ, O. M.; CABRAL-DE-MELLO, D. C. Repetitive DNA chromosomal organization in the cricket *Cycloptiloides americanus*: a case of the unusual X1X20 sex chromosome system in Orthoptera. **Molecular Genetics and Genomics**, v. 290, n. 2, p. 623-631, 2014.

REMIS, M. I. Effects of supernumerary heterochromatin on chiasma condition in two species of Acrididae (Orthoptera). **Genética**, v. 79, p. 53-61, 1989.

SAEZ, F. A. Gradient of heterochromatinization in the evolution of the sexual system "neo-X neo-Y". **Portugaliae Acta Biologica**, ser A, v.7, p. 111-138, 1963.

SHAROV, A. G. A. G. **Phylogeny of the orthopteroidea**. 1971.

ZEFA, E.; REDÜ, D. R.; DA COSTA, M. K. M.; FONTANETTI, C. S.; GOTTSCHALK, M. S.; PADILHA, G. B.; SILVA, A. F.; MARTINS, L. P. A new species of *Endecous* Saussure, 1878 (Orthoptera, Gryllidae) from northeast Brazil with the first X1X20 chromosomal sex system in Gryllidae. **Zootaxa**, v. 3847, n. 1, p. 125-132, 2014.

WHITE, M. J. D. The evolution of the sex chromosomes. **Journal of Genetics**, v. 42, n. 1-2, p. 173-190, 1941.

WHITE, M. J. D. Cytogenetics of orthopteroid insects. **Advances in Genetics**, v. 4, p. 268-330, 1951.

WHITE, M. J. D. **Animal cytology and evolution**. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, England. 1954.

WHITE, M. J. D. Cytogenetics and Systematic Entomology. **Annual Rev. Entomology**, v. 2, p. 71-90, 1957.

WHITE, M. J. D. Chain processes in chromosomal speciation. **Systematic Biology**, v. 27, n. 3, p. 285-298, 1978.

WHITE, M. J. D., MORLEY, F. H. W. Effects of pericentric rearrangements on recombination in grasshopper chromosomes. **Genetics**, v. 40, n. 5, p. 604, 1955.

WILSON, E. B. Studies on chromosomes. VII. A review of the chromosomes of Nezara; with some more general considerations. **Journal of Morphology**, v. 22, n. 1, p. 71-110, 1911.