

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO-UFPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – CCB  
PROGRAMA DE PÓS – GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
BIOLÓGICAS –PPGCB  
MESTRADO

Caracterização cariotípica dos gafanhotos  
*Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum*  
(Orthoptera-Ommexechidae)

DANIELLE BRANDÃO DE CARVALHO

Recife, 2008

DANIELLE BRANDÃO DE CARVALHO

Caracterização cariotípica dos gafanhotos *Ommexecha virens* e  
*Descampsacris serrulatum* (Orthoptera-Ommexechidae)

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE,  
como requisito para a obtenção do título de  
Mestre em Ciências Biológicas.

**Mestranda:** Danielle Brandão de Carvalho

**Orientador(a):** Dr<sup>a</sup> Maria José de Souza Lopes

**Co-orientador(a):** Dr<sup>a</sup> Marília de França Rocha

Recife, 2008

Carvalho, Danielle Brandão de

Caracterização cariotípica dos gafanhotos *Ommexeche virens*  
e *Descampsacris serrulatum* (Orthoptera ommexechidae). I

Danielle Brandão de Carvalho. – Recife: A Autora, 2008.

vi; 74 fls. .: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – UFPE. CCB

1. *Gafanhotos* 2. *Orthoptera* 3. Taxonomia I. Título

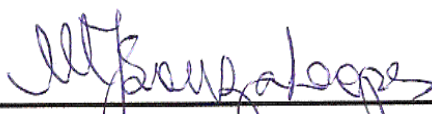
595.727 CDU (2ª. Ed.) UFPE

595.726 CDD (22ª. Ed.) CCB – 2008 –077

Mestranda: Danielle Brandão de Carvalho  
Orientador(a): Dr<sup>a</sup> Maria José de Souza Lopes  
Co-orientador(a): Dr<sup>a</sup> Marília de França Rocha

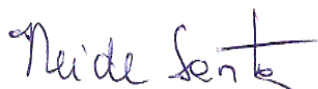
Comissão Examinadora

- **Membros Titulares**



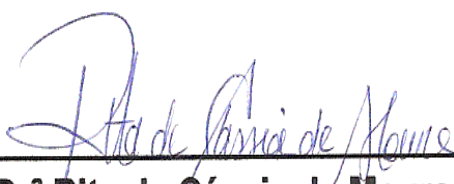
---

**Dr<sup>a</sup> Maria José de Souza Lopes**  
Departamento de Genética/CCB/UFPE



---

**Dr<sup>a</sup> Neide Santos**  
Departamento de Genética/CCB/UFPE



---

**Dr<sup>a</sup> Rita de Cássia de Moura**  
Departamento de Biologia ICB/UPE

Aos idosos mais lindos e  
amados, meus pais Josivaldo  
e Bernadete e minha avó  
materna Anizia (*in memorian*)

As professoras Maria José de  
Souza Lopes e Marília de  
França Rocha.

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                                       |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| AGRADECIMENTOS                                                                                                                                                        | i   |
| LISTA DE FIGURAS                                                                                                                                                      | iii |
| LISTA DE TABELAS                                                                                                                                                      | iv  |
| LISTA DE ABREVIATURAS                                                                                                                                                 | v   |
| RESUMO                                                                                                                                                                | vi  |
| I. INTRODUÇÃO                                                                                                                                                         | 12  |
| II. OBJETIVO GERAL                                                                                                                                                    | 13  |
| II.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS                                                                                                                                           | 13  |
| III. REVISÃO DA LITERATURA                                                                                                                                            | 14  |
| III.1. Considerações gerais sobre taxonomia e distribuição geográfica                                                                                                 | 14  |
| III.1.1-Superfamília Acridoidea                                                                                                                                       | 14  |
| III.1.2-Família Ommexechidae                                                                                                                                          | 17  |
| III.2- Aspectos citogenéticos em gafanhotos Neotropicais                                                                                                              | 21  |
| III.3- Padrão cromossômico de distribuição de heterocromatina constitutiva                                                                                            | 29  |
| III.4-Padrão cromossômico de distribuição das regiões organizadoras de nucléolos                                                                                      | 35  |
| IV.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS                                                                                                                                         | 40  |
| V. CAPÍTULO 1 <i>Ommexecha virens</i> e <i>Descampsacris serrulatum</i> (Ommexechidae): cariótipos, heterocromatina constitutiva e regiões organizadoras de nucléolos | 48  |
| VI. CONCLUSÕES                                                                                                                                                        | 63  |
| VII. ABSTRACT                                                                                                                                                         | 65  |
| VIII.1 Apêndice                                                                                                                                                       | 66  |
| VIII. 1. Fotos das espécies estudadas                                                                                                                                 | 67  |
| IX. Anexos                                                                                                                                                            | 68  |
| IX. 2.Normas da revista Genetics and Molecular Biology                                                                                                                | 69  |

## AGRADECIMENTOS

Ao Pai, pela vida, em todos os sentidos.

À Universidade Federal de Pernambuco, pelas condições para desenvolver esse projeto, à PROPLAN e PROPESQ pela viabilização, do transporte na realização das coletas das espécies analisadas. A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Prof<sup>a</sup>. Maria José de Souza Lopes, pela disponibilidade na orientação e no desenvolvimento desse projeto, pela paciência, apoio e empenho.

À Prof<sup>a</sup>. Marília de França Rocha pela co-orientação, amizade e confiança, pelo exemplo de profissionalismo e constante incentivo, atenção e colaboração.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PPGCB), especialmente as Prof<sup>as</sup>. Suely Lins Galdino e Maria Tereza Correia e a secretária Adenilda Eugênia.

Ao Prof. Carlos S. Cabonell da Universidade de Montevideo, Uruguai pela identificação taxonômica das espécies analisadas e interesse no envio de material bibliográfico.

Ao Prof. Alejo Mesa do Departamento de Biologia/IB/UNESP, pelo empenho no envio do material bibliográfico.

À Prof<sup>a</sup>. Neide Santos pelas orientações no estágio a docência e amizade.

Às amigas e técnicas do Laboratório de Citogenética Animal, Cirlene Maria da Silva e Francisca Tavares de Lira, por todo o apoio, indispensáveis na realização desse trabalho.

A Márcia funcionária do Comut, pelo auxílio prestado na obtenção do material bibliográfico.

Aos novos amigos do PPGCB, a turma do mestrado e doutorado de 2006.

Às minhas amigas, Marcela, Michele, Viviane, Verleide, Tatiane e minha prima Lenise pelo maravilhoso convívio, durante os vários momentos de minha vida, de alegrias e tristezas.

Aos amigos Luciano, Lima, Elaine e Tia Sonia.

À minha amiga Merilane pelo ombro amigo, por todas as horas de desabafo ao telefone e ao vivo, pela paciência e estímulo.

Às amigas Ituza e Jéssica pelo ensino na execução do programa do Corel Draw Graphics Suite 12, auxílio nas coletas e pelo incrível convívio.

Ao amigo Diogo pela captura de imagens, auxílio nas coletas e organização das pranchas.

Aos amigos do Laboratório de Genética e Citogenética Animal Pollyanna, Adriana, Luzia, Graciela, Nara, Tyago, Thatiana, Evilis, Sergio, Sárah, Jefferson, Carol, Iane, Cybelle, Cibebe, Angélica, Myrella, Marcela, João, Juliana, Guilherme, Vilma, Mércia pelo inesquecível e maravilhoso convívio em mais uma caminhada de minha vida.

À toda a minha família, que sempre esteve ao meu lado em especial ao meu pai Josivaldo, irmã Lívia, Tia Salete e Tio Tone.

À uma pessoa muito especial em minha vida, que juntas aprendemos a caminhar pelos mais belos jardins, uma mulher inesquecível, minha mãe Bernadete.

À todos aqueles que cooperaram com a conclusão desse trabalho.

## LISTA DE FIGURAS

### Manuscrito

- Figura 1.** Coloração convencional em células mitóticas e meióticas de *Descampsacris serrulatum* **(a, b)**, *Ommexecha virens* **(c-f)** **(a)** cariótipo espermatoγονial **(b)** paquíteno **(c)** metáfase I **(d)** anáfase I **(e)** metáfase II **(f)** anáfase II. Barra 5  $\mu$ m. 58
- Figura 2.** Padrão de bandeamento C em *Descampsacris serrulatum* **(a)** paquíteno **(b)** diplóteno. Tríplex coloração CMA<sub>3</sub>/DA/DAPI em células paquitênicas de *Descampsacris serrulatum* **(c, d)** e *Ommexecha virens* **(e, f)**. Barra 5  $\mu$ m. 59
- Figura 3.** Coloração com nitrato de prata **(a, c)** e FISH com sonda de DNA<sub>r</sub> 45S **(b, d)**. Zigóteno e paquíteno de *Descampsacris serrulatum* **(a, b)** e zigóteno e diacinese de *Ommexecha virens* **(c-d)**. Em **(a, c)** as setas indicam as Rons ativas obtidas pela AgNO<sub>3</sub> em *D. serrulatum* e *Ommexecha virens*. Barra 5  $\mu$ m. 60

### Apêndice

- Figura 4.** Fotos representativas das duas espécies estudadas. Em a e b fêmeas de *Ommexecha virens*, forma aptera e alada, respectivamente. Em c fêmea de *Descampsacris serrulatum*. 64

## LISTA DE TABELAS

### Revisão da Literatura

**Tabela 1:** Subfamília, espécie e registro de ocorrência de representantes da família Ommexechidae 21

**Tabela 2:** Cariótipo, morfologia cromossômica, número fundamental e localidades geográficas de representantes de Ommexechidae. 29

### Manuscrito

**Tabela 1:** Espécies, localidades de coletas, coordenadas geográficas e número de indivíduos analisados. 57

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                         |                                          |
|-------------------------|------------------------------------------|
| <b>AgNO<sub>3</sub></b> | Nitrato de Prata                         |
| <b>AT</b>               | Adenina e Timina                         |
| <b>B</b>                | Cromossomo supernumerário ou extra       |
| <b>CA</b>               | Centríolo adjunto                        |
| <b>CMA<sub>3</sub></b>  | Cromomicina A <sub>3</sub>               |
| <b>DA</b>               | Distamicina A                            |
| <b>DAPI</b>             | 4'-6'-diamidino-2-fenilindol             |
| <b>DNA</b>              | Ácido desoxirribonucléico                |
| <b>DNA<sub>r</sub></b>  | Ácido desoxirribonucleico ribossomal     |
| <b>FISH</b>             | Hibridização <i>in situ</i> Fluorescente |
| <b>G</b>                | Autossomo de tamanho grande              |
| <b>GC</b>               | Guanina e Citosina                       |
| <b>HC</b>               | Heterocromatina constitutiva             |
| <b>M</b>                | Autossomo de tamanho médio               |
| <b>P</b>                | Autossomo de tamanho pequeno             |
| <b>PEV</b>              | Variação do efeito de posição            |
| <b>RNA</b>              | Ácido ribonucleico                       |
| <b>RNA<sub>r</sub></b>  | Ácido ribonucleico ribossomal            |
| <b>RON</b>              | Região Organizadora de Nucléolo          |
| <b>SS</b>               | Segmentos supernumerários                |
| <b>X</b>                | Cromossomo X                             |

## RESUMO

Os cromossomos de *Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum* (Ommexechidae) foram analisados através de técnica convencional, impregnação com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), bandeamento C, fluorocromos base específicos e hibridização *in situ* fluorescente (FISH). As duas espécies mostraram número diplóide  $2n=23,X0$  nos machos e cromossomos acrocêntricos, exceto o par 1 que apresentou morfologia submetacêntrica. O cromossomo X possui morfologia diferente nas duas espécies, sendo acrocêntrico médio em *O. virens* e submetacêntrico grande em *D. serrulatum*. O bandeamento C revelou blocos de heterocromatina constitutiva (HC) em todos os cromossomos de *D. serrulatum*. A coloração  $\text{CMA}_3/\text{DA}/\text{DAPI}$ , mostrou blocos de HC ricos em pares de base GC ( $\text{CMA}_3$  positivos) em alguns cromossomos do complemento das duas espécies. As regiões organizadoras de nucléolos (RONS) identificadas pelo  $\text{AgNO}_3$  foram localizadas em três bivalentes autossômicos de *O. virens* e quatro bivalentes de *D. serrulatum*. A técnica de FISH mostrou resultados coincidentes com o padrão de RONS ativas revelados pela coloração  $\text{AgNO}_3$  nas duas espécies. Esse trabalho apresenta os primeiros dados cromossômicos, obtidos por meio de técnicas citogenéticas diferenciais, em Ommexechidae, contribuindo para uma melhor caracterização da evolução cariotípica nessa família.

Palavras chave: Ommexechidae, Heterocromatina, RONS, FISH

## I-INTRODUÇÃO

Ommexechidae é uma família de gafanhotos endêmica da região Neotropical está constituída por duas subfamílias Aucacrinae e Ommexechinae; essa última possuindo oito gêneros, dentre eles *Ommexecha* e *Descampsacris* (Ronderos, 1979).

Do ponto de vista citogenético, Ommexechidae corresponde a uma família ainda pouco estudada. Até o momento, foram analisadas 19 espécies com predominância de número diplóide  $2n=23$ , cromossomos acrocêntricos e mecanismo sexual do tipo XO. O menor número diplóide foi descrito para *Ommexecha germari* ( $2n=21, XO$ ) e o maior para *Conometopus sulcaticolis* ( $2n=25, XO$ ). Por outro lado, a maioria das espécies analisadas cromossomicamente apresentam um bivalente autossômico submetacêntrico, cuja morfologia deve-se a ocorrência de inversão pericêntrica (Mesa *et al.*, 1982).

Algumas espécies de Ommexechidae apresentam cariótipo diferente do padrão frequentemente encontrado ( $2n=23, XO$ ). *Neuquenina ficator* possui número diplóide  $2n=22, XY$ , a maioria dos autossomos são acrocêntricos, sendo três deles metacêntricos-derivados. Outras espécies com cariótipos derivados são *Pachyossa signata* com  $2n=22$  mecanismo sexual XY, e todos os autossomos do complemento acrocêntricos e *Spathalium helios* com número diplóide  $2n=22$ , mecanismo sexual neo XY, autossomos acrocêntricos, cromossomo X metacêntrico e Y acrocêntrico (Mesa, 1961, 1964; Mesa *et al.*, 1982; 1990).

Análises cromossômicas usando técnicas diferenciais de identificação cariotípica são raras em Ommexechidae. Até o momento, *Spathalium hélios* (Mesa *et al.*, 1990) corresponde a única espécie, na qual foi descrita o padrão de bandejamento C.

Neste trabalho foram usadas técnicas especiais de análise cromossômica, para um estudo comparativo entre as espécies de gafanhotos *Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum* com a finalidade de identificar marcadores cariotípicos para uma melhor caracterização cromossômica de Ommexechidae.

## II.OBJETIVO GERAL

Analisar cromossomicamente as espécies *Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum*.

### II.1.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar as características cromossômicas numéricas e morfológicas e o mecanismo de determinação sexual através da coloração convencional;
2. Analisar comparativamente os padrões de distribuição da heterocromatina constitutiva (HC) e sua variabilidade, através do bandejamento C e do uso de fluorocromos bases específicos (CMA<sub>3</sub> e DAPI);
3. Identificar os cromossomos organizadores de nucléolos, através da impregnação com nitrato de prata e hibridização *in situ* fluorescente (FISH).
4. Contribuir para uma melhor caracterização cariotípica dentro da família Ommexechidae

### III. REVISÃO DA LITERATURA

#### III.1. Considerações gerais sobre taxonomia e distribuição geográfica

##### III.1.1 Superfamília Acridoidea (Orthoptera)

Os gafanhotos, em geral, são de hábitos terrestres e fitófagos, sendo algumas espécies pragas de gramíneas e cultivares. Apresentam o corpo em forma cilíndrica e dividido em três segmentos: cabeça, tórax e abdômen. Possuem aparelho bucal do tipo mastigador, antenas filiformes, podem ser ápteros ou alados. Quando alados possuem dois pares de asas das quais as asas anteriores são endurecidas (tégminas) e as posteriores membranáceas. As pernas posteriores são, comumente, bem desenvolvidas, e por isso, chamadas saltatórias. A reprodução é sexuada e os ovos, preferencialmente, são colocados no solo, sobre folhas ou ramos. O desenvolvimento é hemimetabólico, ou seja, os indivíduos que eclodem dos ovos são ninfas, que ao longo das ecdises vão crescendo e adquirem asas na última muda, chegando ao estágio adulto (Gallo *et al.*, 2002; Pfadt, 2002).

Normalmente, a fêmea é maior que o macho, e esses são distinguidos através da análise da extremidade terminal do abdômen. Os machos possuem um complexo fálico, em forma de concha enquanto as fêmeas apresentam valvas genitais robustas e curtas, situadas em posição ventral em relação as placas anais (epiprocto e paraprocto) (Duranton *et al.*, 1987).

Carbonell (1977) dividiu a fauna acridomorfa Neotropical em três estratos, com base nas informações disponíveis sobre a história e a filogenia destes gafanhotos, além de conhecimentos geofísicos, paleogeográficos, estratigráficos, paleontológicos e climatológicos. O primeiro estrato é o mais antigo, com distribuição na região Neotropical e formado pelas famílias Ommexechidae, Romaleidae, Tristiridae e Proscopiidae. Seus antepassados pré-acridomorfos ou acridomorfos provavelmente estavam na parte sul-americana de Gondwana, antes da sua separação da Laurásia no final do Triássico. Ommexechidae e Romaleidae são as famílias mais modernas. O segundo estrato é o mais homogêneo e formado pelas cinco subfamílias de Acrididae Neotropicais (Leptysminae,

Ommatolampinae, Rhytidochrotinae, Proctolabinae e Copiocerinae). Essas subfamílias provavelmente são descendentes de uma linhagem primitiva de Acrididae, localizada originalmente na parte sul da América do Norte. Representantes deste grupo, posteriormente migraram para a América Central e norte da América do Sul (Guianas), dispersando-se pela bacia amazônica. Apesar de ser um grupo Neotropical, algumas espécies de Ommatolampinae e Leptysminae chegaram secundariamente à região Neártica. O terceiro estrato é o mais recente e heterogêneo, reúne o grupo arcaico de Eumastacidae, Pyrgomorphidae e os outros Acrididae não-Neotropical.

A região Neotropical apresenta uma ampla diversidade de espécies de gafanhotos, representada por diversas famílias. A estimativa atual para essa região indica mais de 2000 espécies descritas taxonomicamente (Amedegnato, 1974; Carbonell, 1977; 1995; 2002; 2004; Bentos-Pereira, 2006a; 2006b; Cigliano, 2007). Representantes da superfamília Acridoidea da região Neotropical foram reagrupados de acordo com a análise de genitália de machos e fêmeas, sendo divididos em seis famílias: Acrididae, Ommexechidae, Pauliniidae, Pyrgomorphidae, Romaleidae e Tristiridae.

Pyrgomorphidae teve sua origem no Triássico, antes da separação da Pangea, tem cinco gêneros e distribuição mundial. As famílias Tristiridae e Paulinidae são estritamente neotropicais com provável origem na América do Sul. Tristiridae comporta dezessete gêneros, sendo a família mais antiga desde a era Mesosóica. Pauliniidae, por sua vez, possui apenas dois gêneros (*Paulinia*, *Marellia*) com grande similariedade entre esses, provavelmente, devido a adaptação para ambientes aquáticos (Carbonell, 1977).

Acrididae está constituída por 10 subfamílias, dessas, cinco têm distribuição mundial (Acridinae, Cyrtacanthacridinae, Gomphocerinae, Melanoplinae e Oedipodinae) e cinco, Neotropical (Copiocerinae, Leptysminae, Ommatolampinae, Rhytidochrotinae e Proctolabinae) (Carbonell, 1977; Kevan, 1982).

Romaleidae é a segunda maior família Neotropical, compreende 80 gêneros e cerca de 200 espécies, agrupadas em três subfamílias: Romaleinae, Aucacrinae e Trybliophorinae. A maior parte de seus representantes está distribuída na região

Neotropical, enquanto no sul da região Neártica são registrados poucas espécies (Amedegnato, 1974; Carbonell, 1977).

Os gêneros *Chromacris* e *Xestotrachelus* (Romaleinae) foram revisados por Roberts e Carbonell (1982), tendo sido observada uma relação entre esses quanto as suas características morfológicas e distribuição exclusivamente Neotropical, ocorrendo desde o México até a Argentina. *Xestotrachelus* possui uma única espécie, *X. robustus* ocorrendo no Brasil, Bolívia e Paraguai. O gênero *Chomacris* foi dividido em dois grupos o primeiro chamado grupo trogon, que agrupa as espécies *C. trogon*, *C. psittacus*, *C. icterus* e *C. peruvianall* e o segundo chamado colorata com *C. colorata*, *C. minuata*, *C. miles*, *C. speciosa* e *C. nuptialis* (Roberts e Carbonell, 1982).

*Tropidacris* (Romaleinae) mostra uma ampla distribuição, ocorrendo desde o sudoeste do México até a região central da Argentina. Está representado por três espécies, *T. descampsi*, *T. collaris* e *T. cristata*, com a última apresentando três subespécies *T. c. cristata*, *T. c. dux* e *T. c. grandis*. Esse gênero se destaca por sua importância econômica sendo praga agrícola, atacando diferentes espécies cultivadas. Com relação a sua área de distribuição geográfica, *T. collaris* e *T. cristata* ocorrem em simpatria na maior parte da America do Sul (Carbonell, 1986).

O gênero *Radacridium* (Romaleinae), endêmico da região Nordeste do Brasil está representado por três espécies: *R. nordestinum* ocorre na Paraíba, Pernambuco e Bahia, enquanto *R. adamantinum* e *R. mariajoseae* ocorrem nos estados da Bahia e Pernambuco, respectivamente (Carbonell, 1996). Revisões recentes têm ampliado o conhecimento sobre taxonomia e distribuição geográfica dentro da família Romaleidae. Phaeopariini é uma tribo de Romaleinae constituída por 11 gêneros, 37 espécies e cinco subespécies, com distribuição geográfica predominante na região Amazônica (Carbonell, 2002).

De acordo com a revisão realizada por Carbonell (2004) o gênero *Xyleus* apresenta uma ampla distribuição geográfica, que abrange áreas do sudoeste do México, América Central, Colombia, Equador e Venezuela. Ao sul inclui o Brasil, Paraguai, Uruguai, parte da Argentina, Bolívia e Peru. Foram descritas 21

espécies dentro do gênero, dentre estas *Xyleus discoideus* apresenta cinco subespécies (*X. d. discoideus*, *X. d. angulatus*, *X. d. mexicanus*, *X. d. venezuelae*, *X. d. rosulentus*). A espécie *Xyleus discoideus angulatus* está amplamente distribuída na região Nordeste do Brasil.

### III.1.2 Família Ommexechidae

Ommexechidae está representada por 12 gêneros e cerca de 30 espécies taxonomicamente descritas (Ronderos, 1978; 1979; Mesa *et al.*, 1990) e encontra-se dividida em duas subfamílias: Aucacrinae representada por quatro gêneros (*Aucacris*, *Conometopus*, *Cumainocloidus* e *Neuquenina*) e Ommexechinae com oito gêneros (*Calcitrena*, *Clarazella*, *Descampsacris*, *Graea*, *Ommexecha*, *Pachyossa*, *Spathalium* e *Tetrixocephalus*) (Ronderos, 1979). A distribuição dessa família é bastante diversa na região Neotropical, estando a subfamília Aucacrinae em regiões montanhosas dos Andes (*Aucacris* e *Cumainocloidus*) ou a seus vales interiores (*Conometopus*), enquanto Ommexechinae se localiza em região de base das montanhas correspondendo às pradarias, savanas, bosques ou selvas (Ronderos, 1979). Os ommexechídeos são autóctones da América do Sul, com origem provável na região Andino-Patagônica com posterior radiação para o norte e nordeste, até a região Amazônica (Diniz Filho e Mesa, 1994). A Tabela 1 apresenta dados sobre representantes da família Ommexechidae e diferentes locais de ocorrência.

Diniz Filho e Mesa (1994) realizaram uma análise fenética de 12 espécies da família Ommexechidae. Nesse trabalho foram observadas as principais relações taxonômicas entre os gêneros através da análise de 57 caracteres, reunindo informações relacionadas especialmente com a morfologia externa, complexo fálico e dados cariológicos. Esse estudo ofereceu dados que contribuíram para um melhor conhecimento das relações taxonômicas entre os gêneros analisados. Aucacrinae está dividida em um agrupamento inicial entre os gêneros *Aucacris* e *Neuquenina* e, em um nível bem baixo de similaridade entre

*Conometopus* e *Cumainocloidus*. O baixo nível de ligação entre esses dois gêneros demonstra a formação de grupos isolados dentro dessa subfamília.

A única espécie do gênero *Descampsacris* foi descrita originalmente como *Spathalium serrulatum*, demonstrando uma proximidade entre os dois gêneros (Ronderos, 1979). *Clarazella* fica sendo o gênero mais próximo entre as duas subfamílias ligando-se a *Conometopus*, essa semelhança pode ser visualizada em função da morfologia externa do corpo, pois diferentemente dos demais gêneros esses não apresentam hábitos geofílicos (Diniz Filho e Mesa, 1994).

Ommexechinae era considerada, como um grupo primitivo dos “Criptosacci” (Roberts, 1941 apud Diniz Filho e Mesa, 1994) entretanto, pode-se notar uma insegurança com relação a estrutura hierárquica entre os oito gêneros. Há três grupos de ligações nessa subfamília, o primeiro com os gêneros *Spathalium* e *Descampsacris*, seguida em nível inferior, da ligação com *Clarazella*. No outro grupo ocorre ligações entre *Tetrixocephalus* e *Calcitrena* e, em um nível inferior, uma ligação não resolvida desses com *Ommexecha* e *Graea*. O terceiro grupo distinto de Ommexechinae é formado por *Pachyossa* (Diniz Filho e Mesa, 1994). A revisão taxonômica realizada por Ronderos (1972) no gênero *Spathalium* reduziu o número de espécies de 13 para três (*S. helios*, *S. lirbermanni* e *S. audouini*).

Ommexechinae ocupa praticamente todo continente Sul Americano e no Brasil são encontrados quatro gêneros: *Clarazella*, *Descampsacris*, *Ommexecha* e *Spathalium* (Ronderos, 1979; Mesa et al., 1982). *Ommexecha* tem uma distribuição geográfica correspondendo a parte Norte do Trópico de Capricórnio, com sete espécies, sendo o gênero mais representativo de Ommexechinae. Esses insetos são delicados e mostram coloração variando entre castanho claro e escuro (Piza, 1952; Ronderos, 1978; 1979).

No Nordeste brasileiro, até o momento, foram observadas apenas duas espécies de Ommexechidae: *Ommexecha virens* Serville 1831 (= *O. servillei* Blanch) nos Estados do Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco e Bahia, e *Descampsacris serrulatum* (Thunberg 1824) coletada em Sergipe e Bahia. Essa última espécie também foi observada nos Estados do Amazonas e

São Paulo. Ambas as espécies estão distribuídas até o Norte do Paraguai (Mesa, 1963; Mesa e Ferreira 1977; Ronderos, 1979; Mesa *et al.*, 1982).

*Ommexecha virens* é um gafanhoto de tamanho pequeno variando de 1,5 cm (macho) a 2 cm (fêmea), com forma robusta, aspecto verrugoso, cor verde ou castanha, podendo ser áptero ou ter asas curtas (de tamanhos variados), deslocam-se principalmente por saltos e não por vôos, o que lhe dá uma baixa mobilidade. Esse gafanhoto vive em Cerrados, costuma estar em solos arenosos e terrenos abandonados. Sua principal alimentação é *Acanthospermum australe* (família das compostas) (Ronderos, 1979; Duranton *et al.*, 1987).

*Descampsacris serrulatum*, por sua vez, apresenta pequeno tamanho, com variação de 2.0 cm (machos) a 2.8 cm (fêmeas). Sua forma morfológica também é robusta, mostra predominância de cor castanha e possui asas longas, porém com pequena capacidade de vôos (comunicação pessoal).

**Tabela 1:** Subfamília, espécie e registro de ocorrência de representantes da família Ommexechidae

| Subfamília    | Gênero/Espécie                          | Registro de ocorrência                                               | Referências |
|---------------|-----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|-------------|
| Aucacracrinae | <i>Aucacris bullocki</i>                | Argentina, Chile                                                     | 4,5         |
|               | <i>A. eumera</i>                        | Chile                                                                | 4           |
|               | <i>Conometopus brevirostrum</i>         | Chile                                                                | 4           |
|               | <i>C. cristicollis</i>                  | Chile                                                                | 4           |
|               | <i>C. penai</i>                         | Chile                                                                | 4           |
|               | <i>C. sulcaticollis</i>                 | Chile                                                                | 4,5         |
|               | <i>C. ochraceus</i>                     | Chile                                                                | 4           |
|               | <i>Cumainocloidus cordillerae</i>       | Peru                                                                 | 4,5         |
|               | <i>Neuquenina fictor</i>                | Argentina                                                            | 4,5         |
| Ommexechinae  | <i>Calcitrena maculosa</i>              | Argentina                                                            | 4,5         |
|               | <i>Clarazella ampla</i>                 | Bolívia, Brasil                                                      | 4           |
|               | <i>C. bimaculata</i>                    | Argentina, Brasil, Paraguai                                          | 4,5         |
|               | <i>C. patagona</i>                      | Argentina                                                            | 4,5         |
|               | <i>C. quadrata</i>                      | Brasil                                                               | 4,5         |
|               | <i>Descampsacris serrulatum</i>         | Bolívia, Brasil, Colômbia, Paraguai                                  | 2,4,5       |
|               | <i>Graea horrida</i>                    | Argentina                                                            | 4,5         |
|               | <i>Ommexecha apolinari</i>              | Cordilheira dos Andes, Colômbia                                      | 3,4         |
|               | <i>O. brunneri</i>                      | Cordilheira dos Andes, Bolívia Colômbia, Equador Peru                | 3,4         |
|               | <i>O. germari</i>                       | Brasil (SP)                                                          | 1,3,5       |
|               | <i>O. giglio-tosi</i>                   | Argentina, Bolívia, Cordilheira dos Andes                            | 3,4         |
|               | <i>O. gracilis</i>                      | Brasil, Cordilheira dos Andes, Guianas, Venezuela                    | 3,4         |
|               | <i>O. macropterum</i>                   | Argentina, Bolívia, Brasil, Cordilheira dos Andes, Paraguai, Uruguai | 3,4,5       |
|               | <i>O. virens</i>                        | Argentina, Brasil, Bolívia, Cordilheira dos Andes, Paraguai, Uruguai | 3,4,5,      |
|               | <i>Pachyossa signata</i>                | Argentina                                                            | 4,5         |
|               | <i>Spathalium audouini</i>              | Argentina, Brasil, Uruguai                                           | 2,4,5       |
|               | <i>S. helios</i>                        | Brasil                                                               | 2,4,6       |
|               | <i>S. liebermanni</i>                   | Argentina, Brasil (SP)                                               | 2,4         |
|               | <i>Tetrixocephalus bilineatus</i> n.sp. | Argentina, Chile                                                     | 4           |
|               | <i>T. chilensis</i>                     | Chile                                                                | 4,5         |
|               | <i>T. micropterum</i>                   | Chile                                                                | 4,5         |
|               | <i>T. sergioi</i>                       | Chile                                                                | 4,5         |
|               | <i>T. willemsei</i>                     | Argentina, Chile                                                     | 4,5         |

Autores: 1- Pizza (1952); 2- Ronderos, (1972); 3- Ronderos, (1978); 4- Ronderos, (1979); 5- Mesa et al., (1982); 6- Mesa et al., (1990)

### III.2. Aspectos citogenéticos em gafanhotos Neotropicais

Mesa *et al* (1982) publicaram um trabalho de referência, listando dados cromossômicos de 290 espécies pertencentes a superfamília Acridoidea da Região Neotropical. Dentre as espécies apresentadas por Mesa *et al* (1982) 214, pertencem a família Acrididae, 45 a Romaleidae e 18 a Ommexechidae. Do ponto de vista citogenético ocorreu uma predominância de número diplóide  $2n=23$ , mecanismo XO de determinação do sexo e cromossomos acrocêntricos. Entretanto, cariótipos derivados decorrentes de rearranjos cromossômicos do tipo fusões cêntricas e inversões ocorreram em algumas espécies, particularmente na subfamília Melanoplinae (Acrididae). A porcentagem de cariótipos derivados em acridoideos Neotropicais e de outras regiões é similar, embora os mecanismos de determinação sexual do tipo neo-XY e  $X_1X_2Y$  ocorram com maior frequência em espécies Neotropicais.

*Dichroplus* (Melanoplinae) corresponde ao gênero no qual foram observadas diferentes espécies com cariótipo derivado. São exemplos *Dichroplus fuscus* ( $2n=19,X0$ ;  $2n=20,XX$ ), *D. maculipennis* ( $2n=22,XY$ ;  $2n=22,XX$ ), *D. pratensis* ( $2n=19,X0$ ;  $2n=20,XX$ ) e *D. vittatus* ( $2n=19,X0$  e  $2n=20,XX$ ;  $2n=18,XY$ ;  $2n=18,XX$ ). *Dichroplus silveiraguidoi* ( $2n=8,XY$ ;  $2n=8,XX$ ) representa a espécie com o menor número cromossômico para Acridoidea (Mesa *et al.*, 1982). Esse baixo número diplóide é resultante de uma série de fusões múltiplas, inversões pericêntricas e fusões em tandem a partir de um provável ancestral com  $2n=23,X0$  (Cardoso *et al.*, 1974). *Dichroplus pratensis* é polimórfica para fusões Robertsonianas dentro da sua área de distribuição, particularmente na América do Sul. Várias raças cromossômicas e zonas híbridas têm sido identificadas para essa espécie. Em *D. pratensis* o cariótipo padrão é  $2n=19,X0$  com cromossomos telocêntricos. A partir desse cariótipo ocorreu um complexo de oito fusões robertsonianas polimórficas envolvendo seis grandes autossomos. Estudos meióticos mostraram que esses rearranjos, afetam fortemente a frequência e distribuição de quiasmas (Bidau, 1990, 1996; Marti e Bidau, 2001). Um cromossomo B instável que afeta a frequência de quiasmas também foi observado nessa espécie (Bidau, 1987).

A espécie *Dichroplus elongatus*, coletada em diferentes populações da Argentina, apresentou amplo polimorfismo para segmentos extras e cromossomo B. Foram analisadas as frequências do cromossomo B e segmentos extras no bivalente  $M_6$ ,  $S_9$  e  $S_{10}$ , respectivamente. Ambos os polimorfismos afetaram a frequência e distribuição de quiasmas. O cromossomo B também afeta a fertilidade dos machos. Os dados obtidos mostraram adicionalmente, os efeitos desses polimorfismos sobre caracteres morfométricos. Por exemplo, indivíduos portadores de B apresentaram uma diminuição no tamanho do corpo, enquanto que os segmentos extras do  $M_6$  acarretaram um aumento no tamanho do corpo. Também foi observado que a ocorrência do cromossomo B em fêmeas foi mais alta quando comparado com indivíduos machos (Rosetti *et al.*, 2007).

Trabalhos citogenéticos, envolvendo as diferentes subfamílias de Acrididae, têm ampliado o número de polimorfismo em diferentes de espécies analisadas. Dentro de Leptysminae, *Leptysma argentina* representa uma espécie com alto grau de polimorfismo cariotípico. Esse polimorfismo está caracterizado por fusão cêntrica, entre os pares 3 e 6 do complemento cromossômico básico ( $2n=21$ , XO). Por outro lado, segmentos extras heterocromáticos e cromossomo B têm sido observados em diferentes populações analisadas (Bidau e Hasson, 1984; Colombo, 1993). As fusões cêntricas observadas em *L. argentina* afetam características morfométricas em machos e fêmeas dessa espécie (Colombo *et al.*, 2003).

Inversões pericêntricas têm papel importante na variabilidade cariotípica de algumas espécies de Leptysminae. *Sinipta dalmini* mostrou polimorfismo para inversões pericêntricas envolvendo os cromossomos  $M_4$  e  $M_7$ . Esse tipo de rearranjo cariotípico acarretou a formação de macro e micro espermatídes, além de afetar caracteres morfométricos como redução de tamanho do corpo em indivíduos homozigotos. Por outro lado, fusão cêntrica entre o cromossomo  $M_5$  e o X determinou a formação de um sistema sexual neoXY nessa espécie. Macro e microespermatídes também foram observadas nos indivíduos portadores da fusão (Remis, 1990;1993). Um cromossomo B mitoticamente instável e com morfologia similar ao cromossomo X foi observado em *S. dalmani* (Colombo e Remis, 1997).

Em *Belosacris coccineipes* (Loreto e Souza, 2000) foi observado o cariótipo padrão com número diplóide  $2n=23,X0$  e cromossomos acro-telocêntricos descritos para Leptysminae. Rocha *et al* (2004) descreveram os cariótipos de cinco espécies dessa subfamília, todas com  $2n=23,X0$ . Dentre as espécies analisadas *Stenopola dorsalis* apresentou um cromossomo B com tamanho e padrão heteropicnótico similar ao cromossomo X. Um cromossomo B, denominado iso-B também foi observado em *Cylindrotettix obscurus* (Colombo e Remis, 1997).

*Abracris flavolineata* (Ommatolampinae) apesar de apresentar número diplóide  $2n=23,X0$  similar a maioria de Acridoidea mostrou cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e subtelo-cêntricos. Foi sugerido que esse padrão atípico pode ser resultante de adição de heterocromatina constitutiva além de inversão pericêntrica. Nessa espécie também foi observada a presença de cromossomo B (Cella e Ferreira, 1991). Em *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acridinae) foi observado um iso-cromossomo B de grande tamanho e morfologia metacêntrica. Esse cromossomo foi encontrado em diferentes populações dessa espécie. Seu comportamento meiótico acarreta um aumento significativo da produção de esperma anormal, além de induzir um aumento na frequência de quiasma (Pastori e Bidau, 1994; Grieco e Bidau, 2000).

*Podisma* representa um gênero de Acrididae com uma grande diversidade de cromossomos B. Em *P. sapporensis* ocorreu uma variação no número de cromossomos B em diferentes populações analisadas. Nessa espécie, o B tem sido classificado em cinco morfotipos de acordo, principalmente, com o seu tamanho e morfologia (Warchalowska-Sliwa *et al.*, 2001). Uma análise comparativa entre cromossomos B de *P. sapporensis* e *P. kanoi* foi realizada por Brugov *et al* (2007). Os resultados indicaram que todos os cromossomos B encontrados nas diferentes populações de *P. kanoi* corresponde a um único morfotipo, sendo acrocêntrico e de tamanho médio. Os dados obtidos sugerem fortemente uma origem independente de cromossomos B nas duas subespécies de *Podisma*.

*Schistocerca* representa um gênero de Acrididae com grande número de espécies e subespécies, com distribuição nas Américas. Entretanto, apesar dessa

ampla distribuição apenas quatro espécies (*S. cancellata*, *S. paranensis*, *S. pallens* e *S. flavolineata*) foram analisadas cromossomicamente. Essas espécies apresentaram número diplóide  $2n=23$ , cromossomos acrocêntricos e mecanismo XO de determinação do sexo (Mesa *et al.*, 1982, Souza e Melo, 2007).

Dados citogenéticos têm comprovado uma conservação cariotípica e predominância de cariótipos com número diplóide  $2n=23,XO$  e cromossomos acro-telocentricos em Romaleidae (Mesa *et al.*, 1982). Nas últimas três décadas diferentes espécies de romaleídeos tem sido caracterizadas cromossomicamente. Vilardi (1986) descreveu o cariótipo de *Zoniopoda tarsata* ( $2n=23,XO$ ), onde foram analisadas amostras de diferentes populações da Argentina sendo observado um polimorfismo para cromossomo B. Análise cariotípica de *Xyleus angulatus* revelou número diplóide de  $2n=23,XO$  e cromossomos acrocêntricos. Essa espécie é bastante polimórfica quanto a ocorrência de segmentos extras heterocromáticos. Análise de células meióticas de indivíduos portadores desse tipo de segmento mostrou uma diminuição na frequência média de quiasma por célula, além de mudança intra e inter-cromossômica na distribuição de quiasma. Por outro lado, essa espécie apresenta um amplo polimorfismo, para um cromossomo B de tamanho médio e comportamento heteropicnótico similar ao cromossomo X (Souza e Silva Filha, 1993; Souza e Kido, 1995).

*Brasilacris gigas*, *Chromacris speciosa* e *C. nuptialis* são três espécies de romaleídeos Neotropicais que apresentam similaridades cariotípicas com relação ao número diplóide de  $2n=23,XO$  e presença de cromossomo acrocêntricos. Entretanto, em *C. nuptialis* foi detectada irregularidades meióticas envolvendo o bivalente  $G_2$ , que revelou retardo anafásico, além de uma atípica formação de ponte anafásica com união de cromátides homólogas (Souza e Kido, 1995; Loreto *et al.*, 2005).

Rocha *et al.* (1997) descreveram os cariótipos de duas espécies de *Radacridium*. Esse gênero é endêmico da região nordeste do Brasil apresentando uma ampla distribuição geográfica. *Radacridium nordestinum* e *R. mariajoseae* apresentaram número diplóide de  $2n=23,XO$  e cromossomos acrocêntricos. O cromossomo X é de tamanho médio em ambas as espécies, sendo similar ao par

3. Por outro lado, foi observado que o bivalente  $M_9$  tem padrão heteropicnótico positivo durante a prófase I da meiose, sendo considerado como cromossomo megamérico e servindo como um marcador dentro do cariótipo do gênero *Radacridium*.

Dados cariótipicos de *Phaeoparia megacephala* mostraram similaridade com o padrão típico de Romaleidae correspondendo ao cariótipo  $2n=23,XO$  e cromossomos acrocêntricos (Pereira e Souza, 2000). *Staleochlora fruhstorferi* e *Agriacris jucunda* são duas espécies taxonomicamente relacionadas e também mostraram cariótipos com  $2n=23,XO$  e cromossomos acrocêntricos como a grande maioria dos romaleídeos (Mesa *et al.*, 2004). *Xestotrachelus robustus* apresenta número diplóide  $2n=23,XO$ , cromossomos com morfologia acrocêntrica para bivalentes grandes e médios. Com relação aos bivalentes, os pares pequenos  $P_9$  e  $P_{10}$  foram meta-submetacêntricos e o  $P_{11}$  acrocêntrico. Os pares  $P_9$  e  $P_{10}$  estão estabelecidos no cariótipo e resultam de prováveis inversões pericêntricas. Adicionalmente, essa espécie apresentou polimorfismo para inversão pericêntrica do par  $M_8$ . Análise de indivíduos provenientes de diferentes populações mostrou a inversão do par  $M_8$  em condição homozigota e heterozigota (Souza *et al.*, 2003).

Ommexechidae representa um grupo de gafanhotos ainda pouco estudado citogeneticamente. A Tabela 2 mostra dados cariotípicos em representantes dessa família. Segundo Mesa *et al* (1982) o cariótipo predominante para a família é  $2n=23,XO$  com cromossomos acrocêntricos. Entretanto, em 16 das 20 espécies estudadas foi observado um par autossômico submetacêntrico (Piza, 1952; Mesa, 1956; Mesa, 1961; Mesa, 1963; Mesa, 1964; Mesa, 1973; Mesa e Ferreira, 1977; Mesa *et al.*, 1982; Mesa *et al.*, 1990). Tem sido proposto que esse cromossomo com dois braços é derivado de um cariótipo ancestral no qual ocorreu uma inversão pericêntrica envolvendo o maior par do complemento cariotípico (Mesa e Ferreira, 1977).

Um dos primeiros estudos citogenéticos em representantes da família Ommexechidae foi realizado por Piza (1952), que analisou as espécies *Ommexecha germari* e *O. servillei*, e referiu-se apenas ao número cromossômico de ambas,  $2n=21,XO$ , e  $2n=23,XO$ , respectivamente. *O. servillei* foi também

estudada por Mesa (1956; 1963) e teve, adicionalmente, sua morfologia descrita como: 10 pares de autossomos acrocêntricos, um par metacêntrico e um cromossomo sexual livre. Por outro lado, Mesa e Ferreira (1977) redescreveram *O. servillei* cariotipicamente como  $2n=23, XO$ , número fundamental (NF) = 25 e dois cromossomos submetacêntricos. Ronderos (1978) revisou o gênero *Ommexecha* e estabeleceu as seguintes sinonímias: *O. servillei* Blanchard e *O. germari* Burmeister = *O. virens* Serville; *O. caeruleans* Bolívar = *O. macropterum* Blanchard e *O. walkeri* Kevan = *O. gracilis* Walker. Dessa forma, *O. servillei* passou a ser chamado de *O. virens*.

Mesa (1961) descreveu o cariótipo de *Neuquenina fictor*, com número diplóide  $2n=22, XY$  constituído por três cromossomos metacêntricos e 19 acrocêntricos, e sistema sexual do tipo XY. Inversões pericêntricas foram propostas para explicar a origem dos autossomos metacêntricos. Dez espécies de Ommexechidae foram analisadas cromossomicamente por Mesa (1963) dentre essas, oito apresentaram um par de cromossomos submetacêntricos. Esse cromossomo originou-se através de inversão pericêntrica. Por outro lado, em *Clarazella bimaculata* não foi observado nenhum elemento cariotípico submetacêntrico.

*Pachyossa signata* também foi analisada e apresentou número diplóide de  $2n=22, XY$ . Todos os autossomos foram acrocêntricos com destaque para o bivalente 1, por seu grande tamanho. O mecanismo de determinação do sexo foi do tipo XY. Foi sugerido que a origem do cromossomo X ocorreu através de fusão entre o primitivo X e um pequeno autossomo. O cromossomo Y é o menor elemento do cariótipo. Adicionalmente, essa espécie não mostrou o par de cromossomos submetacêntricos típico da família Ommexechidae. Provavelmente um cromossomo submetacêntrico sofreu uma nova inversão pericêntrica restabelecendo a morfologia acrocêntrica original do par 1 (Mesa, 1963, 1964).

Mesa (1963) analisou a espécie *Descampsacris serrulatum*, no entanto, referiu-se a essa como *Spathalium* sp. B (ver revisão de Ronderos, 1972). Sua análise cariotípica mostrou número diplóide  $2n=23$ , mecanismo sexual do tipo XO, NF=25 e dois cromossomos metacêntricos. Contudo Mesa e Ferreira (1977)

redescreveram os cromossomos com dois braços de *D. serrulatum*, atribuindo a esses morfologia submetacêntrica.

Mesa (1973) analisou diferentes espécies pertencentes aos gêneros *Aucacris*, *Tetrixocephalus* e *Conometopus*. *Aucacris bullocki* mostrou número diplóide de  $2n=23,X0$ . Todos os cromossomos do cariótipo foram acrocêntricos, exceto o par 1, o maior do complemento e com morfologia submetacêntrica. *Tetrixocephalus chilensi* e *T. micropterum* também apresentaram número diplóide de  $2n=23,X0$ . O par 1 foi submetacêntrico e os demais cromossomos do complemento cariotípico foram acrocêntricos. Por outro lado, em *T. willemsei* foi observado número diplóide  $2n=22$  com mecanismo de determinação do sexo do tipo neo XY. Nove pares de autossomos foram acrocêntricos e o par 1, como em outras espécies de Ommexechidae, mostrou morfologia submetacêntrica.

Análises cariotípicas de novas espécies de Ommexechidae foram realizadas por Mesa e Ferreira (1977). Foram estudadas *Calcitrena maculosa*, *Graea horrida* e *Ommexecha macroptera*, todas com cariótipos do tipo  $2n=23,X0$ , cromossomos acrocêntricos e o par 1 submetacêntrico. Entretanto, *T. willemsei* mostrou número diplóide com  $2n=22, XY$  (Mesa 1973).

Mesa e Ferreira (1977) e analisaram o cariótipo de *Spathalium audouini* que apresentou número diplóide de  $2n=22$ , neo XY, com o par 1 submetacêntrico e os demais autossomos acrocêntricos. Ambos os cromossomos sexuais foram metacêntricos. *Spathalium helios*, por sua vez, foi analisada cromossomicamente por Mesa *et al.* (1990) mostrando número diplóide de  $2n=22$ , neoXY, com o cromossomo X metacêntrico e o Y acrocêntrico. Ambas as espécies possuem mecanismo de determinação sexual do tipo neo-XY, o que sugere uma origem comum do mesmo por meio de uma única fusão ancestral X-autossomo. A diferença na posição do centrômero do Y é devido a fusão pericêntrica em reforça os argumentos a favor do *status* específico para *S. helios*, questionado por causa da grande variabilidade morfológica entre espécimes de *S. audouini* (Mesa *et al.*, 1990).

**Tabela 2:** Cariótipo, morfologia cromossômica e número fundamental de representantes de Ommexechidae

| Espécie                           | Formúla<br>Cariotípica<br>$\sigma, \phi$ | Morfologia<br>cromossômica | Número<br>Fundamental | Referências |
|-----------------------------------|------------------------------------------|----------------------------|-----------------------|-------------|
| <i>Aucacris bullocki</i>          | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 4,6,7,8     |
| <i>Calcitrena maculosa</i>        | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 7,8         |
| <i>Clarazella bimaculata</i>      | 23,24 - XO,XX                            | ac.                        | 23                    | 4,7,8       |
| <i>C. patagona</i>                | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm+ ac               | 25                    | 4,7,8       |
| <i>Conometopus sulcaticollis</i>  | 25,26- X0,XX                             | ac.                        | 25                    | 6,7,8       |
| <i>Cumainocloidus cordillerae</i> | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 4,5,7,8     |
| <i>Descampsacris serrulatum</i>   | 23,24 - XO,XX                            | 1 par m + ac               | 25                    | 4,7,8       |
| <i>Graea horrida</i>              | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 7,8         |
| <i>Neuquenina fictor</i>          | 22,22 - XY,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 3,4,7,8     |
| <i>Ommexecha germari</i>          | 21,22 - XO,XX                            | ND                         | ND                    | 1,7,8       |
| <i>O. macroptera</i>              | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 7,8         |
| <i>O. virens</i>                  | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 1,2,4,7,8   |
| <i>Pachyossa signata</i>          | 22,22- XY,XX                             | ac.                        | 23                    | 4,7,8       |
| <i>Spathalium audouini</i>        | 22, neoXY                                | 1 par sm + ac              | 26                    | 4,7,8,9     |
| <i>Spathalium helios</i>          | 22, neoXY                                | 1par sm + ac               | 25                    | 9           |
| <i>Tetrixocephalus chilensis</i>  | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 6,7,8       |
| <i>T. micropterus</i>             | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 6,7,8       |
| <i>T. sergioi</i>                 | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 6,7,8       |
| <i>Tetrixocephalus</i> sp. n.*    | 23,24 - XO,XX                            | 1 par sm + ac              | 25                    | 7,8         |
| <i>T. willemsei</i>               | 22,22 -- XY,XX                           | 1 par sm + ac              | 25                    | 4,6,7,8     |

**ac**=acrotelocêntrico; **m**=metacêntrico;**sm**=submetacêntrico; **ND**= não descrita; + **ac**= demais acrotelocêntricos

\* (*Tetrixocephalus* sp. n. = *T. bilineatus* n sp. – Ronderos, 1979)

**Autores:** 1-Piza (1952); 2- Mesa, (1956); 3- Mesa (1961); 4-Mesa (1963),5- Mesa (1964); 6- Mesa (1973);7- Mesa e Ferreira (1977); 8-Mesa et al. (1982); 9- Mesa et al. 1990).

### **III.3-Padrão Cromossômico de Distribuição de Heterocromatina Constitutiva**

O DNA genômico em células eucarióticas está associado a proteínas, histonas e não-histonas, para a formação da cromatina, que está classificada em eucromatina e heterocromatina. Em 1928, Emil Heitz observou um tipo de cromatina que permanecia condensada por quase todo o ciclo celular e se corava de forma intensa, e chamou-a de heterocromatina. O comportamento dessa contrastava com o da eucromatina que sofria um ciclo de condensação-descondensação; era menos corada e mais fácil de ser transcrita, contendo regiões de diferentes densidades gênicas. As principais características da heterocromatina são ausência ou rara atividade gênica; replicação tardia do DNA, ocorrendo no final do período S e manutenção da condensação durante todo o ciclo celular, dificultando o acesso a maquinaria de transcrição (Wallrath, 1998; Henikoff, 2000; Sumner, 2003; Dillon, 2004).

Compreender a estrutura, natureza e a funcionalidade da heterocromatina tem sido alvo de diversos estudos em diferentes grupos de fungos, vegetais e animais. A localização de genes na eucromatina é essencial para a sua expressão. Entretanto, apenas sua localização é insuficiente nesse processo, visto que somente uma parcela de seqüências eucromáticas é transcrita, dependendo do seu tipo celular e requisição no momento. Em contraste, a heterocromatina não é transcrita, sugerindo que a sua condensação está associada a inatividade ou, talvez, seja responsável pela mesma (Sumner, 2003; Dillon, 2004). Quando um gene muda de posição ficando adjacente à heterocromatina, ele pode se tornar inativo, como consequência da sua nova localização. Dessa forma, quanto mais próximo um gene estiver da heterocromatina, maior a chance de inativação. Esse processo pode ocorrer em duas etapas: um evento de nucleação ocorre em uma seqüência específica e, em seguida, a estrutura inativa propaga-se ao longo da cromátide. Esse tipo de inativação resulta de efeito epigenético (Grewal e Jia, 2007).

Os primeiros estudos sobre a heterocromatina, permitiram que Brown, em 1966, a classificasse em dois tipos: facultativa e constitutiva. Em um mesmo organismo, a heterocromatina facultativa (HF) se encontra condensada em

algumas células e descondensada em outras. Ocorre sob a forma de cromossomos inteiros inativados, e não apenas em blocos, em uma linhagem celular. O exemplo clássico de heterocromatina facultativa é a inativação de um cromossomo X em fêmeas de mamíferos. O X inativado é perpetuado no estado heterocromático, enquanto o X ativo é eucromático. A heterocromatina constitutiva (HC), por sua vez, apresenta-se predominantemente condensada em todas as células de um mesmo organismo, por gerações. Caracteriza-se por: (1) distribuir-se em blocos, os quais podem ocupar qualquer região do cromossomo (pericentromérica, proximal, intersticial, distal), embora se localizem, preferencialmente, em regiões pericentroméricas; (2) ocorrer no mesmo sítio em ambos os homólogos e (3) conter seqüências específicas de DNA altamente repetitivo (de quantidade de pares de bases e composição variadas), que em geral, não possuem funções codificadoras, contudo, seqüências moderadamente repetitivas também podem ser observadas (John *et al.*, 1985; Sumner, 1990; Sumner, 2003; Dillon, 2004; Stephens *et al.*, 2005).

Além da heterocromatina constitutiva padrão tem sido observado dois tipos de heterocromatina extra encontradas sob as formas de: (1) segmentos supernumerários (SS), localizados em cromossomos da espécie, ou (2) cromossomos extras ou B, para diferenciá-los dos cromossomos do complemento normal de uma espécie, denominados cromossomos A. Essas duas formas de heterocromatina supernumerária são freqüentes em diversos organismos, especialmente em gafanhotos (Camacho *et al.*, 2000). Os Bs são caracterizados por grande variação interindividual; comportamento citológico não mendeliano; falta de homologia com cromossomos A. Os SS mostram grande variabilidade em relação à localização (distal, intersticial, proximal), natureza (eucromática e heterocromática, na maioria) e tamanho dos segmentos (pequeno, médio, grande) (Jones e Rees, 1982).

A análise cromossômica da heterocromatina constitutiva tem sido realizada através de diversas técnicas: bandeamento C, coloração com fluorocromos base específicos e hibridização *in situ* fluorescente (FISH). Contudo, a técnica mais utilizada para o estudo da HC é o bandeamento C, desenvolvida por Sumner

(1972). A exposição do material biológico a uma solução básica, seguida por uma solução salina em temperatura elevada, permite diferenciar a HC (Sumner, 1972; 2003).

Muitos segmentos de heterocromatina contêm altos índices de seqüências repetitivas, podendo variar quanto a composição de pares de bases AT e GC, dentre e entre espécies. Para qualificar as diferentes classes da heterocromatina dentro de um genoma tem sido usados fluorocromos base específicos. As regiões ricas em pares de bases AT podem ser detectadas com DAPI (4'-6'-diamidino-2-pheylindole) e as GC, através de CMA<sub>3</sub> (Cromomicina A<sub>3</sub>) (John *et al.*, 1985; Bella e Gosálvez, 1991; Sumner, 2003).

Gafanhotos da superfamília Acridoidea, destacam-se por ter uma aparente conservação cariotípica, apesar da ocorrência de grande variabilidade em relação ao padrão de HC. Blocos de heterocromatina geralmente apresentam um padrão típico de distribuição para cada espécie ou população, embora ocorram variações inter e intra-específicas ao longo da evolução, o que torna a HC uma excelente ferramenta na distinção de espécies próximas (King e John, 1980; Santos *et al.*, 1983; Cabrero e Camacho, 1986).

Ommexechidae é uma família pouco estudada por meio de técnicas mais refinadas. Em relação aos estudos de heterocromatina constitutiva, a única espécie analisada, até o momento, foi *Spathalium helios*. Seu número cromossômico foi  $2n=22, \text{neo-XY}$ . Os cromossomos são acrocêntricos, excetuando o primeiro par que é submetacêntrico e o X, metacêntrico. O bandeamento C revelou HC na região pericentromérica de todos os autossomos, embora também seja encontrada em pequenos blocos teloméricos nos pares 7 e 8. Os cromossomos sexuais não apresentaram marcações (Mesa *et al.*, 1990). Por outro lado, Acrididae e Romaleidae são as famílias melhor estudadas citogeneticamente, através de técnicas diferenciais que permitem o estudo da HC. As duas famílias mostram certa uniformidade em relação ao número cromossômico e morfologia cromossômica ( $2n=23, \text{XO}^{\text{♂}}$  e  $2n=24, \text{XX}^{\text{♀}}$  com cromossomos acrocêntricos), porém divergem consideravelmente em relação ao

padrão de HC entre suas espécies (Souza e Kido, 1995; Rocha *et al.*, 1997, Rocha *et al.*, 2004; Souza e Melo., 2007).

Acrididae é a família com a maior concentração de espécies estudadas através do bandejamento C, englobando especialmente gafanhotos da região Paleártica. A análise de 47 espécies de acridídeos oriundos da Espanha mostrou distribuição pericentromérica e telomérica da HC, com raras bandas intersticiais, (Santos *et al.*, 1983). Em contraste, 23 espécies acridídeos australianas apresentaram grande quantidade de HC intersticial, além da pericentromérica (King e John, 1980). O estudo comparativo entre 20 espécies, pertencentes a oito gêneros da subfamília Gomphocerinae, demonstrou grande variação em relação a distribuição e tamanho de blocos de HC nos cromossomos. Blocos paracentroméricos de HC foram evidenciadas na maioria das espécies. Em *Chorthippus apicalis* esses blocos mostraram diferentes tamanhos: blocos grandes ( $G_1$ - $G_3$ ,  $M_6$  e  $P_8$ ), médios ( $M_7$ ) e pequenos ( $M_4$ ,  $M_5$  e  $X$ ). Marcações paracentromérica, intersticial e distal foram observadas em *Truxalis nasuta*, *Euchorthippus chopardi*, *Omocetus raymondi*, *Chorthippus nevadensis*, *C. vagans* e *C. brunneus*. O cromossomo X mostrou marcação paracentromérica na maioria das espécies e blocos intersticiais em *Euchorthippus chopardi*, *Omocetus raymondi* e *O. llorentae* e distal em *O. bolivari* (Cabrero e Camacho, 1986).

Em gafanhotos diferenças na quantidade e distribuição da HC entre espécies relacionadas são comuns (White, 1973; Hewitt, 1979). No gênero *Acrotylus* foram estudadas duas espécies *Acrotylus insubicus* e *A. patralis*, similares morfológicamente. O bandejamento C mostrou diferenças no padrão de marcação, ambas possuem blocos de HC paracentrôméricos em todos os cromossomos do complemento, entretanto *A. insubicus* tem adicionalmente blocos terminais nos pares  $M_6$ ,  $M_7$ ,  $M_8$  e  $M_9$  (Camacho e Cabrero, 1983).

A caracterização da HC, em acridídeos Neotropicais, tem sido realizada com regularidade nas duas últimas décadas, em especial no Brasil (Pernambuco) e Argentina. Em Acrididae, podemos destacar a subfamília Leptysminae com vários representantes. *Belosacris coccineipes*, por exemplo, apresenta HC pericentromérica em todo o complemento cromossômico (Loreto e Souza, 2000).

O mesmo padrão foi observado em *Stenacris xanthochlora* e *Tucayaca parvula* (Rocha *et al.*, 2004). *Cornops frenatum frenatum*, *C. aquaticum* e *Stenopola dorsalis*, além dos blocos pericentroméricos, apresentaram blocos distais (Rocha *et al.*, 2004). *Leptysma argentina*, por sua vez, revelou bandas pericentroméricas e intersticiais. Esse gafanhoto exibiu polimorfismo para a heterocromatina, com a presença de segmentos supernumerários, cromossomos B além de alterações estruturais do tipo fusão e translocação (Bidau e Hasson, 1984).

Duas espécies Neotropicais, da subfamília Cyrtacanthacridinae, *Schistocerca pallens* e *S. flavofasciata* apresentaram um padrão similar de distribuição pericentromérica da HC, em células meióticas. Entretanto, diferiram pela presença de um grande bloco distal de heterocromatina no par P<sub>9</sub>, em *S. flavofasciata* e por blocos intersticiais positivos para o CMA<sub>3</sub> nos pares M<sub>4</sub>, M<sub>5</sub> e M<sub>6</sub>, em *S. pallens*. Em células mitóticas embrionárias de *S. pallens* foi possível observar a presença de blocos intersticiais em dois pares autossômicos, por meio de bandeamento C (Souza e Melo, 2007).

Romaleidae é predominantemente Neotropical e representa a segunda maior família de Acridoidea. Entretanto, apenas nove espécies foram estudadas até o momento, em relação a variabilidade e heterogeneidade da HC: *Zoniopoda tarsata* (Vilardi, 1986), *Xyleus angulatus* (Souza e Silva-Filha, 1993; Souza e Kido, 1995), *Brasilacris gigas*, *Chromacris speciosa* e *C. nuptialis* (Souza e Kido, 1995; Loreto *et al.*, 2005), *R. mariajoseae*, *R. nordestinum* (Rocha *et al.*, 1997), *Phaeoparia megacephala* (Pereira e Souza, 2000). *Xestotrachelus robustus* (Souza *et al.*, 2003). A maioria das espécies apresentou HC pericentromérica em todos os cromossomos do complemento, exceto *Z. tarsata* com bandas intersticiais nos pares G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, G<sub>3</sub> e no cromossomo X e *R. mariajoseae* com bandas pericentroméricas apenas nos pares G<sub>1</sub>, P<sub>10</sub>, P<sub>11</sub>, proximal no G<sub>2</sub> e proximal, intersticial e distal no M<sub>9</sub>. *Phaeoparia megacephala* mostrou unicamente HC pericentromérica, entretanto, em *Chromacris speciosa* blocos intersticiais e teloméricos foram presentes em alguns cromossomos do cariótipo (Loreto *et al.*, 2005).

A HC extra sob a forma de segmentos supernumerários (SS) tem sido descrita em alguns acridídeos Neotropicais. *Zoniopoda tarsata* apresenta no par 11 em condição polimórfica. Esse segmento acarretou alteração na frequência de quiasma (Vilardi, 1986). Em *Radacridium nordestinum*, os SS estão presentes nos pares G<sub>3</sub>, M<sub>4</sub>, M<sub>6</sub> M<sub>7</sub>. A análise dessa HC evidenciou redistribuição de quiasmas sem alteração da frequência média por célula, no par 4 (Rocha *et al.*, 1997). Segmentos heterocromáticos também foram observados em *Xyleus angulatus*. Na população de Caruaru foram localizados nos pares M<sub>5</sub>, M<sub>6</sub> M<sub>7</sub> e no P<sub>11</sub>, enquanto na de Recife, um SS heterocromático estava associado a um segmento eucromático no P<sub>10</sub>. Esses polimorfismos resultaram em diminuição da frequência média de quiasmas (Souza e Silva-Filha, 1993).

No que se refere a HC extra sob a forma de cromossomos B podemos destacar algumas espécies. O gafanhoto *Leptysma argentina* mostrou polimorfismo para cromossomo B, em duas populações naturais (Bidau e Hasson, 1984). No gênero *Dichroplus*, os cromossomos B descritos para *D. elongatus* e *D. pratensis* exibiram efeitos sobre a frequência de quiasmas e a fertilidade (Bidau, 1987; Clemente *et al.*, 1994). Em *Metaleptea brevicornis adspersa*, Pastori e Bidau (1994) descreveram um isocromossomo B que influenciava a fertilidade, por meio do aumento da frequência de espermátides anormais. Souza e Kido (1995) relataram, em *Xyleus angulatus*, Bs quase inteiramente heterocromáticos apresentando mecanismo de acumulação, onde em cinco dos 18 indivíduos analisados o número variou entre um e dois Bs.

O uso de fluorocromos tem sido muito importante na caracterização da HC, permitindo analisar a heterogeneidade e a equilocidade desse material genômico. *Stenocatantops angustifrons*, por exemplo, possui toda a heterocromatina positiva para regiões ricas em AT (John *et al.*, 1985). Para regiões ricas em GC temos exemplos de espécies que apresentam toda a HC positiva para o CMA<sub>3</sub> como *Chorthippus parallelus parallelus*, *Chorthippus parallelus erythropus* (Gosalvez *et al.*, 1988; Bella *et al.*, 1993), *Cornops frenatum frenatum* (Rocha *et al.*, 2004), *Phaeoparia megacephala* (Pereira e Souza, 2000), *Xestotrachelus robustus* (Souza *et al.*, 2003) e *Xyleus angulatus* (Souza *et al.*,

1998). Entretanto, algumas espécies como *Belosacris coccineipes* (M<sub>6</sub>, P<sub>9</sub>-P<sub>11</sub>) (Loreto e Souza, 2000), *Cornops aquaticum* (M<sub>3</sub>, M<sub>5</sub> e P<sub>9</sub>), *Stenopola dorsalis* (M<sub>4</sub>-M<sub>8</sub>), *Stenacris xanthochlora* (M<sub>3</sub>, P<sub>9</sub> e P<sub>10</sub>) e *Tucayaca parvula* (M<sub>3</sub>, P<sub>9</sub> e P<sub>10</sub>) (Rocha *et al.*, 2004), mostraram apenas três a quatro cromossomos com blocos ricos em GC. No gênero *Chromacris* o número de cromossomos que se coram positivamente com CMA<sub>3</sub> é ainda menor. Em *C. nuptialis* o par M<sub>6</sub> mostra apenas um bloco pericentromérico, enquanto em *C. speciosa* o par M<sub>6</sub> apresenta bloco proximal, evidenciando a diferença de posição. Adicionalmente, essa última espécie exibe bloco telomérico no par G<sub>2</sub> (Loreto *et al.*, 2005).

### **III.4-Padrão Cromossômico de Distribuição das Regiões Organizadoras de Nucléolos**

O nucléolo representa um importante componente nucleolar em organismos eucariotas. Análise ultra-estrutural tem revelado cinco diferentes tipos de componentes nucleolares representados pelo centro fibrilar, componente fibrilar denso, componente granular, vacúolo nucleolar e também por cromatina específica associada ao nucléolo (Sumner, 2003). Em células de eucariotas o ciclo nucleolar é bastante diversificado. Durante a intérfase o nucléolo está presente e com atividade na célula, e vai desaparecendo no decorrer da divisão celular. Ao longo deste processo a telófase corresponde a fase, na qual um novo nucléolo é formado, fechando o ciclo nucleolar (Sumner, 1990, 2003).

Em eucariotos as regiões organizadoras de nucléolos (RONs), são áreas cromossômicas, nas quais os genes de DNA ribossômico (DNAr) estão localizados. Durante a intérfase, ocorre no núcleo celular a síntese de RNAr e o nucléolo é formado. Nesses organismos têm sido descritos quatro tipos diferentes de RNAr 5S, 5.8S, 18S e 28S designados pelos seus respectivos coeficientes de sedimentação. Com exceção do RNAr 5S, todos os outros são transcritos por genes localizados nas RONs. Em eucariotas superiores genes 5S e 45S frequentemente estão localizados em diferentes cromossomos dentro do genoma (Sumner, 2003).

Diferentes métodos tem sido usados para localizar cromossomicamente as RONS. A impregnação com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), técnica desenvolvida inicialmente por Goodpasture e Bloom (1975), tem permitido a visualização, em diferentes organismos, tanto de nucléolos como de RONS. Esse tipo de coloração tem sido mais frequentemente usada, por conta de sua alta especificidade em identificar o padrão e distribuição das RONS. Contudo, a marcação de RONS através do uso dessa técnica está restrita as regiões funcionalmente ativas na intérfase precedente (Goodpasture e Bloom, 1975; Sumner, 1990; 2003).

A hibridização *in situ* fluorescente (FISH), por outro lado, representa um método não isotópico para identificação de diferentes regiões cromossômicas. Esse método permite diferentes aplicações, com destaque para a construção de mapas físicos de cromossomos, identificação de rearranjos cromossômicos e análise de estrutura, função e evolução cariotípica em diferentes organismos. A FISH também tem sido bastante utilizada, para estudo de regiões organizadoras de nucléolos (RONS) em diferentes organismos, permitindo a identificação de sítios de DNAr independentes de sua atividade (Drowim e Monez de Sá, 1995; López-León, 1995).

O padrão cromossômico de distribuição e a localização de RONS em gafanhotos tem mostrado variabilidade, especialmente interespecífica. Nesse grupo de organismos as RONS ativas apresentam padrão diferenciado de distribuição. Esses sítios de DNAr podem ter localização somente em autossomos (*Locusta migratoria*, *Schistocerca gregaria*, *S. pallens*, *S. flavolineata*, *Cornops aquaticum*, *C. frenatum*, *Stenopola dorsalis*); restritas ao cromossomo X (*Euchorthippus chopardi*, *Stenobothrus festivus*, *Radacridium mariajoseae*) e presentes tanto em autossomos como no X (*Melanopelus frigidus*, *Eyprepocnemis plorans*, *Xyleus angulatus*) (Fox e Santos., 1985; Rufas *et al.*, 1985; Rocha *et al.*, 1997; Rocha *et al.*, 2004).

O uso de impregnação  $\text{AgNO}_3$  em gafanhotos tem permitido a análise de diferentes estruturas de cromossomos meióticos, como complexo sinaptonêmico, cinetócoros, cores (esqueleto cromossômico constituído por proteínas não histônicas) e centríolos adjuntos (CAs) das espermátides. Nas espermátides CA

representa uma estrutura basal que envolve o flagelo, podendo ser usado na análise do nível de ploídia da célula. As espermatídes normais apresentam apenas um CA e as anormais podem apresentar dois ou mais CAs (Rufas *et al.*, 1982, 1987). Em gafanhotos também têm sido observadas dois tipos distintos de RONS: aquelas denominadas primárias que mostram atividades em todas as células do indivíduo e as RONS secundárias, consideradas dispensáveis e portanto, ativas em apenas algumas células do indivíduo (Santos *et al.*, 1990).

Acrididae representa uma família de gafanhotos, com grande número de espécies analisadas quanto ao padrão de distribuição de RONS. Rufas *et al* (1985) descreveram o padrão de RONS marcadas pelo  $\text{AgNO}_3$  em 21 espécies de acridídeos. Os resultados mostraram diversidade de padrão, onde a maioria das espécies apresentou sítios de DNAr restritos aos autossomos, como em *Pyrgomorpha conica*, *Podisma pedestris*, *Chorthippus binotatus*, *C. jucundus*, *C. panteli*. Somente quatro espécies (*Eyprepocnemis plorans*, *Melanoplus frigidus*, *Ramburiella hispanica* e *Gomphocerus sibiricus*) apresentaram RONS associadas a autossomos e cromossomos X.

Duas espécies do gênero *Dociostaurus* apresentaram padrão diferencial de localização de RONS, quando analisadas pela coloração de  $\text{AgNO}_3$ . Em *D. jagoi* os remanescentes nucleolares foram localizados na região intersticial do bivalente  $G_1$  e centromérica em um pequeno bivalente. *D. genei*, por sua vez, mostrou RONS localizadas nas regiões centroméricas de dois bivalentes pequenos (Rodriguez-Inigo *et al.*, 1993). A análise de RONS em indivíduos provenientes de uma zona híbrida entre *Chorthippus paralellus paralellus* e *C. p. erythropus* revelou diferenças entre as duas subespécies. Foi observada a presença de uma RON ativa distal no cromossomo X de *C. p. paralellus*, enquanto que em *C. p. erythropus* a RON foi localizada na região intersticial do X (Bella *et al.*, 1993).

O uso combinado da impregnação  $\text{AgNO}_3$  com a FISH tem fornecido dados importantes sobre o padrão de localização e atividade de RONS. Em *Stauroderus scalaris*  $\text{AgNO}_3$  revelou uma única RON ativa na região paracentromérica do bivalente  $G_3$ . Entretanto, uma ampla quantidade de sítios de DNAr inativos foram observados, através da FISH, em indivíduos provenientes de duas populações. As

marcações foram detectadas em regiões paracentroméricas de todos os cromossomos do complemento cariotípico (López- León *et al.*, 1999). *Chorthippus brunneus* e *C. jacobsi* mostraram pouca diferenciação quanto ao padrão de RONS visto pela FISH. As duas espécies mostraram sítios de DNA<sub>r</sub> localizados nos braços curtos dos bivalentes G<sub>2</sub> e G<sub>3</sub>. Contudo, *C. brunneus* apresentou uma RON adicional localizada na região distal do cromossomo X. Foi verificado que esse sítio não é transcrito, sugerindo tratar-se de um sítio ancestral de RONS dentro do gênero *Chorthippus* (Bridle *et al.*, 2002).

De acordo com Cabrero *et al* (2002) o padrão de distribuição de sítios de DNA<sub>r</sub> em gafanhotos da subfamília Eyprepocnemidae foi variável. Esse padrão foi caracterizado em *Thisoicetrimus valentes plerostichus* (bivalente P<sub>9</sub>), *Heteracris adspersa* (M<sub>8</sub> e P<sub>11</sub>), *Schirakiacris shirakii* (bivalentes P<sub>9</sub>, P<sub>10</sub> e P<sub>11</sub>), *Eyprepocnemis unicolor* (bivalentes P<sub>9</sub> e P<sub>11</sub>). Por outro lado, em *E. plorans* da região dos Caucasos o padrão de marcação foi nos bivalentes P<sub>9</sub> e P<sub>11</sub>. Esta espécie apresentou variação no número e localização de sítios de DNA<sub>r</sub>, vistos pela FISH, quando diferentes populações da Espanha e Marrocos foram analisadas (López- León *et al.*, 1995; Bakkali *et al.*, 2001).

O padrão de distribuição de RONS marcadas pela coloração AgNO<sub>3</sub> (Ag-RONS) foi analisada em diferentes espécies de Leptysminae. Apesar de possuírem o mesmo número diplóide 2n=23, X0 as cinco espécies analisadas mostraram diferenciação no padrão de quantidade e distribuição das RONS. *Cornops aquaticum* e *C. frenatum frenatum* apresentaram marcações nos bivalentes M<sub>3</sub>, M<sub>5</sub> e P<sub>9</sub>. *Stenopola dorsalis* nos bivalentes M<sub>5</sub> e M<sub>6</sub> e *Stenacris xanthochlora* e *Tucayaca parvula* nos pares M<sub>8</sub>, P<sub>9</sub> e P<sub>10</sub> (Rocha *et al.*, 2004). Dados cariotípicos recentes, de duas espécies do gênero *Schistocerca* revelaram padrões distintos de localização das RONS. *Schistocerca pallens* apresentou RONS nos bivalentes M<sub>5</sub> e M<sub>6</sub>, enquanto que em *S. flavofasciata* esse sítio de DNA<sub>r</sub> foi restrito ao M<sub>5</sub> (Souza e Melo, 2007).

Diferentes espécies da família Romaleidae têm sido analisadas com relação ao padrão de distribuição das regiões organizadoras de nucléolos (RONS) através da coloração de AgNO<sub>3</sub> e FISH. *Radacridium nordestinum* possui RONS

localizadas na região intersticial do bivalente  $G_2$ . Padrão diferente foi observado em *R. mariajoseae*, na qual as RONS foram localizadas na região proximal do cromossomo X. Por outro lado, cores e cinetócoros também foram marcados nos cromossomos meióticos das duas espécies (Rocha *et al.*, 1997). Em *Xyleus angulatus* a coloração  $AgNO_3$  e o uso de FISH com sonda ribossômica pTA71 revelou RONS localizadas nas regiões pericentroméricas dos bivalentes  $G_3$  e  $M_4$  e no cromossomo X (Souza *et al.*, 1998). De acordo com Souza *et al.* (2003) *Xestotrachelus robustus* apresentou sítios de  $DNA_r$  associados a região pericentromérica do bivalente  $M_5$ , padrão confirmado pela coloração de  $AgNO_3$  e pela FISH. Duas espécies do gênero *Chromacris* analisadas por Loreto *et al.* (2005) mostraram padrão diferenciado de distribuição de RONS. *Chromacris nuptialis* apresentou sítios de  $DNA_r$  na região pericentromérica do bivalente  $M_6$ , contudo, em *C. speciosa* esses sítios foram localizados no mesmo bivalente  $M_6$ , porém com localização proximal.

#### IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amedegnato, C. (1974). Les genres d'acridiens néotropicaux, leur classification par familles, sous-familles et tribus. *Acrida* 3: 193-204.
- Bakkali, M; Cabrero, J; López-León, M. D.; Perfecti F. and Camacho , J. P. M. (2001). Population differences in the expression of nucleolus organizer regions in the grasshopper *Exprepocnemis plorans*. *Protoplasma* 217:185-190.
- Bella J.L. and Gonsálvez J. (1991). C- banding with Specific Fluorescent DNA-Lingands: a New Approach to constitutive heterochromatin heterogeneity. *Biotechnic and Histochemistry*. 1(1):44-52.
- Bella, J. L.; Serrano L.; Hewitt, G. and Golsálvez, J. (1993). Heterochromatin heterogeneity and rapid divergence of the sex chromosomes in *Chorthippus parallelus parallelus* and *C. p. erythropus* (Orthoptera). *Genome* 36:542-547.
- Bentos-Pereira, A (2006a). Three new genera of Proscopiidae (Orthoptera, Eumastocoidea) J. Orthopt. Res.15(2):117-141.
- Bentos-Pereira, A (2006b). The tribe Proscopiini, nov. (Orthoptera, Eumastacoidea, Proscopiidae) J. Orthopt. Res. 15(2):143-148.
- Bidau C.J. and Hasson E.R. (1984). Population cytology of *Leptysma argentina* Brunner (Leptysminae, Acrididae) *Genetica* 62:161-175.
- Bidau C.J. (1987). Influence of a rare unstable B-chromosome on chiasma frequency and nonhaploid sperm production in *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae). *Genetica* 73:201-210.
- Bidau C.J. (1990). The complex Robertsonian system of *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae). II Effects of the fusion polymorphisms on chiasma frequency and distribution. *Heredity* 64:145-159.
- Bidau C.J. (1996). Chiasma repatterning in hybrids between chromosomal races of the grasshopper *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae). *Cytobios* 85:91-110.
- Bridle, J. R.; De la Torre, J; Bella, J. L.; Butlin , R K and Gosálvez J (2002) Low levels of chromosomal differentiation between the grasshoppers *Chorthippus brunneus* and *Chorthippus jacobsi* (Orthoptera-Acrididae) in northern Spain. *Genetica* 144:121-127.

- Bugrov A. G., Karamysheva T. V., Perepelov E. A. and Elisaphenko E. A. (2007). DNA content of the B chromosomes in grasshopper *Podisma kanoi* Storozh. (Orthoptera, Acrididae). Chrom. Res. 15:315-325.
- Cabrero J. and Camacho J.P.M. (1986). Cytogenetic studies in gomphocerinae grasshoppers. I. comparative analysis of chromosome C-banding pattern. Heredity 56:365-372.
- Cabrero J., Sliwa W. E., Warchalowska-Sliwa E., López-Leóns M. D., and Camacho J.P.M (2002). Comparative FISH analysis in five species of Eyprepocnemidine grasshoppers. Heredity. 90, 337-38.
- Camacho, J.P.M. and Cabrero, J. (1983). Karyological differences between two species of grasshopper genus *Acrotylus* (Acrididae:Oedipodinae). Caryologia 36:121-127.
- Camacho, J.P.M., Sharbel T. F. and Beukeboom L. W. (2000). B-chromosome evolution. The Royal Society. 355,163-178.
- Carbonell, C. S. (1977). Origin, evolution and distribution of the Neotropical acridomorph fauna (Orthoptera): A preliminary hypothesis. Rev. Soc. Ent. Argentina 36 (1-4): 153-175.
- Carbonell, C. S. (1986). Revision of the Neotropical genus *Tropidacris* (Orthoptera, Acridoidea, Romaleidae, Romaleinae). Proc. Acad. Nat. Sci. Phil. 138 (2) 366-402.
- Carbonell, C. S. (1995). Revision of the tribe Syllinii, Nov. (Acrididae, Gomphocerinae) with descriptins of new genera and species . Trans Am. Entomol. Soc 121 (3) 87-152.
- Carbonell, C. S. (1996). New Species of the Genus *Radacridium* Carbonell 1984 (Acridoidea, Romaleidae, Romaleinae) from the Brazilian Northeast. J. Orthop. Res. 5: 37-41.
- Carbonell, C. S. (2002). The grasshopper Tribe Phaeoparini (Acridoidea: Romaleidae). The Orthopterists Society. The Acad. Nat. Sci. Phil, Pen. 148p.
- Carbonell, C. S. (2004). The genus *Xyleus* Gistel 1848 (Acridoidea, Romaleidae, Romaleinae). J. Orthopt. Res.13(1):63-133.
- CardosoH., Saez F.A. e Brum-Zorrilla N., (1974) Location, structure and behaviour of C- heterocromatin during meiosis in *Dichroplus silveiraguidoi* (Acrididae, Orthoptera). Chromosoma. 4 45:51-64.

- Cella M. D. and Ferreira A. (1991). The cytogenetics of *Abracris flavolineata* (Orthoptera, Caelifera, Ommatolampinae, Abracrini). Rev. Brasil. Genet. 14(2):315-329.
- Cigliano, M. M. (2007). Review of the South American genus *Eurotettix* Bruner (Orthoptera, Acridoidea, Melanoplinae). Syst Entomol 32:176-195
- Clemente M, Remis M I, Vilardi J C and Albert A (1994). Supernumerary heterochromatin, chiasma conditions and abnormal sperm formation in *Dichroplus elongatus* (Orthoptera): intra and interpopulation analysis. Caryologia 47:265-279.
- Colombo P. C. (1993). Chromosome polymorphisms and natural selection in *Leptysma argentina* (Orthoptera). II gametic phase disequilibrium and differential adult male viability. Heredity 71:295-299.
- Colombo P.C., Pense S. and Eremis M. I. (2003) Chromosomal polymorphism, morphometric traits and mating success in *Leptysma argentina* Brunner (Orthoptera). Genetica 146:1-7.
- Colombo P.C. and Remis M.I. (1997) On the origin of B. chromosomes: neo XY system and X- like supernumeraries in Orthoptera. Caryologia 50(2):151-162.
- Dillon N. (2004). Heterochromatin structure and function. Biol. Cell. 96:631-637.
- Diniz Filho, J.A.F. and Mesa, A. (1994) Estudo fenético de algumas espécies de Ommexechidae (Orthoptera-Acridoidea). Rev. Bras. Biol..54 (1):1-1.
- Drowim G. and Monez de Sá , M. (1995). The concerted evolution of 5S ribosomal genes linked to the repeat unit of other multigene families. Mol. Biol. Evol. 12:481-493.
- Duraton J.F., Launois M., Launois-Luong M.H. and Lecoq M. (1987) Guia prático de luta contra os gafanhotos devastadores no Brasil. FAO, Rome – CIRAD/PRIFAS, Montpellier; 161p.
- Fox D.P. and Santos J.L. (1985). N-bands and nucleolus expression in *Schistocerca gregária* and *Locusta migratoria*. Heredity 54:333-334.
- Gallo, D., Nakano, O., Silveira Neto , S., Carvalho, R.P. L., Baptista, G.C., Berti Filho, E., Parra J.R.P., Zucchi, R.A., Alves, S.B. , Vendramim, J. D., Marchini, L.C., Lopes, J.R. S. and Omoto, C. (2002). Entomologia Agrícola Piracicaba: Fealq, 920p
- Gosálvez, J., López- Fernandez, C. Bella, J.L., Butlin, R. K. and Hewitt, G. M. (1988). A hybrid zone between *Chorthippus parallelus parallelus* and

- Chorthippus parallelus erythopus* (Orthoptera: Acrididae): chromosomal differentiation in. *Genome*. 30:656-663.
- Goodpasture J. and Bloom S. E. (1975). Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53:37-50.
- Grewal, S.L. and Jia S. (2007). Heterochromatin Revisited. *Nat. Rev. Gen.* 8:35-46.
- Grieco, M. L. and Bidau C.J. (2000). The dicentric nature of the metacentric B chromosome of *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acridinae, Acrididae). *Heredity*. 84: 639-646.
- Hewitt, G. M. (1979). Orthoptera. Animal cytogenetics3. Insecta 1. Borntraeger, Berlin- Stuttgart.
- Henikoff, S. (2000). Heterochromatin function in complex genomes. *Biochem. Biophys. Acta* 1470, 1-8.
- Howell W. M. and Black D. A. (1980). Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36:1014-1015.
- KEVAN, D.K. MC. E. (1982). Synopsis and classification of living organisms. S.P. Parker, ED. Mcgrow-Hill Book Co. 352-379.
- King M. and John B. (1980). Regularities and restrictions governing C-band variation in Acridoid grasshoppers. *Chromosoma* 76:123-150.
- Jones, G.N. and Rees, H.(1982) B-chromosomes. Academic Press London. p. 266.
- John B. ,King M.', Schweizer D. and Mendelak M. (1985). Equilocality of heterochromatin distribution and heterochromatin heterogeneity in acridid grasshoppers. *Chromosoma*. 91:185-200.
- López-León, M.D., Neves, N.,Schwarzacher, T., Heslop-Harrison, J. S., Hewitt, G.M. and Camacho, J.P. M.(1994). Possible origin of a B chromosome deduced from its DNA composition using double FISH technique *Chrom. Res.*7:83-88.
- López-León, M. D., Cabrero J. and Camacho J.P.M. (1995). Changes in NOR activity pattern in the presence of supernumerary heterochromatin in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* . *Genome* 38:68-79.

- López-León, M. D., Cabrero J., and Camacho J.P.M. (1999). Unusually high amount of inactive ribosomal DNA in the grasshopper *Stauroderus scalaris*. *Chrom. Res.* 7:83-88.
- Loreto V. and Souza M.J. (2000). Karyotype, constitutive heterochromatin and nucleolar organizer regions (NORs) in *Belosacris coccineipes* (Acrididae-Leptysminae). *Genet. Mol. Biol.* 23:575-579.
- Loreto V., Stadtler E.; Melo F. N. and Souza M.J. (2005). A comparative cytogenetic analysis between the grasshopper species *Chromacris nuptialis* and *C. speciosa* (Romaleidae): constitutive heterochromatin variability and rDNA sites. *Genetica* 125:253-260.
- Marti D. A. and Bidau C. J. (2001). Synapsis in Robertsonian heterozygotes and homozygotes of *Dichroplus pratensis* (Melanoplinae, Acrididae) and its relationship with chiasma patterns. *Hereditas* 134:245-254.
- Mesa, A. (1956). Los Cromossomas de Algunos Acridoideos Uruguayos (Orthoptera-Caelifera, Acridoidea). *Agros, Montev.* 141:32-45.
- Mesa, A. (1961). Morfologia fálica y cariología de *Neuquenina ficator* (Rehn) (Orthoptera, Acridoidea). *Comum. Zool. Mus. His. Nat. Montev.*, 5(89):1-11.
- Mesa, A. (1963). Acerca de la Cariología de Ommexechidae (Orthoptera; Acridoidea). *Rev. Soc. Urug. Ent.* 5: 37-43.
- Mesa, A. (1964). Los Cromosomas de *Pachyossa* sp. (Orthoptera; Ommexechidae). *Rev. Soc. Uruguay Ent.* 6: 49-54.
- Mesa, A. (1973). Los cromosomas de algunas especies de acridios y Proscopidos Chilenos (Orthoptera- Caelifera). *Trab. V. Congr Latinoam. Zool* 1: 150-161.
- Mesa, A. and Ferreira, A. (1977). Cytological studies in the family Ommexechidae (Orthoptera, Ommexechidae). *Acrida* 6: 261-271.
- Mesa, A., Ferreira, A. and Carbonell, C. S. (1982). Cariología de los Acridoideos Neotropicales: Estado actual de su conocimiento y nuevas contribuciones. *Anis Soc. Ent. Fr (N.S)* 18 (4): 507-526.
- Mesa, A. Fontanetti, C. S. and Costa H. (1990). The karyotype of the grasshopper *Spathalium helios* Rehn 1918. (Orthoptera, Acridoidea, Ommexechidae). *Rev. Brasil. Genet.* 13 (4): 705-710.
- Mesa, A., Garcia-Novo, P., Portugal, C. B. and Miyoshi, A. R. (2004). Karyology of species belonging to the genera *Agriacris* Walker 1870 and *Staleochlora*

- (Roberts e Carbonell 1992) with some considerations of romaleid phallic structures (Orthoptera, Acridoidea). Jour. Orthop. Res. 2004,13(1): 15-18
- Pastori, M. C. and Bidau C. J. (1994). The B-isochromosome of *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acrididae) found in Northern Corrientes (Argentina). *Rev. Brasil. Genet.* 17:47-51.
- Pfadt R. E. (2002). Field Guide to common Western Grasshoppers, Third Edition Wyoming Agricultural Experiment Station Bulletin 912.
- Pereira L. G. and Souza M.J. (2000). Nature and distribution of constitutive heterochromatin and NOR location in the grasshopper *Phaeoparia megacephala* (Romaleidae, Orthoptera). *Cytobios*, 103:101-119.
- Piza S., de Toledo Jr. (1952). Os cromossômios de duas espécies de Ommexecha Serville (Acrididae-Ommexechinae). *An. Esc. Sup. Agr. "Luis de Queiroz"* (Univ.São Paulo). 9(172):253-225.
- Remis M. I. (1990). Cytogenetic studies in *Sinipta dalmani* Stal (Orthoptera: Acrididae) II Effects of centric fusions on chiasma frequency and distribution *Genet. Select. Evol.* 22:263-272.
- Remis M. I. (1993). Effects of rearrangements on sperm formation in *Sinipta dalmani* (Orthoptera- Acrididae). *Caryologia*. 46 (4):107-116.
- Roberts H. and Carbonell, C. S. (1982). A Revision of the grasshopper genera *Chromacris* and *Xestotrachelus* (Orthoptera, Romaleidae, Romaleinae). *Proc. Calif. Acad. Sci.* ,43(4):43-58.
- Rocha M.F.; Souza M.J. and Tashiro T. (1997). Karyotype variability in the genus *Radacridium* (Orthoptera, Romaleidae, Romaleinae) *Cytologia* 62:53-60.
- Rocha M.F.; Souza M.J. and Moura R. C. (2004). Karyotypic analysis, constitutive heterochromatin and NOR distribution in five grasshopper species of the subfamily Leptysminae (Acrididae). *Caryologia*, 57(1):107-116.
- Ronderos, R. A. (1972). Notas para una revision de la Subfamilia Ommexechinae II el genero *Spatalium* Bolivar (Orthoptera, Acrididae, Ommexechini). *Revista Del Museo de La Plata*, 104,175-208.
- Ronderos, R. A. (1978). Notas para una revision de la subfamillia Ommexechinae, VIII, El genero *Ommexecha* Serville (Orthoptera, Acridomorpha). *Rev. Soc. Ent. Argentina*, 33(1-4):97-111.
- Ronderos, R.A. (1979). La família Ommexechidae (Orthoptera, Acridoidea). *Acrida*, 8 (4) :241-273.

- Rodriguez-Inigo E.; Bella, J. L., and Garcia de la Vega, C (1993). Heterochromatin differentiation between two species of the genus *Dociostaurus* (Orthoptera-Acrididae) *Heredity* 70:458-465.
- Rosetti N., Vilardi J.C. and Remis M. I. (2007). Effects of B chromosomes and supernumerary segments on morphometric traits and adult fitness components in the grasshopper, *Dichroplus elongatus* (Acrididae). *J. Comp. Euro. Soc. Evol. Biol.* 20: 249-259.
- Rufas J. S., Gimenez-Martin, G and Esponda P.(1982). Presence of a chromatid core in mitotic and meiotic chromosomes of grasshoppers *Cell Biol Int Rep* 6: 261-267.
- Rufas J. S., Esponda P., and Gosálvez J.(1985). NOR and nucleolus in the spermatogenesis of acridoid grasshoppers. *Genetica* 66:139-144.
- Rufas J. S., Gimenez-Abian J. and Suja A. J. (1987) Chromosome organization in meiosis revealed by light and microscope analysis of silver-stained cores. *Genome*. 29: 706-712.
- Santos J; Sentis C; Garcia-Rodriguez J. and Fernandez-Piqueiras J. (1990). Latent NORs in the specie *Picnogaster cucullata* (Orthoptera). *Heredity* 65:7-10.
- Santos J.L., Arana P. and Graldez R. (1983). Chromosome C- banding patterns in Spanish Acridoidea. *Genetica* 61: 65-74.
- Souza M.J and Silva-Filha, M. H. N. (1993). Effects of extra chromosome segments on chiasma distribution in *Xyleus angulatus* (Orthoptera, Romaleidae). *Rev. Brasil. Genet.* 16:23-33.
- Souza M.J and Kido H. M. L. (1995) Variability of constitutive heterochromatin in karyotypes of representatives of the family Romaleidae (Orthoptera). *Braz. Jour. Gen.*18(4) 517-520.
- Souza M.J, Rufas J.S. and Orellana J. (1998). Constitutive heterochromatin, NOR localition and FISH in the grasshopper *Xyleus angulatus* (Romaleidae). *Caryologia* 51(1): 73-80.
- Souza M.J.; Haver O.R.P. and Melo F. N. (2003). Karyotype, C-and fluorescence banding patterns and, NOR location and FISH in the grasshopper *Xestotrachelus robustus* (Romaleidae). *Caryologia*, 56(3)261-267.
- Souza M.J. and Melo F. N. (2007). Chromosome study in *Schistocerca* (Orthoptera- Acrididae-Cyrtacanthacridinae): Karyotypes and distribution patterns of constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions (NORs). *Gen. Mol. Biol.* 30(1):54-59.

- Squitier, J. M. and Capineira, J. L. (2002). Observations on the phenology of common Florida grasshoppers (Orthoptera, Acrididae). *Flor. Entomol.* 85(1): 227-234.
- Stephens G. E., Stawson S. E., Craig C. A. and Elgin S. C. R. (2005). Interaction of heterochromatin protein 2 with HP1 defines a novel HP1-binding domain. *Biochemistry.* 44: 13394-13403.
- Sumner A.T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* 75:304-306.
- Sumner A.T. (1990). Chromosome banding. First edition. Academic Division of Unwin Hyman Ltda., London. 434p.
- Sumner A.T. (2003) Chromosomes: organization and function .Blackwell Publishing. North Berwick,UK. 287p.
- Vilardi C. J. (1986). Parallel polymorphisms for interstitial C-bands and B-chromosomes in *Zoniopoda tarsata* (Orthoptera: Romaleidae). *Caryologia* 39(3-4)365-380.
- Wallrath L.L. (1998). Unfolding the myteries of heterochromatin. *Curr. Opin. Gen. Dev.* 8:147-153.
- Warchalowska-Sliwa E., Brugosv A.G., Tatsuta H. and Akinomoto S. (2001). B chromosomes, translocation betewen B and autosomes, and c-heterchromatin polymorphism of the grasshopper *Podisma sapporensis schir.* (Orthoptera, Acrididae) in Hokkaido, northen Japan. *Folia Biologica (Krakow)* 49:64-75.
- White, M. J. D. (1973). Animal cytology and evolution. Thrid edition. Cambridge University. Londo, 961p.

V. CAPÍTULO 1

*Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum*  
(Ommexechidae): cariótipos, heterocromatina constitutiva e  
regiões organizadoras de nucléolos

O manuscrito a seguir será  
submetido à revista Genetics  
and Molecular Biology,  
publicada no Brasil

*Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum* (Ommexechidae): cariótipos, heterocromatina constitutiva e regiões organizadoras de nucléolos

D. B. Carvalho<sup>1</sup>, M.F.Rocha<sup>2</sup>, V. Loreto<sup>3</sup>, A. E.B. Silva<sup>4</sup> e M. J. Souza<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas/CCB, Universidade Federal de Pernambuco/ UFPE, Recife, Pernambuco, Brasil

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, Instituto de Ciências Biológicas/ICB, Universidade de Pernambuco /UPE, Recife, Pernambuco, Brasil

<sup>3</sup> Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco/ UFRPE, Garanhuns, Pernambuco, Brasil

<sup>4</sup> Departamento de Botânica, Centro de Ciências Biológicas/CCB, Universidade Federal de Pernambuco/ UFPE.

Palavras chave: RONS, FISH, gafanhoto

### Resumo

Os cromossomos de *Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum* (Ommexechidae) foram analisados através de técnica convencional, impregnação com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>), bandeamento C, fluorocromos base específicos e hibridização *in situ* fluorescente (FISH). As duas espécies apresentaram número diplóide 2n=23,X0 nos machos e cromossomos acrocêntricos, exceto o par 1 que apresentou morfologia submetacêntrica. O X tem morfologia diferente nas duas espécies analisadas, sendo acrocêntrico médio em *O. virens* e submetacêntrico grande em *D. serrulatum*. O bandeamento C revelou blocos pericentroméricos de heterocromatina constitutiva (HC) em todos os cromossomos de *D. serrulatum*. A tríplice coloração CMA<sub>3</sub>/DA/DAPI, mostrou blocos de HC ricos em pares de bases GC (CMA<sub>3</sub> positivos) em alguns cromossomos do complemento das duas espécies. As regiões organizadoras de nucléolos (RONS) foram localizadas nos bivalentes G<sub>1</sub>, P<sub>9</sub>, P<sub>10</sub> de *O. virens* e M<sub>5</sub>, M<sub>6</sub>, M<sub>7</sub>, P<sub>11</sub> de *D. serrulatum*. A técnica de FISH mostrou resultados coincidentes com o padrão de RONS ativas revelados pelo AgNO<sub>3</sub>. Esse trabalho apresenta os primeiros dados cromossômicos, obtidos por meio de técnicas citogenéticas diferenciais, em Ommexechidae, contribuindo para uma melhor caracterização da evolução cariotípica nessa família.

Autor para correspondência. Maria José de Souza. Departamento de Genética, Centro de Ciências Biológicas/CCB, Universidade Federal de Pernambuco /UFPE Av. Prof. Moraes Rego SN, CEP:50732.970. Recife, Pernambuco, Brasil, E-Mail: mjslopes.ufpe@yahoo.com.br

## Introdução

Ommexechidae compreende uma família de gafanhotos, endêmica da América do Sul, constituída por duas subfamílias, Aucacrinae e Ommexechinae. Essa família possui cerca de 12 gêneros e cerca de 30 espécies. *Descampsacris* é um gênero monotípico representado por *D. serrulatum*. Por outro lado, o gênero *Ommexecha* está constituído por sete espécies, *Ommexecha apolinari*, *O. brunneri*, *O. germari*, *O. giglio-tosi*, *O. gracilis*, *O. macropterum* e *O. virens*. Esse gênero tem uma ampla distribuição geográfica sendo encontrado desde a Cordilheira dos Andes até o Caribe. Dentre as espécies descritas *O.virens* apresenta grande variabilidade morfológica e cromática (Ronderos,1979,).

Mesa *et al* (1982) relataram dados citogenéticos de 13 espécies de Ommexechidae, com predominância de cariótipo  $2n=23,X0$ . *Ommexecha germari* apresentou o menor número diplóide ( $2n=21,X0$ ) e *Conometopus sulcaticollis* mostrou  $2n=25,X0$ , que corresponde ao maior número diplóide para a família. Dados cariotípicos de *Spathalium helios* foram descritos por Mesa *et al* (1990), compreendendo número diplóide de  $2n=22,neoXY$ , com o cromossomo X metacêntrico correspondendo ao maior cromossomo do cariótipo e o cromossomo Y apresentou morfologia acrocêntrica. O bandeamento C mostrou na região centromérica de todos os autossomos, e em adição os bivalentes 7 e 8 apresentaram pequenos blocos telomericos de HC. *S. helios* corresponde a única espécie de Ommexechidae analisada por técnica diferencial.

O uso de técnicas diferenciais de análise citogenética em gafanhotos da região Neotropical estão restritas a algumas espécies pertencentes as famílias Acrididae e Romaleidae. Os dados obtidos têm revelado variabilidade no padrão de distribuição e de qualificação da heterocromatina constitutiva através do uso de bandeamento C e de fluorocromos base específicos Cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>) e de 4'-6'-diamidino-2-fellindol (DAPI). O padrão cariotípico de localização de regiões organizadoras de nucléolos (RONs) determinado através da coloração com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) e pela hibridização *in situ* fluorescente (FISH) também tem sido descritos em diferentes espécies de acridoideos Neotropicais (Souza *et al.*,1998;

Loreto e Souza, 2000; Pereira e Souza, 2000; Souza *et al.*, 2003; Loreto *et al.*, 2005; Souza e Melo, 2007; Loreto *et al.*, 2008).

Neste trabalho foram usados bandeamento C, fluorocromos base específicos, impregnação com  $\text{AgNO}_3$  e FISH com sonda de DNAr, para análise da heterocromatina constitutiva e RONS de *Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum*. Os padrões cariotípicos obtidos contribuíram para uma melhor compreensão sobre evolução cromossômica dentro da família Ommexechidae.

## Material e Métodos

As espécies e o número de indivíduos analisados, bem como os locais de coletas em diferentes municípios do Estado de Pernambuco e da Bahia, Região Nordeste do Brasil, estão indicados na Tabela 1. As preparações citológicas foram obtidas a partir de folículos testiculares, fixados em etanol e ácido acético 3:1, submetidos a técnica clássica de esmagamento. Para análise convencional as lâminas foram coradas com orceína lacto-acética a 2%. Para o bandeamento C foi usada a técnica de Sumner (1972) com pequenas modificações no tempo de uso da solução básica. Na sequência as lâminas foram tratadas com HCl 0,2N por 25 minutos, hidróxido de bário ( $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ) a 5% a (60°C) por 10 segundos e 2XSSC a (60°C) por 25 minutos. As lâminas foram coradas com Giemsa a 5% diluída em tampão fosfato (pH 7.0) por 5 minutos. A tríplice coloração CMA<sub>3</sub>/DA/DAPI foi realizada de acordo com Schweizer *et al* (1983). As lâminas envelhecidas por cinco dias, foram coradas com CMA<sub>3</sub> por 50 minutos, lavadas em água destilada e coradas com Distamicina A por 45 minutos, novamente lavadas e coradas com DAPI por 20 minutos. As lâminas foram montadas em meio contendo glicerol e tampão MacIlvaine/ $\text{MgCl}_2$ .

A impregnação com nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) foi realizada de acordo com a técnica de Howell e Black (1980). Foi usada uma solução de nitrato de prata a 50% (5g de  $\text{AgNO}_3$  em 10ml de água destilada), além de uma solução coloidal (gelatina) sendo colocado sobre a lâmina 2 gotas da solução  $\text{AgNO}_3$  e 1 gota da gelatina. Na sequência a lâmina foi incubada em câmara úmida a 70°C por 3 a 5 minutos.

Para hibridização *in situ* fluorescente (FISH) foi usada a técnica de Moscone *et al* (1996) utilizando sonda 45S de DNAr. A sonda foi marcada com degoxigenina através de nick translation e detectada com o anticorpo sheep anti-digoxigenina ligado ao fluorocromo FITC. O sinal de hibridização foi amplificado a partir do anticorpo rabbit anti-sheep com FITC conjugado. As preparações cromossômicas foram contracoradas com DAPI (2ug/ml) e montadas em Vectashield H-1000 (Vector).

As células submetidas aos fluorocromos e a FISH foram capturadas no sistema de captura de imagens Cytovision acoplado ao microscópio Olympus BX51. Para as outras técnicas as células foram fotografadas em microscópio Leica, usando um filme Kodak Imagelink, ASA 25. As pranchas foram montadas com o uso do programa Corel Draw Graphics Suite 12.

## Resultados

*Descampsacris serrulatum* (Thunberg 1824) e *Ommexecha virens* (Serville 1831) apresentaram cariótipos similares com número diplóide  $2n=23,X0$  nos machos, cromossomos acrocêntricos, exceto o par 1 que apresentou morfologia submetacêntrica. Os autossomos foram agrupados segundo a ordem de tamanho em três pares grandes ( $G_1 - G_3$ ), cinco médios ( $M_4 - M_8$ ) e três pequenos ( $P_9 - P_{11}$ ). *D. serrulatum* apresentou o cromossomo X de tamanho grande e com morfologia submetacêntrica, enquanto em *O. virens* o X foi de morfologia acrocêntrica (Fig 1 a,c). No curso da prófase I das duas espécies o cromossomo X apresentou heteropicnose positiva até o diplóteno, sendo esse comportamento revertido a partir da metáfase I (Fig.1 b-d).

O bandeamento C revelou padrão de distribuição de heterocromatina constitutiva (HC) pericentromérica em todos os cromossomos de *D. serrulatum* (Fig.2 a,b). Com relação a *O. virens* a técnica de bandeamento C não foi eficaz para visualização de HC. Por outro lado, a tríplice coloração CMA<sub>3</sub>/DA/DAPI destacou blocos de CMA<sub>3</sub> positivos em alguns cromossomos do complemento cariotípico de *O. virens*, bem como de *D. serrulatum* (Fig.2 c,e). Entretanto, nenhum bloco positivo para AT foi evidenciado nas duas espécies (Fig.2 d-f). A

impregnação com  $\text{AgNO}_3$  permitiu a identificação de regiões organizadoras de nucléolos (RONs) ativas nas duas espécies analisadas. Em *D. serrulatum* as RONs estão localizadas em quatro pares ( $M_5, M_6, M_7$  e  $P_{11}$ ) (Fig 3a) e em *O. virens* nos pares ( $G_1, P_9$  e  $P_{10}$ ) (Fig 3 c).

A FISH com sonda de DNAr 45S foi usada em células meióticas de *D. serrulatum* (Fig. 3b) e *O. virens* (Fig 3 d) confirmando o número e permitindo a localização das RONs ativas observadas pela impregnação  $\text{AgNO}_3$ ).

## Discussão

Apesar de Ommexechidae apresentar uma ampla distribuição na América do Sul, os estudos citogenéticos nesse grupo são restritos e envolvem predominantemente a descrição cariotípica (Mesa *et al.*, 1982). A análise cromossômica convencional, mostrou que as duas espécies analisadas possuem número diplóide de  $2n=23, X0$  nos machos. Contudo, apesar de *D. serrulatum* e *O. virens* apresentarem autossomos com a mesma morfologia, existe uma diferenciação com relação ao cromossomo X. A primeira espécie mostrou o X com morfologia submetacêntrica, enquanto que na segunda esse cromossomo foi acrocêntrico. Essa diferença de morfologia envolvendo o cromossomo X das duas espécies decorre provavelmente de inversão pericêntrica, a partir da condição acrocêntrica considerada ancestral. Por outro lado, a presença de um par autossômico submetacêntrico é frequente dentro de Ommexechidae, representando um marcador cariotípico para essa família. Dentre as 20 espécies analisadas 16 possuem o par com morfologia submetacêntrica, decorrente de inversão pericêntrica envolvendo um autossomo acrocêntrico original nessa família (Mesa e Ferreira, 1977; Mesa *et al.*, 1982; 1990). Por outro lado, dentre as espécies analisadas somente *Clarazella bimaculata*, *Conometopus sulcaticollis* e *Pachyossa signata* apresentaram cromossomos acrocêntricos em todo complemento cariotípico. O cariótipo observado nas duas espécies analisadas, neste trabalho coincide com aquele descrito para a maioria das espécies de

Ommexechidae, diferente do cariótipo relatado por Mesa *et al* (1982) no qual o par 1 apresentou dois braços.

A não identificação de blocos de HC pelo bandeamento C em *O. virens*, pode ser decorrente do pequeno tamanho das regiões de HC presentes no cariótipo dessa espécie. Para que o bandeamento C seja eficaz é necessário que as sequencias heterocromaticas apresentem um tamanho superior a  $10^6$  pb ou  $10^7$  pb. Outra possibilidade poderia ser a falta de resposta da HC para o bandeamento C, independente do tamanho da região, considerando que alguns tipos de heterocromatina não são marcadas por essa técnica (Sumner, 1990).

O padrão pericentromérico de distribuição de heterocromatina constitutiva (HC) observado em *D. serrulatum* é bastante comum dentro da superfamília Acridoidea. Esse padrão tem sido descrito em várias espécies, que também ocorrem na região Neotropical, pertencentes as famílias Acrididae e Romaleidae (Souza e Kido, 1995; Rocha *et al.*, 1997; Loreto e Souza, 2000; Loreto *et al.*, 2005; Rocha *et al.*, 2004; Souza e Melo, 2007). *Spathalium hélios* (Ommexechidae) também apresentou blocos pericentroméricos de HC, além de blocos teloméricos nos pares 7 e 8 (Mesa *et al.*, 1990). O padrão de qualificação da HC visualizado pela coloração CMA<sub>3</sub>/DA/DAPI em *D. serrulatum* e *O. virens* evidenciou blocos CMA<sub>3</sub> positivos em apenas alguns cromossomos do cariótipo. Esse padrão também tem sido descrito em *Belosacris coccineipes*, *Cornops aquaticum*, *Stenopola dorsalis*, *Stenacris xantochlorae* e *Tucayaca parvula* (Acrididae). Por outro lado *Chromacris nuptialis* e *C. speciosa* (Romaleidae) apresentaram blocos CMA<sub>3</sub> positivos em apenas um par de autossomos (Loreto e Souza, 2000; Rocha *et al.*, 2004; Loreto *et al.*, 2005). Entretanto esse padrão contrasta com aquele descrito para *Xyleus angulatus*, *Phaeoparia megacephala* e *Xestotrachelus robustus* (Romaleidae) nas quais a HC de todo complemento cariotípico apresentou riqueza para pares de bases GC (Souza *et al.*, 1998; Pereira e Souza, 2000, Souza *et al.*, 2003).

Dados da literatura, utilizando a impregnação com AgNO<sub>3</sub> e a hibridização *in situ* fluorescente (FISH), têm mostrado que em gafanhotos e mais especificamente em espécies pertencentes as famílias Acrididae e Romaleidae, as

RONs são mais frequentemente encontradas em um ou dois pares autossômicos (Rufas *et al.*, 1985; Souza *et al.*, 2003; Rocha *et al.*, 2004; Souza e Melo, 2007; Loreto *et al.*, 2008). Uma variabilidade em relação ao padrão de localização das RONS foi observada nas duas espécies analisadas. *Ommexecha virens* mostrou RONS localizadas nos pares  $G_1$ ,  $P_9$ ,  $P_{10}$  e *D. serrulatum* apresentou RONS envolvendo quatro pares de autossomos ( $M_5$ - $M_7$  e  $P_{11}$ ). Padrão de RONS envolvendo quatro pares de autossomos é raro em gafanhotos, tendo sido descrito em *Eyprepocnemis plorans*, *Heteracris litoralis* e *Gomphocerus sibiricus* (Rufas *et al.*, 1985). Padrão diferencial de distribuição de RONS foi observado por Loreto *et al.* (2008) no gênero *Rhammatocerus*. A espécie *R. brasiliensis* apresentou três pares autossômicos como portadores de RONS. Em contraste, *R. brunneri*, *R. palustris* e *R. pictus* mostraram RONS em um único par autossômico. A diferença entre o padrão de distribuição das RONS observado em *D. serrulatum* e *O. virens*, pode ser explicada por uma provável amplificação e dispersão de sítios de DNAr (18S, 28S, 5.8S), partindo de uma condição ancestral, na qual um único par de autossômico seria portador de RONS.

Os resultados obtidos neste trabalho representam os primeiros dados cromossômicos usando técnicas citogenéticas refinadas na família Ommexechidae. Estudos cariotípicos adicionais, usando métodos especiais de análise citogenética, são necessários para uma melhor caracterização da evolução cariotípica nessa família.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Prof. Carlos Salvador Carbonell da Universidade de Montevideo, Uruguai, pela identificação taxonômica das espécies estudadas e envio de materiais bibliográficos, ao Prof. Alejo Mesa pelo envio de materiais bibliográficos, Diogo Cabral de Mello, pelo auxílio na captura de imagens de células usadas na montagem das figuras e a Cirlene Maria da Silva pelo apoio técnico. Cotamos com o apoio financeiro da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e do CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

## Referências Bibliográficas

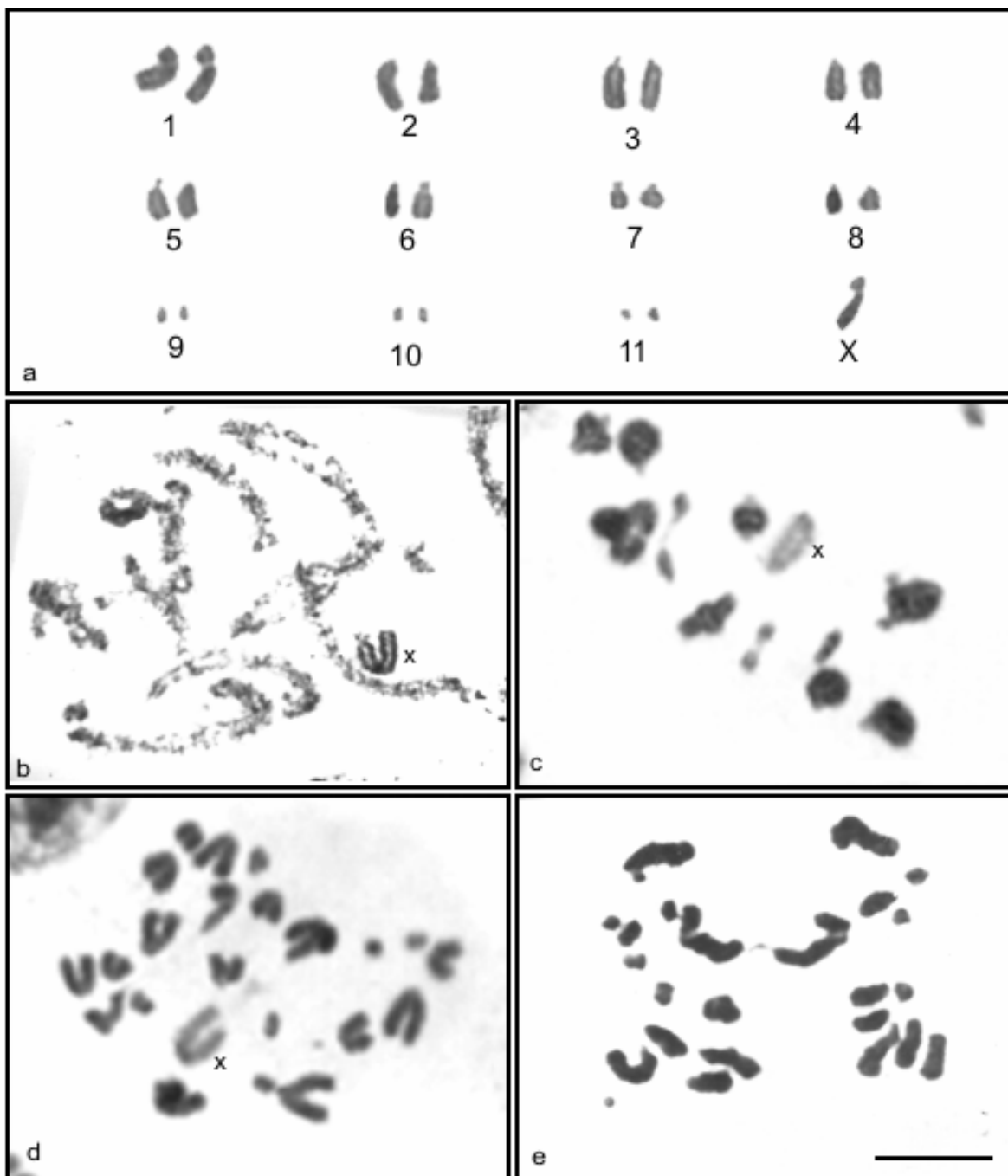
- Howell W. M. and Black D. A. (1980). Controlled silver staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36:1014-1015.
- Loreto V. and Souza M.J. (2000). Karyotype, constitutive heterochromatin and nucleolar organizer regions in *Belosacris coccineipes* (Acrididae-Leptysminae). *Gen. Mol. Biol.* ,23,2,1-5.
- Loreto V., Stadtler E.; Melo F. N. and Souza M.J. (2005). A comparative cytogenetic analysis between the grasshopper species *Chromacris nuptialis* and *C. speciosa* (Romaleidae): constitutive heterochromatin variability and rDNA sites. *Genetica* 125:253-260.
- Loreto V., Cabrero J., López-León M. D Camacho, J.P.M. and Souza, M. J. (2008). Comparative analysis of rDNA location in five Neotropical gomphocerine grasshopper species. *Genetica*. 132:95-101.
- Mesa, A., Ferreira, A. and Carbonell, C. S. (1982). Cariologia de los Acridoideos Neotropicales: Estado actual de su conocimiento y nuevas contribuciones. *Ann. Soc. Ent. Fr (N.S)* 18 (4): 507-526.
- Mesa, A. and Ferreira, A. (1977). Cytological studies in the family Ommexechidae (Orthoptera, Ommexechidae). *Acrida* 6: 261-271.
- Mesa, A., Fontanetti, C. S. and Costa H. (1990). The karyotype of the grasshopper *Spathalium helios* Rehn 1918. (Orthoptera, Acridoidea, Ommexechidae). *Rev. Brasil. Genet.* 13 (4): 705-710.
- Moscone E. A.; Matzke M. A. and Matzke A.J. M. (1996) The use of combined FISH/GISH in conjunction with DAPI counterstaining to identify chromosomes containing transgene inserts in amphidiploids tobacco. *Chromosoma* 105:231-236.
- Pereira L. G. and Souza M.J. (2000). Nature and distribution of constitutive heterochromatin and NOR location in the grasshopper *Phaeoparia megacephala* (Romaleidae, Orthoptera). *Cytobios*, 103:101-119.
- Rocha M.F.; Souza M.J. and Tashiro T. (1997). Karyotype variability in the genus *Radacridium* (Orthoptera, Romaleidae, Romaleinae) *Cytologia* 62:53-60.
- Rocha M.F.; Souza M.J. and Moura R. C. (2004). Karyotypic analysis, constitutive heterochromatin and NOR distribution in five grasshopper species of the subfamily Leptysminae (Acrididae). *Caryologia*, 57(1):107-116.
- Ronderos, R.A.(1979). La familia Ommexechidae (Orthoptera, Acridoidea). *Acrida*, 8 (4) :241-273.
- Rufas J. S., Esponda P. and Gosálvez J. (1985). NOR and nucleolus in the spermatogenesis of acridoid grasshoppers. *Genetica* 66:139-144.
- Souza M.J and Kido H. M. L. (1995) Variability of constitutive heterochromatin in karyotypes of representatives of the family Romaleidae (Orthoptera). *Braz. Jour. Gen.*18(4) 517-520.
- Souza M.J, Rufas J.S. and Orellana J. (1998). Constitutive heterochromatin, NOR location and FISH in the grasshopper *Xyleus angulatus* (Romaleidae). *Caryologia* 51(1): 73-80.

- Souza M.J.; Haver O.R.P. and Melo F. N. (2003). Karyotype, C-and fluorescence banding patterns NOR location and FISH in the grasshopper *Xestotrachelus robustus* (Romaleidae). *Caryologia*, 56(3):261-267.
- Souza M.J. and Melo F. N. (2007). Chromosome study in *Schistocerca* (Orthoptera- Acrididae-Cyrtacanthacridinae): Karyotypes and distribution patterns of constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions (NORs). *Gen. Mol. Biol.* 30(1):54-59.
- Sumner A.T. (1972). A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* 75:304-306.
- Sumner A.T. (1990). Chromosome banding. First edition. Academic Division of Unwin Hyman Ltda., London. 434p.
- Schweizer D., Mendelak M., White M. J. D. and Contreras N., (1983). Cytogenetics of the parthenogenetic grasshopper *Warramba virgo* and its bisexual relatives. X. Pattern of fluorescent banding. *Chromosoma (Berl.)* 88:227-236.

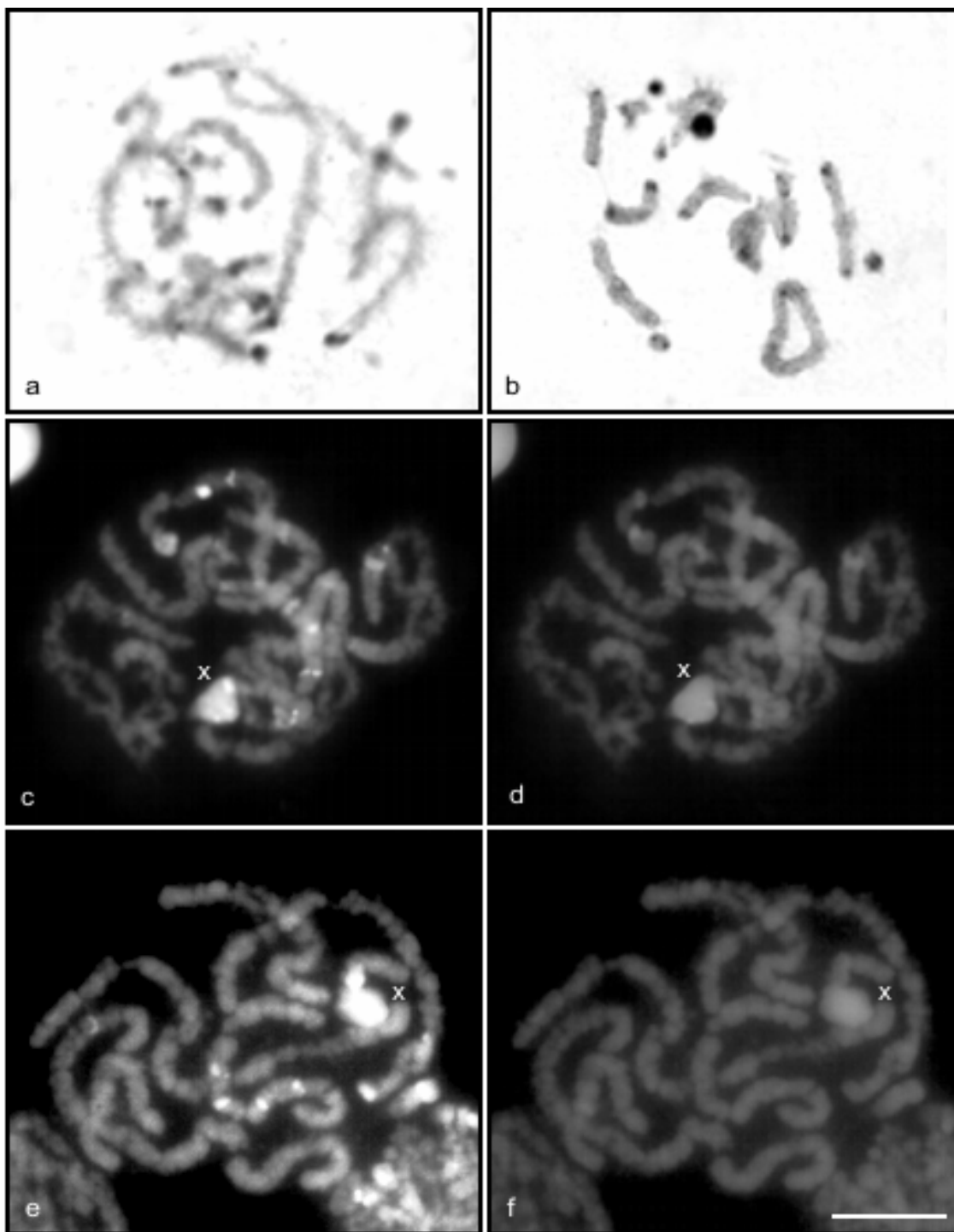
## Tabela 1

Tabela 1- Espécies, localidades de coletas, coordenadas geográficas e número de indivíduos analisados

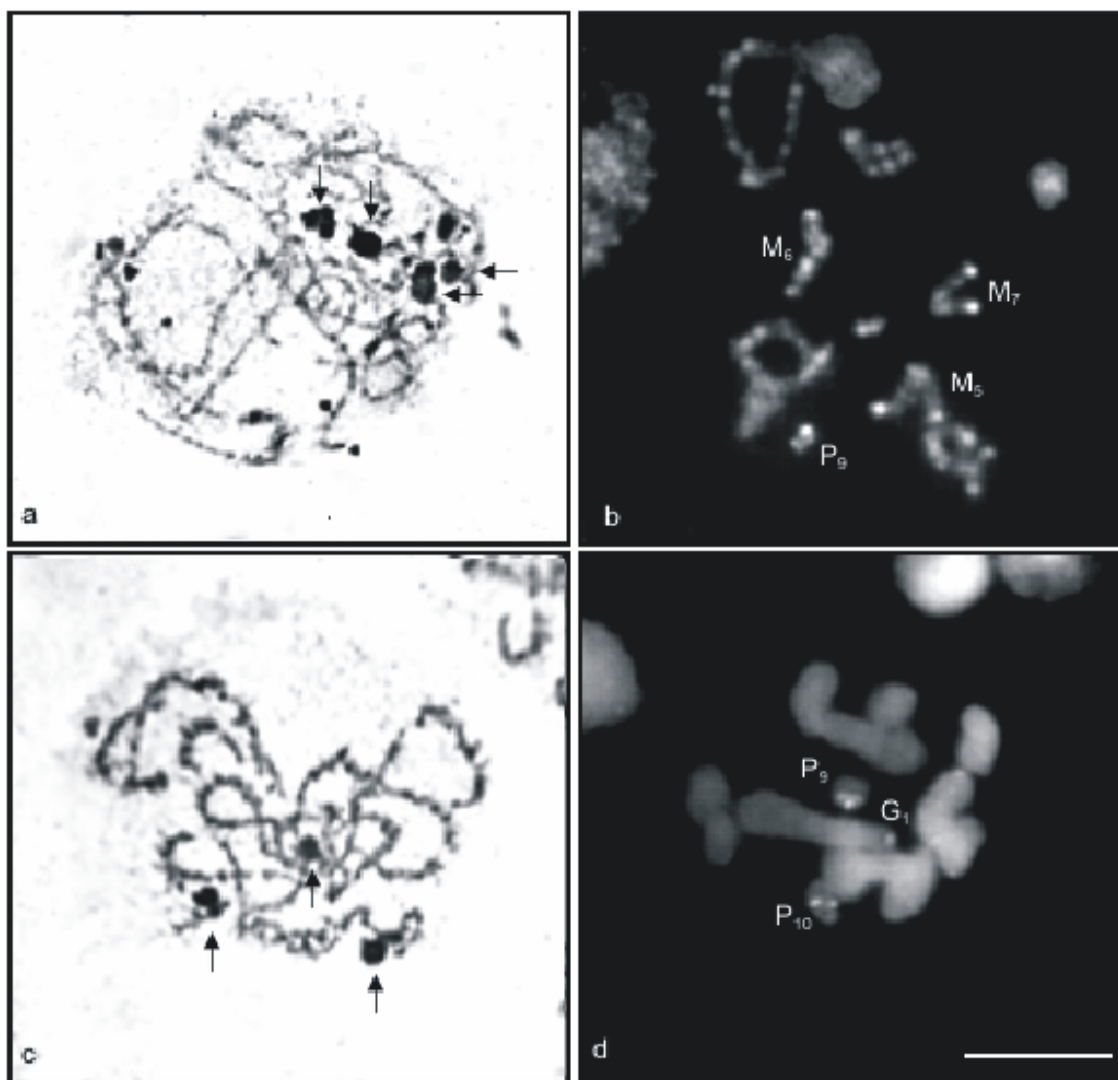
| Espécies                                           | Localidades        | Coordenadas           | Indivíduos analisados |
|----------------------------------------------------|--------------------|-----------------------|-----------------------|
| <i>Ommexecha virens</i><br>(Serville 1831)         | Buíque (PE)        | 8°37'23"S:37°9'12"W   | 8                     |
|                                                    | Itamaracá (PE)     | 7°44'52"S:34°51'19"W  | 9                     |
|                                                    | Sobradinho (BA)    | 9°27'19"S:40°49'24"W  | 6                     |
|                                                    | Rio de Contas (BA) | 13°34'44"S:41°48'41"W | 7                     |
|                                                    | Itaberaba (BA)     | 12°31'39"S:40°18'25"W | 6                     |
| <i>Descampsacris serrulatum</i><br>(Thunberg 1824) | Rio de Contas (BA) | 13°34'44"S:41°48'41"W | 6                     |
|                                                    | Andaraí (BA)       | 12°48'26"S:41°19'53"W | 3                     |
|                                                    | Mucugê (BA)        | 13°0'19"S:41°22'45"W  | 2                     |



**Figura 1.** Coloração convencional em células mitóticas e meióticas de *Descampsacris serrulatum* (a, b), *Ommexecha virens* (c-e) (a) metáfase espermatogonial (b) paquíteno (c) metáfase I (d) anáfase I (e) anáfase II. Barra 5 μm.



**Figura 2.** Padrão de bandeamento C em *Descampsacris serrulatum* (a) paquíteno (b) diplóteno, tríplice coloração CMA<sub>3</sub>/DA/DAPI em células paquítenica de *Descampsacris serrulatum* (c,d) e *Ommexecha virens* (e,f). Barra 5 µm.



**Figura 3.** Coloração com nitrato de prata (**a,c**) e FISH com sonda de DNA<sub>r</sub> 45S (**b,d**). Zigóteno e paquíteno de *Descampsacris serrulatum* (**a,b**) e zigóteno e diacinese de *Ommexecha virens* (**c-d**). Em (b,d) as setas indicam os sítios de DNA<sub>r</sub> obtidos pela FISH em *D. serrulatum*. Barra 5  $\mu$ m.

## VI. CONCLUSÕES

A análise cariotípica em duas espécies de gafanhoto da família Ommexechidae, (*Ommexecha virens* e *Descampsacris serrulatum*) usando técnicas citogenéticas de coloração convencional, bandeamento C, coloração com nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) fluorocromos base específicas (CMA<sub>3</sub> e DAPI) e hibridização *in situ* fluorescente (FISH) com sonda de DNA<sub>r</sub> permitiu as seguintes conclusões:

1. As duas espécies apresentaram similaridades cariotípicas quanto ao número diplóide  $2n=23$ , mecanismo de determinação sexual XO, e morfologia predominantemente acrocêntrica, amplamente conservada em gafanhotos. O par 1 (marcador cariotípico) submetacêntrico, oriundo de inversão pericêntrica é comum dentre os ommexechídeos. Rearranjos cromossômicos, como inversões pericêntricas, podem estar envolvidos nas diferenças de tamanho e morfologia do cromossomo X, para a família Ommexechidae.
2. O padrão pericentromérico de distribuição de HC, em *D. serrulatum*, coincide com aquele encontrado em *Spathalium helios*. Entretanto, o bandeamento C não mostrou eficácia para detecção da HC em *O. virens*. A HC rica em blocos CMA<sub>3</sub> positivos em ambas as espécies concide com o padrão observado em outras representantates de acridoideos.
3. *Ommexecha virens* e *D. serrulatum* apresentaram RONS autossômicas (3 e 4, respectivamente) envolvendo mais de dois pares, cromossômicos padrão raro para gafanhotos. A localização das RONS em cromossomos de tamanhos diferentes indica uma tendência de variabilidade intergenérica em Ommexechidae.
4. Os sítios de DNA<sub>r</sub> localizados pela FISH em *O. virens* e *D. serrulatum*, 3 e 4 respectivamente difere do padrão comum descrito para gafanhotos. Em adição, os resulatdos observados pela FISH concidiram com aqueles obtidos pela impregnação pelo nitrato de prata.

## VII. ABSTRACT

The chromosomes of *Ommexecha virens* and *Descampsacris serrulatum* (Ommexechidae) were analyzed through conventional technique, impregnation with silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ), C-banding, base specific fluorochromes and fluorescence *in situ* hybridization (FISH). The two species showed diploid number  $2n=23,X0$  in the males and acrocentric chromosomes, except the pair 1 that presented submetacentric morphology. The X chromosome possesses different morphology in the two species, being acrocentric medium in *O. virens* and big submetacentric in *D. serrulatum*. The C-banding revealed blocks of constitutive heterochromatin (CH) in all the chromosomes of *D. serrulatum*. The staining  $\text{CMA}_3/\text{DA}/\text{DAPI}$ , showed blocks of rich CH in base pairs GC (positive  $\text{CMA}_3$ ) in some chromosomes of the complement of the two species. The nucleolar organizer regions (NORs) identified for  $\text{AgNO}_3$  were located in three autosomal bivalents of *O. virens* and four bivalents of *D. serrulatum*. The technique of FISH showed coincident results with the pattern of active NORs revealed by the staining  $\text{AgNO}_3$  in the two species. That work presents the first chromosomal data, obtained through techniques differential cytogenetics, in Ommexechidae, contributing to a better characterization of the karyotypic evolution in that family.

Key words: Ommexechidae, Heterochromatin, NORs, FISH

## VIII. APÊNDICE

## VIII.1. Fotos das Espécies Estudadas



**Figura 4.** Fotos representativas das duas espécies estudadas. Em a e b machos de *Ommexecha virens*, forma áptera e alada, respectivamente. Em c machos de *Descampsacris serrulatum*.

## IX. ANEXOS

## IX. 2. Normas da Revista Genetics and Molecular Biology

<http://www.sbg.org.br>

**Genetics and Molecular Biology** (formerly named Revista Brasileira de Genética/Brazilian Journal of Genetics - ISSN 0100-8455) is published quarterly by the Sociedade Brasileira de Genética ([Brazilian Society of Genetics](#)).

The Journal considers contributions that present the results of original research in genetics, evolution and related scientific disciplines.

Although **Genetics and Molecular Biology** is an official publication of the Brazilian Society of Genetics, contributors are not required to be members of the Society.

It is a fundamental condition that submitted manuscripts have not been and will not be published elsewhere. With the acceptance of a manuscript for publication, the publishers acquire full and exclusive copyright for all languages and countries.

Manuscripts considered in conformity with the scope of the journal as judged by the Editor in conjunction with the Editorial Board are reviewed by the Associate Editors and two or more external reviewers. Acceptance by the Editor is based on the quality of the work as a substantial contribution to the field and on the overall presentation of the manuscript.

### Submission of papers

#### 1. Manuscripts should be submitted to:

Angela M. Vianna-Morgante, Editor-in-Chief  
Genetics and Molecular Biology  
Rua Capitão Adelmio Norberto da Silva, 736  
14025-670 Ribeirão Preto, SP - Brazil

#### 2. A submission package sent to the Editorial Office must contain:

a) A cover letter stating that all authors have approved the submission of the manuscript. The letter must be signed by the Corresponding Author and must inform the e-mail addresses of all other authors so that they can be contacted by the Editorial Office for confirmation of the submission.

**b)** An electronic copy of the text, tables and figures. Formats for text are Word or RTF, in Windows platform. Images in TIFF or JPEG formats should be sent in separate files (For Figures, see detailed instructions in 3.1.h). Mailed CD-ROMs must be labeled with the first author's last name, platform and software (see detailed instructions below). This CD should also include files of Supplementary Material to be published online only, as well as of any unpublished or in press material cited in the text. Failure to adhere to these guidelines can delay the handling of your contribution and manuscripts may be returned before being reviewed.

**c)** Manuscripts including photos or any other identifiable data of human subjects must be accompanied by a copy of the signed consent by the individual or his/her guardian.

### **3. Categories of Contribution 3.1. Research Articles**

#### **3.1. Research Articles**

Manuscripts must be written in English in double-spaced, 12-point type throughout, including the References Cited section, appendices, tables and legends; formatted to A4 paper with 2.5 cm margins; marked with consecutive page numbers, beginning with the cover page.

The following elements must start on a new page and be ordered as they are listed below:

**a) The title page** must contain: a concise and informative title; the authors' names (first name at full length); the authors' institutional affiliation, including department, institution, city, state or province and country; different affiliations indicated with superscript numbers; a short running title of about 35 characters, including spaces; up to five key words; the corresponding author's name, postal address, phone and fax numbers and email address. The corresponding author is the person responsible for checking the page proofs, arranging for the payment of color illustrations and author's alteration charges.

**b) The Abstract** must be a single paragraph that does not exceed 200 words and summarizes the main results and conclusions of the study. It should not contain references.

**c) The text** must be as succinct as possible. *Text citations:* articles should be referred to by authors' surnames and date

of publication; citations with two authors must include both names; in citations with three or more authors, name the first author and use *et al.* List two or more references in the same citation in chronological order, separated by semicolons. When two or more works in a citation were published in the same year, list them alphabetically by the first author surname. For two or more works by the same author(s) in a citation, list them chronologically, with the years separated by commas. (Example: Freire-Maia *et al.*, 1966a, 1966b, 2000). Only articles that are published or in press should be cited. In the case of personal communications or unpublished results, all contributors must be listed by initials and last name (*et al.* should not be used). *Numbers*: In the text, numbers nine or less must be written out except as part of a date, a fraction or decimal, a percentage, or a unit of measurement. Use Arabic numerals for numbers larger than nine. Avoid starting a sentence with a number. *Binomial Names*: Latin names of genera, species and intraspecific taxa in the text must be printed in italics; names of orders and families should appear in the Title and also when first mentioned in the text. URLs for programs, data or other sources should be listed in the Internet Resources Section, immediately after the References Section, not in the text. URLs for citations of publications in electronic journals should appear in the reference section.

The text includes the following elements:

*Introduction* - Description of the background that led to the study.

*Material (or Subjects) and Methods* - Details relevant to the conduct of the study. Statistical methods should be explained at the end of this section.

*Results* - Undue repetition in text and tables should be avoided. Comment on significance of results is appropriate but broader discussion should be part of the Discussion section.

*Discussion* - The findings of the study should be placed in context of relevant published data. Ideas presented in other publications should not be discussed solely to make an exhaustive presentation.

Some manuscripts may require different formats appropriate

to their content.

d) **The Acknowledgments** must be a single paragraph that immediately follows the discussion and includes references to grant support.

e) **The References Section:** references must be ordered alphabetically by the first author surname; references with the same first author should be ordered as follows: first, as single author in chronological order; next, with only one more co-author in alphabetical order by the second author; and finally followed by references with more than two co-authors, in chronological order, independent of the second author surnames. In references with more than 10 authors only the first ten should be listed, followed by *et al.* Use standard abbreviations for journal titles.

Only articles that are published or in press should be included in this section. Works submitted for publication but not yet accepted, personal communications and unpublished data must be cited within the text. "Personal communication" refers to individuals other than the authors of the manuscript being submitted; "unpublished data" refers to data produced by at least one of the authors of the manuscript being submitted.

| <i>Sample</i>         | <i>journal</i> | <i>article</i>                                                                                                | <i>citation:</i>      |
|-----------------------|----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Breuer ME and Pavan C | (1955)         | Behaviour of polytene chromosomes of <i>Rhynchosciara angela</i> e at different stages of larval development. | Chromosoma 7:371-386. |

Yonenaga-Yassuda Y, Rodrigues MT and Pellegrino KCM (2005) Chromosomal banding patterns in the eyelid-less microteiid lizard radiation: The X1X1X2X2:X1X2Y sex chromosome system in *Calyptommatus* and the karyotypes of *Psilophtalmus* and *Tretioscincus* (Squamata, Gymnophthalmidae). *Genet Mol Biol* 28:700-709.

| <i>Sample</i> | <i>book</i>                                                                                      | <i>citation:</i> |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Dobzhansky T  | (1951) Genetics and Origin of Species. 3rd edition. Columbia University Press, New York, 364 pp. |                  |

| <i>Sample</i>                     | <i>chapter-in-book</i>                                                                                                                | <i>citation:</i> |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Crawford DC and Howard-Peebles PN | (2005) Fragile X: From cytogenetics to molecular genetics. In: Gersen SL and Keagle MB (eds) The Principles of Clinical Cytogenetics. |                  |

2nd edition. Humana Press, New Jersey, pp 495-513.

|                                                                              |                                                                                                                          |                      |                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <i>Sample</i>                                                                | <i>electronic</i>                                                                                                        | <i>article</i>       | <i>citation:</i>                                                      |
| Simin K, Wu H, Lu L, Pinkel D, Albertson D, Cardiff RD and Van Dyke T (2004) | pRb inactivation in mammary cells reveals common mechanisms for tumor initiation and progression in divergent epithelia. | Plos Biol 2:194-205. | <a href="http://www.plosbiology.org">http://www.plosbiology.org</a> . |

f) **Internet Resources Section:** this section should contain a list of URLs referring to data presented in the text, software programs and other Internet resources used during data processing. When databases are cited, date of consultation must be stated.

|                                             |                                                                                                                                             |                     |                  |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------|
| <i>Sample</i>                               | <i>Internet</i>                                                                                                                             | <i>resource</i>     | <i>citation:</i> |
| Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM), | <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM">http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM</a>                                                             | (September 4, 2005) | LEM Software,    |
|                                             | <a href="http://dir.niehs.nih.gov/dirbb/weinbergfiles/hybrid_design.htm">http://dir.niehs.nih.gov/dirbb/weinbergfiles/hybrid_design.htm</a> |                     |                  |

g) **Tables:** each table must start on a new page. A concise title should be provided above the table. Tables must be numbered consecutively in Arabic numerals. Each column must have a title in the box head. Footnotes typed directly below the table should be indicated in lowercase superscript numbers.

h) **Figures** must be numbered consecutively in Arabic numerals. Legends should be typed on a separate sheet. Images should be in TIFF or JPEG format and provided in separate files. Figures in Word format cannot be published. Journal quality reproduction will require grayscale and color at resolution yielding 300 dpi.

Authors should submit bitmapped line art at resolution yielding 600-1200 dpi. These resolutions refer to the output size of the file; if it is anticipated that images will be enlarged or reduced, the resolutions should be adjusted accordingly. Scanned figures should not be submitted. Identify each illustration by the first author name and the number of the respective figure. Color illustration can be accepted, but authors may be asked to defray the cost.

i) **Nomenclature** should adhere to current international

standards.

j) **Sequences** may appear in text or in figure. DNA, RNA and protein sequences equal to or greater than 50 units must be entered into public databases. The accession number must be provided and released to the general public together with publication of the article. Long sequences requiring more than two pages to reproduce will not be published unless the Editorial decision is that the publication is necessary. Complete mtDNA sequence will not be published.

k) **Data access:** reference should be made to availability of detailed data and materials used for reported studies.

l) **Ethical issues:** Reports of experiments on live vertebrates must include a brief statement that the institutional review board approved the work and the protocol number must be provided. For experiments involving human subjects, authors must also include a statement that informed consent was obtained from all subjects. If photos or any other identifiable data are included, a copy of the signed consent must accompany the manuscript.

m) **Supplementary Material:** Data that the authors consider of importance for completeness of a study, but which are too extensive to be included in the published version, can be submitted as Supplementary Material. This material will be made available together with the electronic version. In case a manuscript contains such material, it should be appropriately identified within the text. Supplementary material in tables should be identified as Table S1, Table S2, etc., in case of figures, they should be named accordingly, Figure S1, Figure S2. For online access, Supplementary material should be in PDF, JPEG or GIFF formats. In addition, a list of this material should be presented at the end of the manuscript text file, containing the following statement: *Supplementary material - the following online material is available for this article:*

- Table S1

.....

*This material is available as part of the online article from*

<http://www.scielo.br/gmb>

### **3.2 Short Communications**

Present brief observations that do not warrant full-length articles. They should not be considered preliminary communications. They should be 15 or fewer typed pages in double spaced 12-point type, including literature cited. They should include an Abstract no longer than five percent of the paper's length and no further subdivision with introduction, material and methods, results and discussion in a single section. Up to two tables and two figures may be submitted. The title page and reference section format is that of full-length article.

### **3.3 Letters to the Editor**

Relate or respond to recent published items in the journal. Discussions of political, social and ethical issues of interest to geneticists are also welcome in this form.

### **3.4 Review Articles**

Review Articles are welcome.

### **3.5 Book Reviews**

Publishers are invited to submit books on Genetics, Evolution and related disciplines, for review in the journal. Aspiring reviewers may propose writing a review.

### **3.6 History, Story and Memories**

Accounts on historical aspects of Genetics relating to Brazil.

### **4. Proofs and Copyright Transfer**

Page proofs will be sent to the corresponding author. Changes made to page proofs, apart from printer's errors, will be charged to the authors. Notes added in proof require Editorial approval. A form of consent to publish and transfer of copyright will have to be signed by the corresponding author, also on behalf of any co-authors.

### **5. Reprints**

Reprints are free of charge and provided as a pdf-file.