



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BACHARELADO

MARCELYE MARIAM FREITAS DA SILVA

CROMOSSOMOS B: OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO EM FÊMEAS DE
***Xyleus discoideus angulatus* (ORTHOPTERA - ROMALEIDAE)**

Recife
2024

MARCELYE MARIAM FREITAS DA SILVA

**CROMOSSOMOS B: OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO EM FÊMEAS DE
Xyleus discoideus angulatus (ORTHOPTERA - ROMALEIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas - Bacharelado da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de Bacharel
em Ciências Biológicas.

Orientador (a): Prof^a Dr^a Vilma Loreto da Silva

Recife
2024

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Marcelye Mariam Freitas da.

Cromossomos B: ocorrência e distribuição em fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* (Orthoptera - Romaleidae) / Marcelye Mariam Freitas da Silva. - Recife, 2024.

73 p. : il., tab.

Orientador(a): Vilma Loreto da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas - Bacharelado, 2024.

Inclui referências.

1. Cromossomos B. 2. *Xyleus discoideus angulatus*. 3. Citogenética. 4. Alteração cromossômica. 5. Gafanhoto. I. Silva, Vilma Loreto da. (Orientação). II. Título.

570 CDD (22.ed.)

MARCELYE MARIAM FREITAS DA SILVA

**CROMOSSOMOS B: OCORRÊNCIA E DISTRIBUIÇÃO EM FÊMEAS DE
Xyleus discoideus angulatus (ORTHOPTERA - ROMALEIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas - Bacharelado da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Aprovado em: ____/____/____

COMISSÃO EXAMINADORA

Profa. Dra. Vilma Loreto da Silva (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Neide Santos (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Andrea Pedrosa Harand (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

É com imensa satisfação que expresso minha mais sincera gratidão a cada um que contribuiu para a realização deste trabalho.

Primeiramente agradeço à Deus, por me permitir chegar até aqui, por nunca me desamparar e por toda oportunidade e todas as conquistas alcançadas ao longo de minha jornada acadêmica.

Expresso minha imensa gratidão à minha professora orientadora, doutora Vilma Loreto, por todo aprendizado, todo apoio e todos os ensinamentos, desde o momento que me aceitou em seu laboratório até aqui, por me guiar nessa jornada tão gratificante, e por sempre sanar todas as minhas dúvidas e ser tão inspiradora, receptiva e compreensiva.

Aos meus pais, Lílian e Robson, e às minhas amadas irmãs, Sanly, Maria e Samantha, agradeço por todo apoio, incentivo e conselhos, e toda a inspiração e exemplo de força e perseverança que são em minha vida.

Ao meu querido amigo Daniel, meu sincero agradecimento por toda companhia, apoio e ajuda nos momentos mais difíceis dessa estrada que caminhamos juntos. É uma alegria imensa poder contar com você em minha vida, não só no meio institucional, como fora dele.

À professora doutora Neide Santos, expresso minha gratidão por toda ajuda e conselhos, e por ser tão receptiva, acolhedora e atenciosa, foi um prazer enorme contar com sua presença e apoio durante a realização deste trabalho.

À todos os meus colegas do Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana (LGCAH), agradeço por todas as conversas e trocas de saberes, todas as risadas e todo apoio. Foi maravilhoso desenvolver um projeto tão importante para mim em um laboratório cheio de boa convivência, a experiência não teria sido a mesma sem vocês.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) agradeço pelo financiamento do Projeto de Iniciação Científica que tornou possível o desenvolvimento do presente trabalho.

À todos aqui mencionados e aos demais amigos, obrigada por fazerem parte e ajudarem a tornar ainda mais especial essa etapa tão importante de minha vida.

RESUMO

Os cromossomos B são elementos extras dispensáveis no cariótipo de um organismo. A espécie de gafanhoto *Xyleus discoideus angulatus*, possui cariótipo $2n = 23,X0$ (machos) e $2n = 24,XX$ (fêmeas) com cromossomos acrocêntricos. O objetivo do presente trabalho foi estudar citogeneticamente fêmeas de *Xyleus d. angulatus* amostradas nos estados do Ceará e Pernambuco, analisando a ocorrência e prevalência de cromossomos B. Para o estudo foram utilizados 32 indivíduos previamente coletados em Juazeiro do Norte-CE em 2011 (população 1) e 2013 (população 2), no Cabo de Santo Agostinho-PE em 2012 (população 3) e em Bezerros-PE em 2006 (população 4). Para obtenção das preparações citológicas foi aplicada a técnica de esmagamento de folículos ovarianos e coloração convencional, além da técnica de bandeamento C. Do total de 15 indivíduos do Ceará, 6 possuíam cromossomos B. Destes, 5 tinham 1B, $2n = 25,XX,+B$, e 1 tinha 2B, $2n = 26,XX,+2B$, representando 40% de prevalência. Dos outros 17 indivíduos de Pernambuco, 5 possuíam cromossomos B, destes 4 tinham 1B e 1 tinha 2B, representando 29,41% de prevalência, o que correspondeu a cerca de 11% de prevalência a menos que o Ceará. Os demais indivíduos possuíam cariótipo sem alterações, $2n = 24,XX$ (0B), e dentre os indivíduos com B, quatro eram portadores de mosaicismo. A prevalência de B nas populações 1, 2, 3 e 4 foi de 25%, ~57%, ~17% e 60%, respectivamente, possuindo uma prevalência total das amostras de 34,38%. Comparativamente as prevalências já descritas para os machos das mesmas localidades e período de tempo, sendo estas de 16,66% em Juazeiro de Norte-CE 2011/2013, 0% no Cabo de Santo Agostinho-PE 2012 e 13,64% em Bezerros 2004 a 2006, totalizando assim 10,7%, as fêmeas mostraram prevalência significativamente maior para todas as amostras. Quanto aos cromossomos B observados nas fêmeas através do bandeamento C, estes apresentaram bandas pericentromérica e intersticial nas populações de Pernambuco. O aumento da ocorrência de B nas fêmeas pode ser devido a: 1- Um aumento de mecanismo de acumulação nas fêmeas; 2- Possibilidade de haver uma segregação preferencial do cromossomo B com o cromossomo X durante a espermatogênese; 3- Existência de alguma função dos cromossomos B, sendo possível que os mesmos tenham causado alguma vantagem às fêmeas, do que comparado às vantagens ou desvantagem de estarem nos machos; 4- Existência de alguma função na determinação sexual da espécie; 5- Possibilidade dos cromossomos B da espécie possuírem uma viabilidade maior quando presente na linhagem somática do organismo.

Palavras-Chave: Cromossomo B; Citogenética; *Xyleus d. angulatus*; Gafanhoto.

ABSTRACT

B chromosomes are extra, dispensable elements in the karyotype of an organism. The grasshopper species *Xyleus discoideus angulatus* has a karyotype of $2n = 23, X0$ (males) and $2n = 24, XX$ (females) with acrocentric chromosomes. The objective of this study was to cytogenetically analyze females of *Xyleus d. angulatus* sampled from the states of Ceará and Pernambuco, analyzing the occurrence and prevalence of B chromosomes. A total of 32 individuals were used in this study, previously collected in Juazeiro do Norte-CE in 2011 (population 1) and 2013 (population 2), Cabo de Santo Agostinho-PE in 2012 (population 3), and Bezerros-PE in 2006 (population 4). For the cytological preparations, the ovarian follicle squashing technique and conventional staining, as well as the C-banding, were applied. Of the 15 individuals from Ceará, 6 had B chromosomes. Of these, 5 had 1B, $2n = 25, XX, +B$, and 1 had 2B, $2n = 26, XX, +2B$, representing a 40% prevalence. Among the other 17 individuals from Pernambuco, 5 had B chromosomes, of which 4 had 1B and 1 had 2B, representing a 29,41% prevalence, which was about 11% less than in Ceará. The remaining individuals had an unaltered karyotype, $2n = 24, XX$ (0B), and among the individuals with B, four exhibited mosaicism. The prevalence of B chromosomes in populations 1, 2, 3, and 4 was 25%, ~57%, ~17%, and 60%, respectively, with a total sample prevalence of 34,38%. Comparatively, the prevalences already described for males from the same locations and time periods were 16,66% for Juazeiro do Norte-CE 2011/2013, 0% Cabo de Santo Agostinho-PE 2012, and 13,64% for Bezerros 2004 to 2006, totaling 10,7%, showing that females had a significantly higher prevalence for all samples. Regarding the B chromosomes observed in females through C-banding, these presented pericentromeric and interstitial bands in the populations from Pernambuco. The increased occurrence of B chromosomes in females may be due to: 1- An increase in accumulation mechanisms in females; 2- The possibility of preferential segregation of the B chromosome with the X chromosome during spermatogenesis; 3- The existence of some function of B chromosomes, possibly providing an advantage to females compared to the advantages or disadvantages of being in males; 4- The existence of a role in sex determination in the species; 5- The possibility that B chromosomes in the species have greater viability when present in the somatic lineage of the organism.

Keywords: B Chromosome; Cytogenetics; *Xyleus d. angulatus*; Grasshopper.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** - Subespécies pertencentes à espécie *Xyleus discoideus*. *X. d. discoideus* (a); *X. d. rosulentus* (b), *X. d. venezuelae* (c), *X. d. mexicanus* (d); e *X. d. angulatus* (e).....18
- Figura 2** - Pronoto angulado da subespécie *Xyleus discoideus angulatus* evidenciando pela seta.....19
- Figura 3** - Cromossomos B de *Xyleus discoideus angulatus* em diplóteno (a) e metáfase I (b). Evidenciada a heteropicnose do cromossomo B semelhante a do X, positiva no diplóteno e negativa na metáfase I.....35
- Figura 4** - Coloração convencional em células meióticas de *Xyleus discoideus angulatus* com cromossomos B de indivíduos do Ceará (a, b) e de Pernambuco (c, d). As figuras (a, c) mostram células em diplóteno e as figuras (b, d) mostram células em metáfase I.....35
- Figura 5** - Mapa indicando os municípios de coleta das fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* analisadas. Juazeiro do Norte-CE indicado pelo símbolo em azul, Cabo de Santo Agostinho-PE pelo símbolo em verde e Bezerros-PE pelo símbolo em rosa.....38
- Figura 6** - Análise convencional de células mitóticas de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* de Juazeiro do Norte-CE, apresentando cariótipos: $2n = 24, XX$ (0B) (a, b); com um cromossomo B e cariótipo com $2n = 25, XX, +B$ (c, d); e com dois cromossomos B e cariótipo com $2n = 26, XX, +2B$ (e, f). Metáfases mitóticas em (a, c, e) e seus respectivos cariogramas em (b, d, f).....43
- Figura 7** - Análise convencional de células mitóticas de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* da população de Cabo de Santo Agostinho-PE, apresentando cariótipos: $2n = 24, XX$ (0B) (a, b); com um cromossomo B e cariótipo com $2n = 25, XX, +B$ (c, d); Metáfases mitóticas em (a, c) e seus respectivos cariogramas em (b, d).....43

Figura 8 - Análise convencional de células mitóticas de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* da população de Bezerros-PE, apresentando cariótipos: $2n = 24,XX$ (0B) (a, b); com um cromossomo B e cariótipo com $2n = 25,XX,+B$ (c, d); e com dois cromossomos B e cariótipo com $2n = 26,XX,+2B$ (e, f). Metáfases mitóticas em (a, c, e) e seus respectivos cariogramas em (b, d, f).....44

Figura 9 - Análise do bandejamento C de fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus*, apresentando cariótipo $2n = 24,XX$ (0B) em: Metáfase mitótica (a); e seu respectivo cariograma (b).....45

Figura 10 - Análise do bandejamento C de fêmeas de *Xyleus d. angulatus*, apresentando cariótipo $2n = 25,XX,+B$ (1B), em metáfase mitótica. A seta vermelha indica o cromossomo B no cariótipo.....45

Figura 11 - Prevalência de cromossomos B observada nas fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus*, nas populações de Juazeiro do Norte-CE, 2011 - População 1 (a); Juazeiro do Norte-CE, 2013 - População 2 (b); Cabo de Santo Agostinho-PE, 2012 - População 3 (c); Bezerros-PE, 2006 - População 4 (d); na amostra populacional total do Ceará (e); e na amostra populacional total de Pernambuco (f).....47

Figura 12 - Prevalência de cromossomos B observadas nas fêmeas e nos machos de *Xyleus discoideus angulatus*, nas populações de Juazeiro do Norte-CE, 2011/2013 (a); Cabo de Santo Agostinho-PE, 2012 (b); e Bezerros-PE, 2006 e 2004 a 2006 (c). Prevalências de fêmeas em azul claro e prevalências de machos em azul escuro.....49

Figura 13 - Prevalência de cromossomos B observadas nas fêmeas e nos machos de *Xyleus discoideus angulatus*, nas populações do Ceará (a, b); Pernambuco (c, d); e no total das amostras populacionais (e, f).....50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Prevalência e quantidade de indivíduos com cromossomo B para cada uma das quatro populações de fêmea de <i>Xyleus discoideus angulatus</i> , juntamente com dados das populações de machos para as mesmas localidades.....	47
--	----

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	15
2.1. TAXONOMIA E CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA ROMALEIDAE	15
2.1.1. A SUBESPÉCIE <i>Xyleus discoideus angulatus</i>	17
2.2. CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS DA FAMÍLIA ROMALEIDAE E DA SUBESPÉCIE <i>Xyleus discoideus angulatus</i>	20
2.3. CROMOSSOMOS B	22
2.3.1. CROMOSSOMOS B EM GAFANHOTOS	29
2.3.2. CROMOSSOMOS B EM <i>Xyleus discoideus angulatus</i>	33
3. OBJETIVOS	37
3.1. OBJETIVO GERAL	37
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	37
4. METODOLOGIA	38
4.1. COLETA, TRATAMENTO E ARMAZENAMENTO DO MATERIAL	38
4.2. PREPARAÇÃO DE LÂMINAS COM COLORAÇÃO CONVENCIONAL.....	39
4.3. PREPARAÇÃO DE LÂMINAS E BANDEAMENTO C	40
4.4. ANÁLISE E REGISTRO	41
5. RESULTADOS.....	42
6. DISCUSSÃO	52
7. CONCLUSÃO	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1. INTRODUÇÃO

Cromossomos B, também chamados cromossomos supernumerários ou extras, se caracterizam como uma alteração cromossômica numérica que resultam em aumento do número cromossômico nos indivíduos das espécies que os possuem. Estes elementos extras foram descritos em mais de 15% de espécies de eucariotas e particularmente em insetos eles são muito frequentes (Vilardi, 1986a; Camacho, 2005). Em gafanhotos são caracterizados como um polimorfismo e seus estudos servem de modelo para o entendimento sobre ocorrência, frequência e dinâmica evolutiva de populações deste tipo de cromossomo (Loreto *et al.*, 2008; Machado *et al.*, 2014; Bernardino *et al.*, 2017).

Os cromossomos B podem ser estudados citogeneticamente através de diferentes técnicas ou abordagens buscando compreender melhor sua natureza e evolução. Na análise convencional é possível classificar o cromossomo B quanto ao tipo, tamanho e morfologia (Machado *et al.*, 2014). Pelo bandejamento C, verificar a distribuição de heterocromatina constitutiva (HC) (Henriques-Gil, Santos e Arana, 1984; Bakkali e Camacho, 2004). A técnica de FISH permite caracterizar a presença de algumas classes de DNA repetitivo, como DNAr 45S, 5S e Histona em Bs (Abdelaziz *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011), além de outras frações de DNA repetitivo como o C0t (DNA repetitivo isolado com base na renaturação do DNA genômico desnaturado, dentro de um período de tempo e concentração definidos) (Cabral-de-Mello *et al.*, 2010).

Em algumas espécies, a transmissão e distribuição de cromossomos B para as células filhas ocorrem de maneira diferente aos outros cromossomos do complemento devido a não disjunção de cromossomos B que pode causar variação no número desses elementos entre as células de um mesmo indivíduo, resultando no direcionamento mitótico e meiótico e acumulação (Camacho, Sharbel e Beukeboom, 2000).

A família Romaleidae possui mais de 430 espécies, distribuídas em 80 gêneros e 3 subfamílias: *Romaleinae*, *Aucacrinae* e *Trybliophorinae*. Sua distribuição é predominante na região Neotropical, com representantes da Argentina ao México (Carbonell, 1977). Representantes da família Romaleidae podem ser encontrados no Brasil em todas as regiões, principalmente no Norte e Nordeste. No nordeste do

Brasil, mais de 15 espécies foram relatadas, entre elas destaca-se o gênero *Radacridium*, a espécie *Xyleus discoideus angulatus* e o gênero *Brasilacris*, que é monotípico e encontrado exclusivamente nesta região (Souza e Kido, 1995; Carbonell, 2004). Romaleidae tem em sua maioria espécies com cariótipo conservado apresentando o número diploide $2n = 23,X0$ em machos e $2n = 24,XX$ em fêmeas, com cromossomos acrocêntricos (Mesa, Ferreira e Carbonell, 1982).

A presença de cromossomos B em *Xyleus discoideus angulatus* foi primeiramente descrita por Souza e Kido (1995), em exemplares de Pernambuco. Os autores detectaram um elemento numericamente instável, que variou de um a dois em fêmeas da população de Igarassu, com tamanho e morfologia semelhante ao X, de natureza heterocromática e com prevalência de 27,7%. Esta instabilidade foi atribuída ao direcionamento meiótico dos cromossomos B. Porém, Machado *et al.* (2014) verificaram que indivíduos machos não apresentavam esta variação numérica, o que caracteriza uma ausência de mecanismo de acumulação.

A investigação da possível origem do cromossomo supernumerário em *Xyleus discoideus angulatus* também foi realizada com base no padrão de HC e no mapeamento físico de genes de DNAr. Neste estudo, foi proposto que o cromossomo B se originou a partir de um autossomo, visto que a localização de um sítio de DNAr estava presente no cromossomo X e ausente no B (Loreto *et al.*, 2008).

Posteriormente, um grande levantamento de ocorrência e distribuição de cromossomos B em indivíduos machos de populações de Pernambuco (14 localidades) e do Ceará (5 localidades) foi realizado por Bernardino *et al.* (2017) onde foi possível verificar que nas populações em que o cromossomo B foi encontrado sua taxa de prevalência estava estável. Além disso, este trabalho também identificou novas variantes do cromossomo B indicando que eventos mutacionais relacionados com modificações nas sequências de DNA repetitivo do cromossomo B eram frequentes. Contudo, poucas informações estão disponíveis na literatura a respeito da ocorrência, prevalência e distribuição de cromossomos B em fêmeas das espécies que os possuem. Um dos poucos trabalhos foi com a espécie *Melanoplus femur-rubrum* em que na população de fêmeas foi visto 9,1% dos indivíduos portando um cromossomo B metacêntrico que tinha uma taxa de transmissão para a prole acima de 80%, muito superior a proporção de transmissão mendeliana esperada de 50% (Lucov e Nur, 1973). Em

outro estudo que analisou indivíduos da espécie *Eyprepocnemis plorans* foi observado ocorrência de cromossomo B em fêmeas com um total de prevalência equivalente a 46,15% (Manrique-Poyato *et al.*, 2006).

Para *Xyleus d. angulatus*, a única análise de fêmeas, foi apenas para a população de Igarassu. Desta forma, um estudo que possa verificar a ocorrência e a distribuição de cromossomos B em fêmeas seria de grande importância para entender quais os mecanismos envolvidos na transmissão deste cromossomo nas populações de Pernambuco e Ceará da espécie.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. TAXONOMIA E CARACTERÍSTICAS DA FAMÍLIA ROMALEIDAE

A família Romaleidae, se inclui dentro da ordem Orthoptera, que é formada por uma enorme diversidade de insetos popularmente conhecidos como gafanhotos, grilos e esperanças, compreendendo mais de 25.000 espécies (Braga *et al.*, 2015). A família possui mais de 430 espécies, incluídas em cerca de 80 gêneros, sendo considerada a segunda maior família neotropical de gafanhotos (Carbonell, 1977; Braga *et al.*, 2015). Está incluída ainda dentro da superfamília *Acridoidea* e se divide em três subfamílias, sendo estas *Romaleinae*, *Aucacrinae* e *Trybliophorinae* (Amedegnato, 1976; Eades, 2000; Song, 2010).

Esta família é endêmica do Novo mundo (continente americano), estando fortemente distribuída na América do Sul e América Central, e considera-se que sua origem provavelmente ocorreu na América do Sul (Listre, 2009; Song *et al.*, 2018). Além disso, um estudo recente sugeriu através de análise biogeográfica que o ancestral comum de Romaleidae e outras famílias de Acridoidea (Tristiridae, Ommexechidae e Acrididae) divergiu de seus parentes do Velho Mundo no Cretáceo Superior por conta da vicariância quando ocorreu a separação entre o continente sul-americano e o africano (Song *et al.*, 2018).

Romaleidae possui uma distribuição majoritariamente Neotropical nas Américas, apesar de alguns de seus gêneros terem invadido a região Neártica (Amedegnato, 1974; Carbonell, 1977). A família ocorre desde regiões semiáridas até florestas tropicais (Carbonell, 1977, 1984, 1986, 2002). A amplitude de distribuição na região Neotropical é vista também na presença de seus representantes no continente como um todo, sendo estes encontrados da Argentina ao México (Carbonell, 1977; Braga *et al.*, 2015). Quanto a sua distribuição no território brasileiro, estes são encontrados em todas as regiões, especialmente no Norte e Nordeste, sendo observadas cerca de 168 das mais de 430 espécies da família. No Nordeste do Brasil seus representantes ocorrem da Caatinga a Mata Atlântica (Carbonell, 1977), e sua diversidade na região é marcada pela presença de mais de 15 espécies, apresentando ainda gêneros endêmicos dessa região, como *Brasilacris* (Souza e Kido, 1995; Carbonell, 2004) e *Radacridium* (Romaleinae). Este último compreende três espécies, sendo elas *R. nordestinum* presente nos estados da

Bahia, Paraíba e Pernambuco; *R. adamantinum* distribuído na Bahia; e *R. mariajoseae* presente no estado de Pernambuco (Carbonell, 1986).

Os gafanhotos dessa família possuem variações em tamanhos, habitats, formas, cores e morfologia das asas e cabeça, porém possuem uma morfologia facilmente reconhecida nas patas, com um espinho apical imóvel na face externa das tíbias posteriores e um prosterno em geral apresentando um espinho médio ou uma saliência arredondada. Além disso são robustos, de grande porte e asas posteriores de diferentes cores e brilhantes, algumas espécies são ainda braquípteras e raras são ápteras, possuem também a característica de serem geralmente reconhecidos como rústicos. Nesta família também é possível encontrar os maiores gafanhotos, em tamanho corporal e biomassa, conhecidos na natureza (Triplehorn e Johnson, 2005; Braga *et al.*, 2015).

Os gafanhotos dessa família possuem uma característica única entre as famílias que habitam as copas das árvores, possuindo uma incrível capacidade de produção de sons. Capacidade esta presente em Romaleidae exclusivamente em espécies da subfamília *Romaleinae*, como, por exemplo, em *Coryacris angustipennis*, *Elaeochlora viridicata*, *Xyleus* sp. e *Prionolopha serrata*. Essa habilidade ocorre graças a um mecanismo de estridulação, onde uma forte veia (estrutura tubular oca presente nas asas) localizada na parte inferior das asas anteriores e as veias localizadas nas asas posteriores produzem sons quando são friccionadas. Os machos da subfamília podem utilizar esse mecanismo para a produção de sons distintos e destacados. Estes sinais acústicos são semelhantes em diferentes espécies e o comportamento pode funcionar na interação macho-macho e durante a cópula, além disso, os feromônios sexuais também desempenham um papel em *Romaleinae* (Riede, 1987).

Há também uma grande diversidade nos hábitos alimentares da família Romaleidae, visto que os gafanhotos são insetos herbívoros por natureza, e seu hábito alimentar constitui, portanto, um ponto crucial de sua biologia. A dieta da família é constituída por folhas, brotos e flores e sofre influência da espécie e das condições ambientais em que vivem, bem como da disponibilidade de alimentos em certas circunstâncias (Maranhão, 1976).

Esses gafanhotos podem também alimentar-se de plantas cultivadas, sendo alguns deles considerados em várias áreas agrícolas como praga, a exemplo das espécies *Tropidacris collaris* (Romaleidae), *Brachystola magna* (Acrididae) e

Romalea microptera (Romaleidae) (Capinera, 2014; Lhano *et al.*, 2019; Mariño-Pérez *et al.*, 2019). Devido a capacidade de consumir grandes quantidades de plantações e prejudicando, portanto, a produção agrícola, isso faz com que tais insetos sejam importantes na economia deste setor (Fernandes e Pádua, 2018). Por outro lado, os gafanhotos são também insetos importantíssimos no ecossistema, visto que são alimento para outros animais, tanto para invertebrados, quanto para vertebrados, contribuindo assim para o equilíbrio das diferentes populações de espécies, mantendo portanto um equilíbrio na cadeia alimentar (Gandar, 1982; Joern *et al.*, 2006; Bittar, 2013). Os gafanhotos contribuem ainda em ecossistemas campestres, para mais da metade da biomassa total de artrópodes na camada de gramíneas acima do solo, e possuem um grande impacto ecológico em pastagens em relação à ciclagem de nutrientes (Mitchell e Pfadt, 1974; Gillon, 1983; Belovsky e Slade, 1993; Gangwere, Muralirangan, M. C. e Muralirangan, M., 1997).

2.1.1. A SUBESPÉCIE *Xyleus discoideus angulatus*

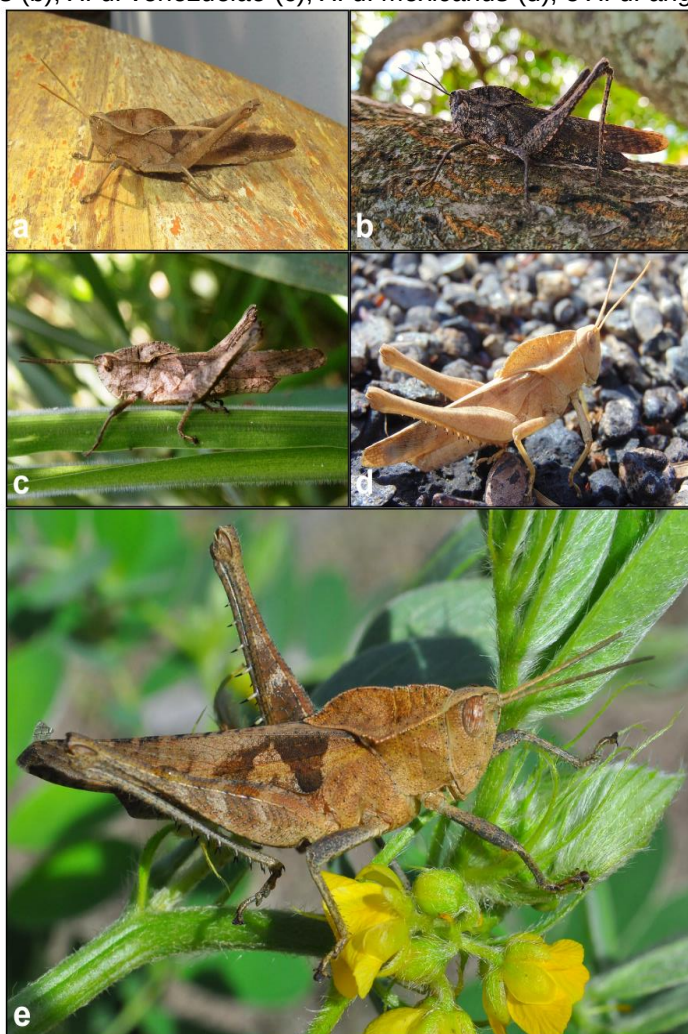
Descrito por Gistel (1848) pela primeira vez, o gênero *Xyleus* se inclui dentro da família Romaleidae e subfamília *Romaleinae*, e possui 21 espécies, incluindo cinco subespécies (Carbonell, 2004). A etimologia do gênero vem do grego, xylon = madeira (Brown, 1956) que por conta do seu padrão de coloração, faz alusão as várias das espécies de *Xyleus* se assemelharem com lascas de madeira e a origem do nome xyleus, que quer dizer “lenhador”, provavelmente, se dá a esta semelhança (Carbonell, 2004).

Este gênero possui uma distribuição geográfica entre a América Central e a América do Sul, sendo a América do Sul considerada o seu centro de origem, visto que nela estão presentes todas as espécies (Carbonell, 2004). O gênero ocorre geograficamente no norte da Argentina, Paraguai, Brasil, Bolívia, Equador, Colômbia, Uruguai, Venezuela e parte do Peru, encontrando-se de norte a sul da América do Sul, Leste dos Andes e América Central, incluindo também o Sudeste do México. No Brasil, se distribui na região Nordeste e alguns estados do Centro-Oeste (Goiás e Mato Grosso) e do Sudeste (São Paulo e Minas Gerais) (Carbonell, 2004).

O gênero *Xyleus* agrupa diferentes espécies conforme características morfológicas apresentadas, com base em caracteres externos e do complexo fálico. Como os grupos *Laevipes*, *Attenuatus*, *Insignis* e *Discoideus*, os quais englobam as

seguintes espécies e subespécies de acordo com Carbonell (2004): o grupo *Laevipes* agrupa cinco espécies, sendo elas *X. laevipes*, *X. goias*, *X. regularis*, *X. andinus* e *X. modestus*; o grupo *Attenuatus*, agrupa também cinco espécies, sendo elas *X. attenuatus*, *X. araguaia*, *X. pirapora*, *X. gracilis* e *X. laufferi*; o grupo *Insignis* agrupa quatro espécies, sendo elas *X. insignis*, *X. guarani*, *X. lineatus* e *X. aimara* e o grupo *Discoideus*, agrupa *Xyleus discoideus*, e as espécies *X. camposi* e *X. tuberculatus* que foram também sugeridas como pertencentes a este grupo por Carbonell (2004). Existem também cinco subespécies pertencentes à espécie *Xyleus discoideus* (Serville, 1831) (Figura 1a-e), sendo elas *X. d. discoideus*, *X. d. rosulentus*, *X. d. venezuelae*, *X. d. mexicanus* e *X. d. angulatus*.

Figura 1 - Subespécies pertencentes à espécie *Xyleus discoideus*. *X. d. discoideus* (a); *X. d. rosulentus* (b), *X. d. venezuelae* (c), *X. d. mexicanus* (d); e *X. d. angulatus* (e).

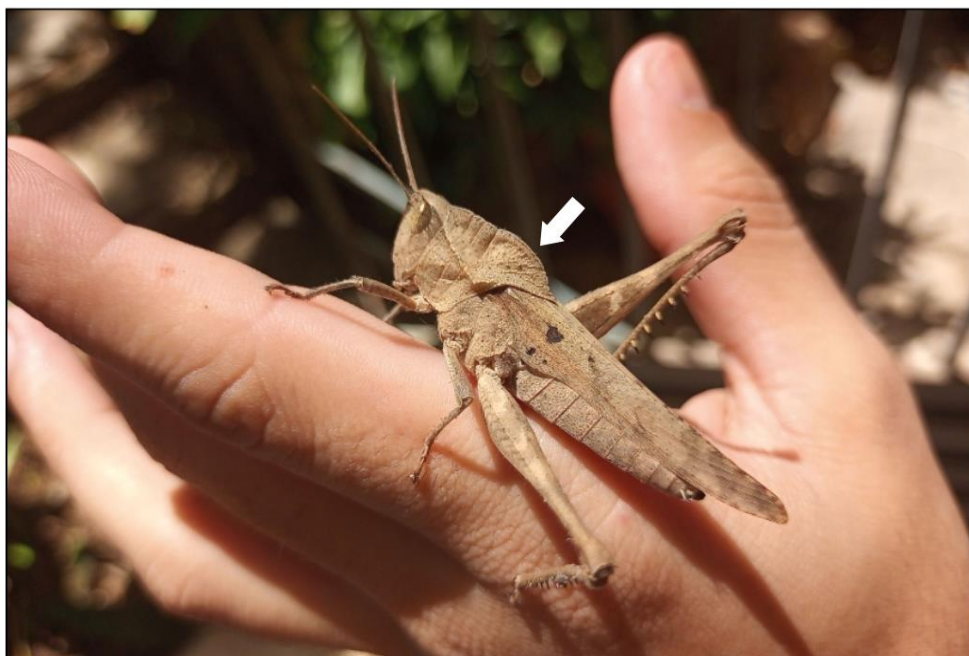


Fonte: Pajeu (2020) (a); Vásquez-Ordóñez (2021) (b); Pérez R. (2021) (c); Meza (2020) (d); Sonntag (2022) (e).

A subespécie *Xyleus discoideus angulatus* (Stål, 1873), incluída no grupo Discoideus, ocorre no Nordeste do Brasil, sendo endêmica dessa região e muito encontrada e prevalente nos estados do Ceará, Pernambuco, Paraíba, Rio Grande do Norte, Alagoas e Bahia (Carbonell, 2004).

Os gafanhotos do gênero *Xyleus* geralmente habitam lugares com árvores ou arbustos dispersos, ou bordas e partes mais abertas de florestas e comumente florestas secas e savanas (Carbonell, 2004). A subespécie *Xyleus discoideus angulatus* ocupa diferentes biomas, como Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica. Possui uma morfologia distinta das demais subespécies do grupo, por conta do formato do cingulo, válvulas apicais endofálicas e o número de espinhos na pata saltatória, os quais variam de nove a dez. Porém, a característica mais marcante da subespécie é a presença de um pronoto, que é a parte mais visível do tórax quando observado de cima, com lados claramente angulados, característica que deu origem a seu nome, “*angulatus*” (Figura 2) (Carbonell, 2004).

Figura 2: Pronoto angulado da subespécie *Xyleus discoideus angulatus* evidenciando pela seta.



Fonte: Lorrán (2023).

2.2. CARACTERÍSTICAS CITOGENÉTICAS DA FAMÍLIA ROMALEIDAE E DA SUBESPÉCIE *Xyleus discoideus angulatus*

A família Romaleidae possui um cariótipo conservado e um número diploide bem predominante de $2n = 23, X0$ nos machos e $2n = 24, XX$ nas fêmeas, possuindo portanto 22 cromossomos autossomos e 1 cromossomo X nos machos e 22 cromossomos autossomos e 2 cromossomos X nas fêmeas, e um sistema sexual $X0:XX$, onde o que determina o indivíduo ser macho é a presença de apenas um X e o que determina o indivíduo ser fêmea é a presença de dois X (Mesa *et al.*, 1982).

Apesar das características citogenéticas da família serem bem conservadas, há algumas exceções ao padrão, em que espécies sofreram uma redução no número cromossômico e uma diferença na morfologia. Mesa *et al.* (1982) descreveu o número cromossômico de 45 espécies da família Romaleidae, onde foi visto que ocorreram fusões independentes X-autossomo, o que resultou em uma redução do cariótipo para $2n = 22$, em três dessas espécies, sendo elas *Diponthus communis*, *Xyleus laevipes* e *Zoniopoda iheringi*. Tal fusão nesses casos, também ocasionou o surgimento do mecanismo sexual $XY:XX$ nessas espécies. Em três espécies do gênero *Diponthus*, sendo elas *Diponthus dispar*, *D. electus* e *D. maculiferus*, foi também observado cromossomos de morfologia metacêntrica devido a uma fusão cromossômica autossomo-autossomo, ocasionando uma redução no número diploide para $2n = 21, X0$ nos machos e $2n = 22, XX$ nas fêmeas.

Outro caso em que foi visto uma diferença em relação às características citogenéticas dessa família foi no estudo do cariótipo da espécie *Xestotrachelus robustus*, o qual mostrou características distintivas em sua estrutura cromossômica, onde foram observados cromossomos submetacêntricos no cariótipo da espécie (Souza, Haver e Melo, 2003). Posteriormente, foram também identificados novos cariótipos de sete espécies de Romaleidae do Nordeste do Brasil, sendo elas *Brasilacris gigas*, *Phaeoparia megacephala*, *Radacridium nordestinum*, *R. mariajoseae*, *Chromacris nuptialis*, *Tropidacris cristata grandis* e *Xyleus discoideus angulatus*, com todas elas com o número cromossômico e sistema sexual típico desta família (Souza e Silva-Filha, 1993; Souza e Kido, 1995; Rocha, Souza e Tashiro, 1997; Pereira e Souza, 2000; Neto, Souza e Loreto, 2013).

Quanto à subespécie *Xyleus discoideus angulatus*, esta possui o cariótipo conservado para a família Romaleidae do tipo $2n = 23, X0$ nos machos e $2n = 24, XX$

nas fêmeas, o qual foi primeiramente descrito por Mesa *et al.* (1982). *X. d. angulatus* tem cariótipo com todos os cromossomos de morfologia acrocêntrica (Mesa *et al.*, 1982) e pares de autossomos de diferentes tamanhos, sendo três pares de cromossomos grandes (G1-G3), cinco médios (M4-M8) e três pequenos (P9-P11), e o(s) cromossomo(s) X de tamanho médio (Souza e Silva-Filha, 1993). Tais características citogenéticas, descritas para *Xyleus discoideus angulatus*, quanto à morfologia e tamanho dos cromossomos são comuns a representantes da família Romaleidae (Souza e Silva-Filha, 1993).

A subespécie *Xyleus discoideus angulatus* foi analisada quanto a presença de heterocromatina constitutiva (HC) através da técnica do bandejamento C, onde foram observados em todos os cromossomos blocos de HC na região pericentromérica, além disso foram vistas bandas distais em pares médios e pequenos e pequenas bandas intersticiais nos três pares de cromossomos grandes. Na região proximal do cromossomo X foi observado bloco de HC, característica esta que o diferencia dos cromossomos autossomos do complemento (Souza e Silva-Filha, 1993; Souza e Kido, 1995). A técnica de fluorocromos base-específicos foi, posteriormente, utilizada para caracterizar o conteúdo da HC e com isso a presença de grande quantidade de pares de bases GC foi observado nos cromossomos da espécie (Souza, Rufas e Orellana, 1998).

A análise de polimorfismos de segmentos supernumerários heterocromáticos foi realizada para *Xyleus discoideus angulatus* e estes foram encontrados em indivíduos de populações do estado de Pernambuco, sendo estas dos municípios de Caruaru e Recife. Os segmentos encontrados estavam localizados em três dos cromossomos de tamanho médio (M5, M6 e M7) e em dois pequenos (P10 e P11). De modo geral, foi observado que estes polimorfismos afetaram a distribuição dos quiasmas nas células dos indivíduos que os continham (Souza e Silva-Filha, 1993).

O cariótipo de *Xyleus discoideus angulatus* foi analisado também por outros métodos em outras pesquisas, como a impregnação com nitrato de prata e a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH). A impregnação com nitrato de prata foi aplicada com o intuito de verificar a distribuição de regiões organizadoras de nucléolo (RONS) e a presença destas na espécie foi vista nos cromossomos G3, M4 e X, na região proximal destes, contudo a precisão da localização foi dificultada devido ao nucléolo nestes cromossomos ser pequeno e se desintegrar com facilidade. Já a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) foi usada com o

objetivo de detectar genes de DNA ribossomal (DNAr). O primeiro resultado desta técnica em *Xyleus discoideus angulatus* foi obtido utilizando uma sonda de DNAr 45S, o qual mostrou sítios da sequência encontrados no mesmo local onde as RONS foram observadas (Souza *et al.*, 1998). Foi observada também, posteriormente, a localização de sítios de DNAr apenas nos cromossomos G3 e X (Loreto *et al.*, 2008), e além deste marcador, um estudo utilizando sondas de histona H4 conseguiu detectar a presença de sítios desta sequência nos cromossomos G2, M4 e X (Machado *et al.*, 2014).

2.3. CROMOSSOMOS B

Os cromossomos B são classificados como uma alteração cromossômica numérica, em que o indivíduo que o possui apresenta um ou mais cromossomos extras em seu cariótipo. Estes cromossomos também são conhecidos como extras, acessórios, supranumerários, cromossomos específicos de linhagem ou condicionalmente dispensáveis e receberam a denominação de “B” para diferenciar dos cromossomos denominados “A”, que se referem aos autossomos e alossomos (sexuais) que constituem um cariótipo normal de uma espécie (Randolph, 1928; Soyer *et al.*, 2018; Komlusi, Stukenbrock e Habig, 2022; Ferree *et al.*, 2024). Assim, de modo geral, pode-se definir os cromossomos B como adicionais e dispensáveis ao cariótipo padrão, estando estes presentes em apenas alguns indivíduos da espécie ou populações dentro de uma espécie, ou apenas em um subconjunto de células ou tecidos dentro de um indivíduo, sendo, portanto, considerado um polimorfismo genético (Beukeboom, 1994; Camacho, 2005; Houben *et al.*, 2014; Ruban *et al.*, 2020; Pokorná e Reifová, 2021).

Os cromossomos B foram inicialmente descritos por Wilson (1907) para se referir a elementos extras encontrados em insetos do gênero *Metapodius* (Hemiptera), os cromossomos observados receberam por ele primeiramente a denominação de supernumerários, entretanto não foi possível confirmar suas hipóteses, pois as amostras populacionais do estudo eram baixas. Posteriormente, foi observada a presença desses elementos em populações das espécies *Diabrotica vittata*, *Diabrotica soror* e *Diabrotica punctata* (Coleoptera) (Stevens, 1908). Esses elementos extras foram observados também no milho, onde foi visto que eles não eram duplicações de nenhum autossomo ou alossomo, e foi então utilizado pela

primeira vez o termo cromossomo B para designar estes elementos (Randolph, 1928).

Essa alteração é descrita em cerca de 15% das espécies de eucariotos (Beukeboom, 1994; D'Ambrosio *et al.*, 2017), presentes em cerca de 2000 espécies de plantas, 700 de animais (Jones e Rees, 1982; Jones e Puertas, 1993; Jones, 1995; D'Ambrosio *et al.*, 2017; Gutiérrez *et al.*, 2023) e algumas espécies de fungos (Mills e McCluskey, 1990; Miao, Covert e VanEtten, 1991; Miao, Matthews e VanEtten, 1991; Tzeng *et al.*, 1992; Geiser, Timberlake e Arnold, 1996; Leclair *et al.*, 1996; Gutiérrez *et al.*, 2023). Os cromossomos B podem ser classificados conforme seu tamanho e morfologia de acordo com Hewitt (1973), estes podem ser de tamanho médio (macro-cromossomos), de tamanho pequeno, minicromossomos ou isocromossomos. Podem apresentar também diferentes morfologias de acordo com a posição do centrômero: metacêntrica, submetacêntrica, acrocêntrica e telocêntrica, como foi observado, por exemplo, no gafanhoto *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acridinae - Acrididae), no peixe *Rhamdia branneri* (Pisces - Pimelodidae), no camundongo *Apodemus flavicollis* (Muridae - Rodentia), e no gafanhoto *Melanoplus femur-rubrum* (Acrididae), respectivamente (Stephens e Bregman, 1972; Vujošević e Živković, 1987; Grieco e Bidau, 2000; Abucarma e Martins-Santos, 2001; Vujošević e Blagojević, 2004). Palestis *et al.* (2004a), observaram ainda que os cromossomos B são mais frequentes em espécies com cromossomos acrocêntricos, em todos os mamíferos, entre roedores e entre não-roedores.

Com exceção de espécies com múltiplas morfologias de B, cromossomos B encontrados em espécies com cromossomos A de morfologia acrocêntrica são tipicamente acrocêntricos também, enquanto cromossomos B em espécies com A metacêntricos possuem morfologia tipicamente metacêntrica (Palestis *et al.*, 2004b). Uma relação semelhante foi descrita em gafanhotos por Camacho (2004), tal relação sugeriu derivação de cromossomos B a partir de A, porém a morfologia do B pode evoluir rapidamente originando muitas formas e tamanhos diferentes de cromossomos B dentro de uma espécie. Assim, uma mesma espécie pode apresentar diferentes tipos de cromossomos B, como ocorre no gafanhoto *Eyprepocnemis plorans*, apresentando uma condição extrema, com mais de 50 variantes (Henriques-Gil *et al.*, 1984; López-León *et al.*, 1994; Bakkali *et al.*, 1999), e em alguns casos, diferentes variantes podem ainda estar presentes em um mesmo indivíduo. Além disso, podem estar presentes em um número muito alto em algumas

espécies, como é o caso do inseto coleoptera *Euchroma gigantea*, que pode apresentar 32 cromossomos B (Mesa e Fontanetti, 1984) e de algumas espécies de plantas do gênero *Pachyphylum* (Crassulaceae), que possuem até 50 cromossomos B (Uhl e Moran, 1973).

O avanço nas técnicas de genética e citogenética molecular permitiram um melhor estudo acerca da origem dos cromossomos B, visto que a partir delas foi possível desvendar aspectos sobre sua composição molecular e comportamento evolutivo em diferentes espécies (Beukeboom, 1994). Os cromossomos B podem ter diferentes origens, sendo intraespecífica ou interespecífica. Contudo, a origem do DNA progenitor nem sempre é possível ser indicada (Camacho *et al.*, 2000).

Quanto à origem intraespecífica desses elementos, esta é associada a quebras cromossômicas no cariótipo padrão, que devido à observação da similaridade nas sequências de DNA entre os cromossomos A e B (Camacho *et al.*, 2000), mostrou que as quebras podem se originar de cromossomos autossomos ou sexuais. A origem intraespecífica pode ser vista na planta *Crepis capillaris*, e no gafanhoto *Eyprepocnemis plorans*. Em que *C. capillaris*, apresenta cromossomo B de origem autossômica (Jamilena, Rejón, C. Ruiz e Rejón, M. Ruiz, 1994; Jamilena *et al.*, 1995), e *E. plorans*, apresenta cromossomo B que pode ter origem múltipla, vinda de cromossomos sexuais ou de autossomos, a depender de qual variante de cromossomo B a população possui (López-León *et al.*, 1994; Cabrero *et al.*, 2003; MuñozPajares *et al.*, 2011).

Quanto à origem interespecífica, esta é mais rara que a intraespecífica e o cromossomo B tem origem a partir de transposição ou hibridização interespecífica. Pois foi visto que sequências específicas de DNA de cromossomo B de determinadas espécies, não se encontravam no complemento padrão, mas se encontravam no genoma de espécies próximas (Camacho *et al.*, 2000). A origem interespecífica pode ser vista entre as plantas *Coix aquaticus* e *C. gigantea* (Sapre e Deshpande, 1987), e em *Brachyscome dichromosomatica* (John, Leach e Timmis, 1991), no inseto himenóptero *Nasonia vitripennis* (McAllister e Werren, 1997) e em peixes da espécie *Poecilia formosa* (Schartl *et al.*, 1995).

Assim como os cromossomos B se originam parcial ou totalmente de cromossomos A (Camacho *et al.*, 2000), é possível também, e até provável, que certos cromossomos A tenham surgido de cromossomos B (Ferree *et al.*, 2024). Como pode ser o caso de um cromossomo B no peixe-caverna de Pachón, *Astyanax*

mexicanus. Diferentes espécies de *Astyanax* possuem cromossomos B grandes e mitoticamente instáveis que compartilham uma origem evolutiva em um ancestral comum (Silva *et al.*, 2021). O *knockout* de um gene de diferenciação de crescimento codificado pelo B, que é expresso no tecido gonadal masculino do peixe *A. mexicanus*, resultou em reversão de sexo de macho para fêmea (Imarazene *et al.*, 2021). Assim, é possível que o cromossomo B dessa espécie tenha obtido um gene determinante do sexo masculino e, com isso, tenha se transformado em um cromossomo sexual. Os cromossomos B em outras espécies de *Astyanax* não parecem estar relacionados na determinação do sexo masculino. Em outra situação, o cromossomo restrito à linhagem germinativa aviária (GRC), encontrado em todas as aves passeriformes examinadas, poderia ter uma origem de cromossomo B (Hansson, 2019; Torgasheva *et al.*, 2019).

A evolução dos cromossomos B ocorre paralelamente aos cromossomos A, contudo, são capazes de sofrer processos moleculares mais rápidos, os convertendo em elementos diferentes nos genomas em que estão inseridos (Beukeboom, 1994). Alguns destes processos são a alta heterocromatinização do cromossomo B e sua capacidade de acumular elementos transponíveis, visto que eles estão em regiões não sujeitas a recombinações (Camacho *et al.*, 2000).

A manutenção da frequência destes elementos em populações naturais é explicada por meio de três modelos, sendo estes o heterótico, o parasítico e o próximo à neutro. O modelo heterótico afirma que quando os cromossomos B estão presentes em um indivíduo em baixa quantidade, estes lhe conferem uma vantagem adaptativa, e com isso, conseguem se manter no cariótipo (White, 1973). Já o modelo parasítico afirma que estes cromossomos conseguem permanecer na população, devido a capacidade de se acumular, capacidade esta que os atribuem o uso do termo parasitas ou egoístas (White, 1973). Existe ainda o modelo próximo à neutro (near-neutral), que é atualmente o modelo mais aceito, em que há substituições de cromossomos B, indicando que o modelo deve ser entendido como dinâmico, onde novas variantes por mutação podem aparecer de tempos em tempos substituindo a antiga variante do B devido seu desempenho de transmissão superior. Após um tempo, o genoma A neutraliza essa nova variante de B através da evolução de novos genes supressores de drive e o ciclo começa novamente (Camacho *et al.*, 1997).

Este polimorfismo comumente não agrega vantagens ou desvantagens ao indivíduo que o possui (Ferree *et al.*, 2024), porém estudos já relataram que este pode ocasionar diferentes efeitos aos indivíduos que os portam, em alguns casos, pode haver uma redução da fertilidade e fecundidade, modificação da frequência e distribuição de quiasmas, da produção normal de espermatídes e do tamanho dos indivíduos (Jones e Rees, 1982; Camacho *et al.*, 2000). Entretanto, foram também relatados casos em que os cromossomos B possuem sequências codificantes (Banaei-Moghaddam *et al.*, 2013; Trifonov *et al.*, 2013; Valente *et al.*, 2014), DNAr funcional (Ruíz-Estévez *et al.*, 2012, 2013), além de possuir influência na determinação do sexo de peixes ciclídeos fêmeas (Yoshida *et al.*, 2011) e na resposta imune no rato *Apodemus flavicollis* (Adnadevic *et al.*, 2014).

Um estudo realizado por Ahmad *et al.* (2020) nas espécies de peixe *Astyanax mexicanus* e *Astyanax correntinus*, e no gafanhoto *Abracris flavolineata*, revelou também diferentes questões sobre a composição genética, sobrevivência evolutiva, manutenção e papel funcional dos cromossomos B dentro da célula. A anotação funcional das sequências do B mostrou que este cromossomo compreende regiões de fragmentos de genes, genes novos e genes intactos, que codificam um conjunto diversificado de funções relacionadas a processos biológicos importantes, como metabolismo, morfogênese, reprodução, transposição, recombinação, ciclo celular e funções dos cromossomos que podem ser importantes para seu sucesso evolutivo.

Os cromossomos B não recombinam com cromossomos A e possuem um padrão de herança não mendeliano, apresentando irregularidade meiótica e consequentemente um acúmulo no cariótipo (Camacho *et al.*, 2000; Jones, Viegas e Houben, 2008). No entanto, em alguns casos, têm sido observado emparelhamento de cromossomos B com certos cromossomos A durante a meiose, como foi visto em alguns indivíduos da planta *Agropyron cristatum* (Chen, Jahier e Cauderon, 1993). Algumas interações no emparelhamento de cromossomos A com B potencializam eventos raros de troca A-B e argumentam um pouco contra a independência completa de cromossomos B com cromossomos A (Ferree *et al.*, 2024).

Para determinar os mecanismos envolvidos na manutenção de um determinado cromossomo B, é necessário inicialmente verificar se ele possui um mecanismo de acumulação. Para os B mitoticamente instáveis de *Calliptamus palaestinensis* e *Camnula pellucida* foi demonstrado que sua instabilidade serve como um mecanismo de acumulação e foi sugerido que este também é

provavelmente o caso de outros cromossomos B mitoticamente instáveis (Nur, 1963, 1969). Tal sugestão foi confirmada para o cromossomo B de *Locusta migratoria* (Kayano, 1971) e para pelo menos um dos B telocêntricos de *Melanoplus femur-rubrum* (Stephens e Bregman, 1972). Em relação aos cromossomos B mitoticamente estáveis, um possível mecanismo da causa da manutenção destes é a segregação preferencial desses elementos durante a oogênese (Lucov e Nur, 1973). Além disso, foi observado que os cromossomos B grandes possuem a tendência de ser mitoticamente estáveis, enquanto os pequenos têm uma tendência oposta, ou seja, a variabilidade intraindividual aumenta com a diminuição do tamanho do cromossomo B (Hewitt, 1979; Vujošević, Rajčić e Blagojević, 2018).

Um resumo dos casos conhecidos de distorção da taxa de transmissão (transmission ratio distortion - TRD) para cromossomos B mostra que eles envolvem vários mecanismos para uma transmissão vantajosa. Uma característica geral da TRD do cromossomo B é denominada de gonotaxis, em que esses cromossomos possuem uma tendência de se direcionar preferencialmente para a linha germinativa (Burt e Trivers, 2006; Birchler e Yang, 2021; Camacho, 2022). Assim os cromossomos B, podem ser restritos à linha germinativa, sendo, portanto menos prejudiciais à aptidão do portador e melhor tolerados pelos indivíduos (Camacho *et al.*, 2000; Camacho, 2005).

O drive dos cromossomos B, ou seja, sua capacidade de transmitir-se em frequências mais altas do que as frequências mendelianas para a progênie, pode ocorrer durante diferentes momentos do ciclo celular, como na meiose, nas divisões mitóticas que precedem ou seguem a meiose, e imediatamente após a fertilização (Jones, 2018). Os mecanismos celulares variam extensamente, incluindo ações *cis* como a não disjunção auto-imposta da cromátide do B e fertilização preferencial por gametas portadores de B (Birchler e Yang, 2021) ou efeitos *trans* como manipulação do desenvolvimento reprodutivo (Werren e Stouthamer, 2003). No entanto, alguns cromossomos B, como um carregado pelo rato de pescoço amarelo (Karamysheva *et al.*, 2021), podem não possuir drive (Vujošević *et al.*, 2018). Em especial, em mamíferos o acúmulo de B aparenta ser menos frequente que o esperado, sendo um dos motivos o baixo quantitativo de estudos a respeito (Vujošević *et al.*, 2018).

A composição molecular de cromossomos B foi investigada anteriormente através de técnicas de citogenética molecular clássica (especialmente mapeamento cromossômico), que forneceu uma referência para a pesquisa atual de

cromossomos B. Esses estudos analisaram DNA repetitivo, como sondas cromossômicas, para investigar a localização de sequências específicas nos cromossomos B. Várias repetições de DNA, incluindo elementos repetitivos organizados em tandem, LINEs (long interspersed nuclear elements) e SINEs (short interspersed nuclear elements), sequências teloméricas intersticiais, clusters de DNA ribossomal ou genes de histonas foram hibridizadas em cromossomos B (Ahmad e Martins, 2019). Porém, os avanços na tecnologia de sequenciamento genômico permitiram melhorias nas pesquisas de cromossomos B, sendo possível aos pesquisadores conseguirem investigar suposições anteriores de que os cromossomos B frequentemente surgem como fusões de cromossomos A. Alguns desses cromossomos também foram indicados para abrigar genes transcritos e loci não codificantes. Também tem sido investigado a possibilidade da presença e/ou transcrição de cromossomo B afetar a transcrição do genoma do indivíduo. Além disso, a natureza dispensável desses elementos os torna excelentes ferramentas para o estudo da biologia do centrômero, e os torna passíveis de servir como plataformas para a engenharia genética (Douglas e Birchler, 2017).

Recentemente, o desenvolvimento moderno de técnicas multi-ômicas de alta escala alterou o estudo de cromossomo B para um campo recente denominado de "B-ômicas" (Ahmad e Martins, 2019). A visão moderna diz que os cromossomos B são ricos em genes para diferentes funções biológicas significativas, incluindo, um conjunto de genes relacionados ao ciclo celular e à estrutura cromossômica. Além disso, os cromossomos B poderiam propiciar rearranjos genômicos e influenciar o ambiente nuclear, interferindo na função de outras regiões da cromatina (Ahmad e Martins, 2019). Ahmad e Martins (2019) hipotetizaram que os cromossomos B podem exercer uma função chave na orientação de sua transmissão e manutenção dentro da célula, assim como proporcionar um compartimento genômico extra para a evolução.

Um caso interessante e importante do uso da genômica em pesquisas relacionadas ao cromossomo B, foi a descoberta de um gene, por acaso, em cromossomos B da raposa vermelha (*Vulpes vulpes*) durante um projeto de mapeamento do genoma da raposa usando clones caninos de BAC, o gene em questão foi o C-KIT (v-kit Hardy-Zuckerman 4 feline sarcoma viral oncogene homolog), posteriormente, o mesmo gene foi descoberto nos cromossomos B de cães guaxinins chineses (*Nyctereutes procyonoides procyonoides*) e japoneses (*N.*

p. viverrinus) (Graphodatsky *et al.*, 2005). O C-KIT autossômico contém 21 exons e codifica uma tirosina quinase transmembrana que regula a proliferação e diferenciação celular de melanoblastos, células sanguíneas e células primordiais da linha germinativa. A região codificadora de RNA (1100 pb) do gene C-KIT é homóloga ao provírus do sarcoma de Hardy-Zukerman felino 4, e mutações nesse gene podem ocasionar cânceres estomacais intestinais em humanos, camundongos, cães e ratos. Várias mutações identificadas no gene levam a um padrão de manchas brancas na cor da pelagem. Embora esse padrão seja bastante distribuído entre mamíferos, suas mutações causadoras variam. Novos dados de sequenciamento sugeriram, porém, que a cópia do C-KIT nos cromossomos B da raposa vermelha não está traduzida ou não está totalmente funcional (Makunin *et al.*, 2014).

Além de análises “B-ômicas”, foi disponibilizado desde 2017 um banco de dados que coleta informações acerca de cromossomos B auxiliando mais nas pesquisas sobre esses elementos (D'Ambrosio *et al.*, 2017). Das 2.828 espécies eucarióticas com cromossomos B relatadas no banco, 73,56% são plantas, 25,95% animais e 0,49% fungos (D'Ambrosio *et al.*, 2017). Contudo, é válido ressaltar que alguns grupos de organismos têm sido menos extensivamente estudados citogeneticamente do que outros e, portanto, a comparação sobre cromossomos B entre grupos taxonômicos específicos torna-se atualmente difícil (D'Ambrosio *et al.*, 2017).

2.3.1. CROMOSSOMOS B EM GAFANHOTOS

Os cromossomos B estão presentes em um grande número de espécies de gafanhotos. Cerca de 80% desse polimorfismo no reino animal são encontrados no grupo dos insetos, especialmente no grupo de dípteros, coleópteros e ortópteros (Jones e Rees, 1982). E no grupo dos ortópteros, foram descritos cromossomos B para mais de 100 espécies, sendo a maioria pertencente à família de gafanhotos Acrididae (Hewitt, 1979). Como exemplos de espécies portadoras desses elementos nessa família pode-se citar *Eyprepocnemis plorans* (Hewitt, 1979), *Rhammatocerus brasiliensis* (Loreto *et al.*, 2008), *Abracris flavolineata* (Bueno, Palacios-Gimenez e Cabral-de-Mello, 2013), *Euplectrotettix shultzi* e *E. conspersus* (Vilardi, 1986a), *Locusta migratoria* (Cabrero, Viseras e Camacho, 1984) e *Dichroplus pratensis* (Bidau e Martí, 2004). Por outro lado, a família Romaleidae possui menos espécies

portadoras de cromossomos B, com apenas duas espécies do grupo descritas com essa alteração, sendo elas *Zoniopoda tarsata* (Vilardi, 1986b) e *Xyleus discoideus angulatus* (Souza e Kido, 1995). Porém, a pouca descrição do polimorfismo em Romaleidae, também pode estar relacionada ao baixo quantitativo de estudos realizados nas espécies da família.

A ocorrência desses elementos em gafanhotos está presente em várias espécies, apresentando diferentes morfologias, tamanhos, quantidades e características, estando descritas, por exemplo, mais de 50 variantes destes para a espécie *Eyprepocnemis plorans* (Henriques-Gil *et al.*, 1984; López-León *et al.*, 1994; Bakkali *et al.*, 1999). Estes cromossomos são predominantemente heterocromáticos e possuem uma grande diversidade em padrões de bandeamento cromossômico e composição molecular, apesar de possuírem uma natureza heterogênea, estes elementos também podem diferir em seu comportamento durante a meiose, estabilidade mitótica e em sua frequência (White, 1954; Hewitt e John, 1967; Hewitt, 1973; Bakkali e Camacho, 2004).

Esses cromossomos podem ser estudados citogeneticamente através de diferentes técnicas ou abordagens, em busca de uma melhor compreensão de sua natureza e evolução. Através da análise convencional é possível classificar o cromossomo B quanto ao tipo, tamanho e morfologia (Machado *et al.*, 2014), e através do bandeamento C é possível verificar a distribuição da heterocromatina constitutiva (HC) (Henriques-Gil *et al.*, 1984; Bakkali e Camacho, 2004). Além disso, a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH) tem permitido mais recentemente caracterizar a presença de algumas classes de DNA repetitivo, como DNAr 45S, 5S e Histona em cromossomos B (Abdelaziz *et al.*, 2007; Oliveira *et al.*, 2011), bem como outras frações de DNA repetitivo (Peterson *et al.*, 2002; Cabral-de-Mello *et al.*, 2010; Bueno *et al.*, 2013).

Assim como para outras alterações genéticas, existem espécies consideradas modelos para o estudo dos cromossomos B, como é o caso de algumas espécies de gafanhotos. As espécies *Eyprepocnemis plorans*, *Locusta migratoria* e *Rhammatocerus brasiliensis* (Acrididae - Gomphocerinae), são exemplos (Nur, 1969; Henriques-Gil *et al.*, 1984; Cabrero *et al.*, 1984; Viseras *et al.*, 1990; López-León *et al.*, 1994; Pardo *et al.*, 1994, 1995; Bakkali *et al.*, 2001; Loreto *et al.*, 2008; Milani *et al.*, 2018).

Os cromossomos B de *E. plorans* são heterocromáticos e possuem uma diversidade de morfologias, os mais de 50 tipos de B diferentes na espécie foram descritos com relação a seu tamanho, posição do centrômero e distribuição de heterocromatina constitutiva (Henriques-Gil *et al.*, 1984; López-León *et al.*, 1994; Bakkali *et al.*, 2001). De todas as variantes, a B1 é a mais difundida em populações naturais da Espanha, sendo, por isso, proposta como ancestral de todos os demais tipos de B por Henriques-Gil *et al.* (1984). Várias evidências têm mostrado que os cromossomos B de *E. plorans* estão ligados, às vezes, a um nucléolo, o que sugere a possibilidade de expressão de seu DNAr (Ruiz-Estévez *et al.*, 2012). Evidências de atividade na região organizadora de nucléolo (RON) nos cromossomos B foram também descritas (Cabrero, Alché e Camacho, 1987; Teruel *et al.*, 2007; Teruel *et al.*, 2009a; Teruel, 2009). Além disso, Navarro-Domínguez *et al.* (2017) observaram a presença de dez genes codificadores de proteínas no cromossomo B do gafanhoto *E. plorans*, dos quais quatro (*CIP2A*, *GTPB6*, *KIF20A* e *MTG1*) estavam completos no cromossomo B, enquanto os seis restantes (*CKAP2*, *CAP-G*, *HYI*, *MYCB2*, *SLIT* e *TOP2A*) estavam truncados. E os resultados sugeriram que estes cromossomos não são tão silenciados como se acreditava. Vale ressaltar que os cinco genes ativos nesse cromossomo B codificam funções relacionadas à divisão celular. Sugerindo que o sucesso evolutivo desses elementos pode estar no seu conteúdo gênico.

O cromossomo B da espécie *Locusta migratoria* possui uma grande disseminação, presente em populações naturais de toda a sua distribuição geográfica. A instabilidade mitótica desse cromossomo B, devido à não disjunção durante as mitoses embrionárias, constitui um mecanismo de drive pré-meiótico nos machos desta espécie (Nur, 1969; Cabrero *et al.*, 1984; Viseras *et al.*, 1990; Pardo *et al.*, 1994, 1995). Uma microdissecção e pintura cromossômica dos cromossomos X e B foi realizada para a espécie, o que sugeriu uma origem intraespecífica desse cromossomo (Teruel *et al.*, 2009b). Em relação ao conteúdo molecular e a origem do cromossomo B na espécie, Teruel *et al.* (2010) apresentaram o mapeamento cromossômico de várias sequências repetitivas de DNA (DNAr 45S e 5S, DNA telomérico e genes de histonas H3–H4) em cromossomos A e B, assim como a amplificação por PCR dessas sequências de DNA em DNA genômico 0B e com B obtidas através de microdissecção do cromossomo B. Com isso, apenas os genes da histona H3–H4 estavam presentes no cromossomo B. Parte desses genes foram

também clonados e sequenciados a partir de DNA do cromossomo B microdissecado e DNA genômico 0B e foram comparadas sequências de DNA dos cromossomos A e B. A maior variação vista pelas sequências B, em comparação com as sequências A, sugeriram que as sequências do cromossomo B são provavelmente inativas.

Quanto a *Rhammatocerus brasiliensis*, o cromossomo B desta espécie foi descrito como macrocromossomo de origem heterocromática e amplamente distribuído nas populações da espécie (Loreto *et al.*, 2008). Este cromossomo foi recentemente estudado através de técnicas genômicas e citogenéticas, onde foram encontradas doze famílias de DNAsat no genoma da espécie. Alguns DNAsat revelaram organização agrupada nos cromossomos A e B, com variação em número de locais e posição ao longo dos cromossomos, além disso, não foi encontrado DNA satélite específico ocorrendo no cromossomo B. Os DNAsat compartilhados entre os cromossomos A e B sustentam a ideia da possibilidade de uma ancestralidade intraespecífica a partir de pequenos autossomos. Foi hipotetizada também a possibilidade de envolvimento de outros pares cromossômicos na origem desse cromossomo (Milani *et al.*, 2018).

Dois tipos distintos de cromossomos B foram relatados em algumas espécies de ortópteros, como *Cylindrotettix obscurus* (Leptysminae - Acrididae), a qual apresentou um cromossomo B telocêntrico, com um tamanho aproximado ao dos menores autossomos do complemento. O segundo tipo de cromossomo B observado possuía uma morfologia submetacêntrica e tamanho médio, do tipo isocromossomo (Confalonieri e Bidau, 1986). Além disso, diferentes morfotipos desses elementos foram descritos para indivíduos da subespécie de gafanhoto *Podisma sapporensis sapporensis* (Orthoptera - Acrididae), onde foi visto que, apesar da similaridade em tamanho e morfologia entre os cromossomos, o padrão de marcação de sondas e de bandas C de cromossomos A e B dessa subespécie diferenciavam estes em tipos (Warchalowska-Sliwa *et al.*, 2001).

Em gafanhotos, comumente se tem utilizado o mapeamento de sequências de DNA repetitivo, especialmente de famílias multigênicas de genes de DNAr e histonas, para a identificação de diferentes padrões de distribuição cromossômica dessas sequências (Bueno *et al.*, 2013). Entre as espécies de gafanhotos descritas estão *Dichroplus pratensis* (Orthoptera - Acrididae) e *Eyprepocnemis plorans*

(Orthoptera - Acrididae), o qual apresentou RONS latentes que afetam a expressão de organizadores de nucléolos autossômicos (Cabrero *et al.*, 1987).

Camacho (2005) também observou a presença de elementos transponíveis, sequências teloméricas e DNA satélite em cromossomos B, de diferentes organismos, sendo *Myrmeleotettix maculatus* (Orthoptera - Acrididae) e *Eyrepocnemis plorans* as espécies de gafanhoto analisadas por ele. Além disso, foram descritas algumas espécies de gafanhotos como portadoras de DNA satélite e famílias multigênicas, como foi o caso de *Eyrepocnemis plorans* (López-León *et al.*, 1994), *Locusta migratoria* (Teruel *et al.*, 2010), *Rhammatocerus brasiliensis* (Loreto *et al.*, 2008) e *Abracris flavolineata* (Milani e Cabral-de-Mello, 2014).

Além da contribuição dada para a descoberta da origem e diferenciação evolutiva destes cromossomos, estes relatos auxiliaram no estudo de sua composição molecular (Cabrero *et al.*, 2003; Loreto *et al.*, 2008; Teruel *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2011). Novos métodos têm sido utilizados para a análise do DNA repetitivo em cromossomos B, como o mapeamento cromossômico de pequenos RNAs nucleares (RNAsn), DNA microssatélite e elementos transponíveis, que proporcionam novas informações sobre a variabilidade cromossômica de DNA repetitivo em gafanhotos (Bueno *et al.*, 2013; Milani e Cabral-de-Mello, 2014; Montiel *et al.*, 2014).

2.3.2. CROMOSSOMOS B EM *Xyleus discoideus angulatus*

A presença de cromossomos supernumerários em *Xyleus discoideus angulatus* foi primeiramente descrita por Souza e Kido (1995), em exemplares de Pernambuco. Os autores detectaram um elemento numericamente instável, que variou de um a dois em fêmeas da população de Igarassu, com tamanho e morfologia semelhante ao X, de natureza heterocromática e com prevalência de 27,7%. Esta instabilidade foi atribuída ao direcionamento meiótico dos cromossomos B. Porém, Machado *et al.* (2014) verificaram que indivíduos machos não apresentavam esta variação numérica. O único indivíduo com 2Bs de *X. d. angulatus* foi descrito na população de Sobral-CE por Bernardino *et al.* (2017), o que caracteriza uma ausência de mecanismo de acumulação em machos.

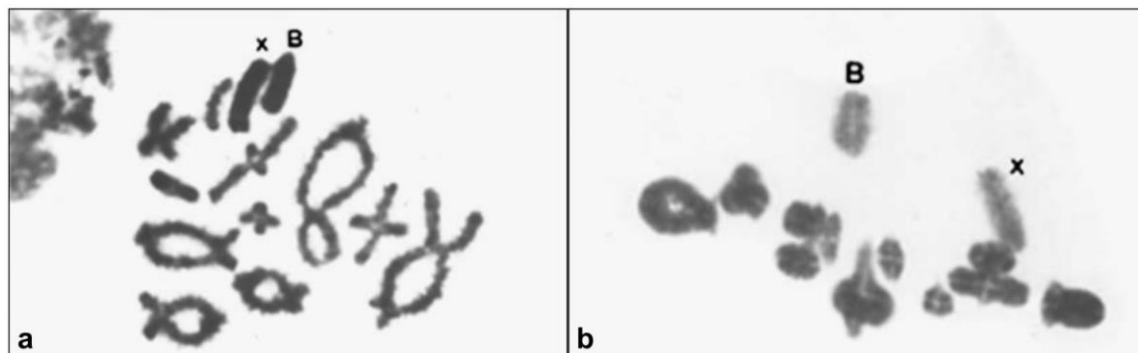
Os cromossomos B observados em *Xyleus discoideus angulatus* apresentaram morfologia acrocêntrica e heteropicnose em relação aos autossomos,

apresentando uma heteropicnose positiva durante a prófase meiótica I, estando o cromossomo B mais fortemente corado que os autossomos, e uma heteropicnose negativa na metáfase I, estando o cromossomo B mais fracamente corado que os autossomos, além disso, apresentaram em geral um tamanho médio (macro-cromossomo) semelhante ao cromossomo X (Figura 3a-b) (Loreto *et al.*, 2008). No entanto, Bernardino *et al.* (2017) observaram em três amostras de uma das localidades analisadas a presença de um B de tamanho reduzido, chegando, às vezes, a ser menor do que a metade do X. No estudo, foram observadas também associações lado-a-lado ou extremidade-com-extremidade entre o cromossomo B e o X de todas as populações analisadas, sendo comuns as associações lado-a-lado na prófase I (Figura 4a-d). Contudo, não foi observada nenhuma variação intraindividual no número de cromossomos B, sugerindo que ele seja um elemento mitoticamente estável.

Quanto à aplicação da técnica bandeamento C na espécie, foi observado na metáfase mitótica espermatogonial a presença de blocos de heterocromatina pericentroméricos em todos os cromossomos A e blocos distais em alguns deles, que também puderam ser observados no diplóteno. No entanto, o padrão de bandas C do cromossomo B foi mais complexo, com um total de quatro blocos, sendo dois deles (o pericentromérico e o subdistal) ligeiramente mais escuros que os dois intersticiais (Loreto *et al.*, 2008).

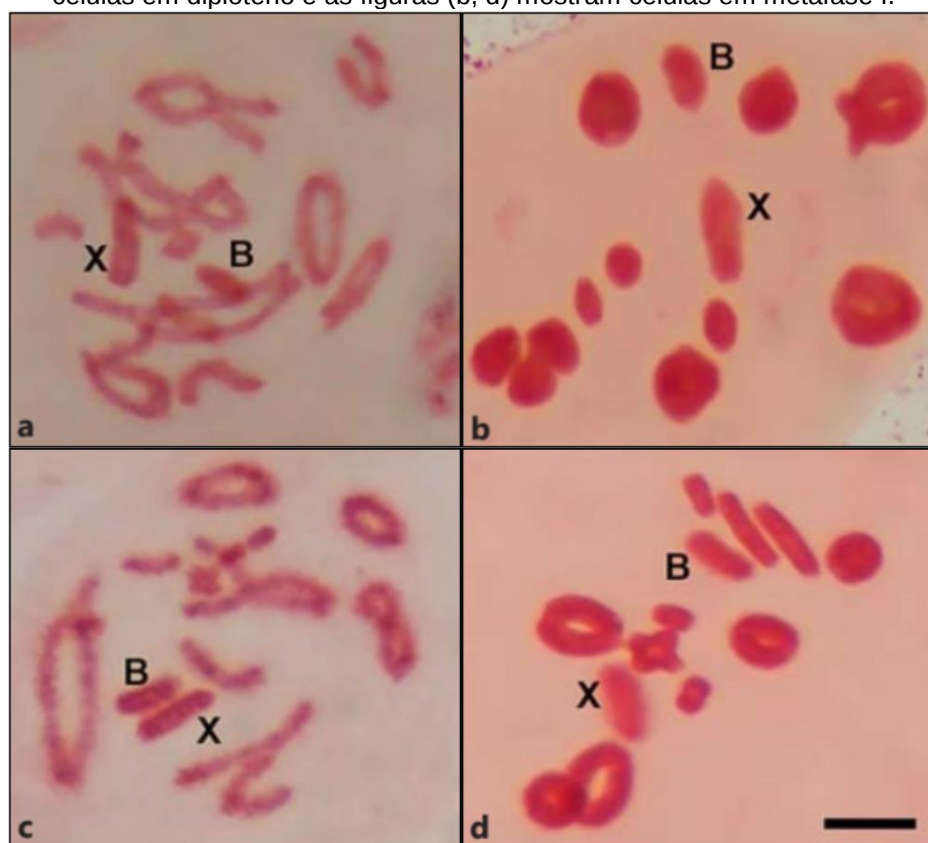
A investigação da possível origem do polimorfismo em *Xyleus discoideus angulatus* também foi realizada com base no padrão de HC e no mapeamento físico de genes de DNAr. Neste estudo, foi proposto que o cromossomo B se originou a partir de um autossomo, visto que a localização de um sítio de DNAr estava presente no cromossomo X e ausente no B (Loreto *et al.*, 2008). Através de técnicas genômicas e moleculares foi investigada a ancestralidade e os eventos que provavelmente ocorreram na origem dos cromossomos B. Foram encontradas dezoito famílias de DNAsat no genoma de *Xyleus d. angulatus*. Alguns DNAsat mostraram uma organização agrupada nos cromossomos A e B, variando em número de locais e posição ao longo dos cromossomos. E os DNAsat compartilhados entre os cromossomos A e B suportaram a ideia de uma possível ancestralidade intraespecífica vinda de pequenos autossomos na espécie, ou seja, do par P10. A possibilidade de outros pares cromossômicos estarem envolvidos na origem do cromossomo B foi também hipotetizada (Milani *et al.*, 2018).

Figura 3: Cromossomos B de *Xyleus discoideus angulatus* em diplóteno (a) e metáfase I (b). Evidenciada a heteropicnose do cromossomo B semelhante a do X, positiva no diplóteno e negativa na metáfase I.



Fonte: Loreto *et al.* (2008).

Figura 4: Coloração convencional em células meióticas de *Xyleus discoideus angulatus* com cromossomos B de indivíduos do Ceará (a, b) e de Pernambuco (c, d). As figuras (a, c) mostram células em diplóteno e as figuras (b, d) mostram células em metáfase I.



Fonte: Bernardino *et al.* (2017).

Machado *et al.* (2014) analisaram a prevalência de cromossomos B de *Xyleus discoideus angulatus* em diferentes localidades do estado de Pernambuco. Os

autores associaram ainda a localização de genes de DNAr 18S e histona H4 com a possível origem do cromossomo B, descartando assim a possibilidade de sua origem ser de algum cromossomo marcado com estes genes, devido a ausência de marcação descrita no cromossomo B.

Posteriormente, um grande levantamento de ocorrência e distribuição de cromossomos B em indivíduos machos de populações de Pernambuco (14 localidades) e do Ceará (5 localidades) foi realizado por Bernardino *et al.* (2017) onde foi possível verificar que nas populações em que o cromossomo B foi encontrado sua taxa de prevalência estava estável. Além disso, este trabalho também identificou novas variantes do cromossomo B indicando que eventos mutacionais relacionados com modificações nas sequências de DNA repetitivo do cromossomo B eram frequentes. Pouquíssimas informações estão disponíveis na literatura a respeito da ocorrência, prevalência e distribuição de cromossomos B em fêmeas das espécies que os possuem. Um dos poucos trabalhos foi com a espécie *Melanoplus femur-rubrum* em que na população de fêmeas foi visto 9,1% dos indivíduos portando um cromossomo B metacêntrico que tinha uma taxa de transmissão para a prole acima de 80%, muito superior a proporção de transmissão mendeliana esperada de 50% (Lucov e Nur, 1973). Em outro estudo que analisou indivíduos da espécie *Eyprepocnemis plorans* foi observado ocorrência de cromossomo B em fêmeas com um total de prevalência equivalente a 46,15% (Manrique-Poyato *et al.*, 2006). Em um trabalho posterior, envolvendo fêmeas da espécie *Abracris flavolineata*, foi visto a presença de cromossomos B submetacêntricos em uma frequência de 29,7% (Bueno *et al.*, 2013). Porém, para *Xyleus d. angulatus*, a única análise de fêmeas, foi apenas para a população de Igarassu do estado de Pernambuco (Souza e Kido, 1995).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Identificar a distribuição e prevalência de cromossomos B em fêmeas da espécie *Xyleus discoideus angulatus*.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1- Verificar a ocorrência de cromossomos B em fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* em populações de Pernambuco e do Ceará;

2- Identificar o número de cromossomos B por fêmea através da contagem cromossômica e da análise da heterocromatina constitutiva;

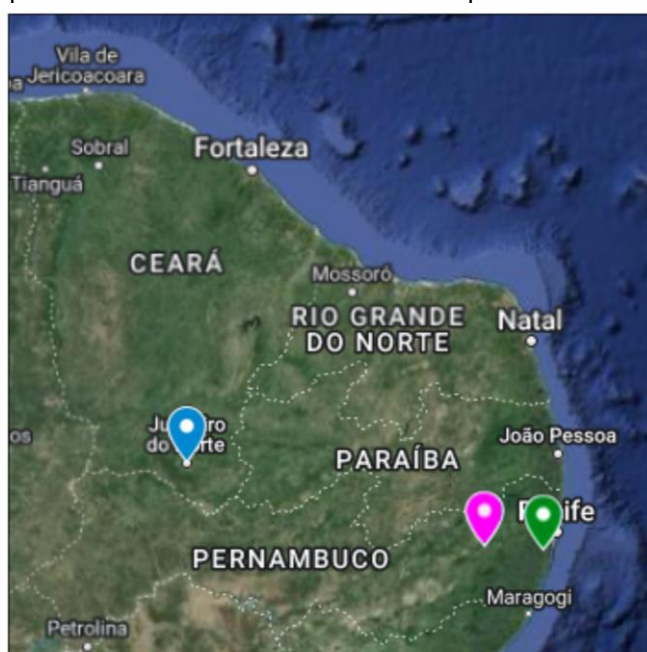
3- Analisar comparativamente os resultados, somados aos da literatura, a fim de propor um entendimento sobre a dinâmica evolutiva de cromossomos B considerando a herança materna e paterna desse elemento extra.

4. METODOLOGIA

4.1. COLETA, TRATAMENTO E ARMAZENAMENTO DO MATERIAL

Fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* foram coletadas em diferentes localidades de Pernambuco e do Ceará em anos anteriores, identificadas pelo taxonomista Carlos S. Carbonell e guardadas na coleção entomológica do LGCAH (Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana) da UFPE, das quais foram analisadas amostras de Juazeiro do Norte-CE dos anos 2011 e 2013 ($7^{\circ}12'47''$ S $39^{\circ}18'55''$ O - Bioma Caatinga), Cabo de Santo Agostinho-PE do ano 2012 ($8^{\circ}17'15''$ S $35^{\circ}2'7''$ O - Bioma Mata Atlântica) e Bezerros-PE do ano 2006 ($8^{\circ}14'33''$ S $35^{\circ}47'7''$ O - Bioma Caatinga) (Figura 5). Os gafanhotos foram capturados com a ajuda de uma rede entomológica e colocados em sacolas plásticas apropriadas, as quais foram transportadas para o laboratório. Os indivíduos foram então sacrificados e devidamente armazenados. Para este trabalho foram utilizados 32 indivíduos fêmeas representantes de *Xyleus discoideus angulatus* presentes no acervo do LGCAH.

Figura 5: Mapa indicando os municípios de coleta das fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* analisadas. Juazeiro do Norte-CE indicado pelo símbolo em azul, Cabo de Santo Agostinho-PE pelo símbolo em verde e Bezerros-PE pelo símbolo em rosa.



Fonte: Google Maps (2024).

Em relação ao material de fêmeas previamente obtido, as mesmas antes de serem sacrificadas passaram por uma etapa de aplicação de colchicina a 0,1% (6 horas). Pela ação da colchicina ocorre o bloqueio da divisão celular aumentando a chance de obter células metafásicas, ideais para a contagem do número cromossômico. As fêmeas foram anestesiadas usando um chumaço de algodão embebido com éter, dentro de um pequeno recipiente de vidro com tampa. Com o auxílio de uma tesoura foi feito um corte longitudinal na parte dorsal do indivíduo e com uma pinça foram retiradas suas gônadas e colocadas em tubo eppendorf com a solução de fixador Carnoy, na proporção de 3ml de etanol para 1ml de ácido acético. Os tubos foram mantidos no freezer a -20°C.

Após a dissecação, os indivíduos foram armazenados em um envelope triangular de papel com suas devidas identificações e foram colocados na estufa a 37°C por um período e, então, guardados na coleção entomológica do Laboratório de Genética e Citogenética Animal e Humana (LGCAH).

4.2. PREPARAÇÃO DE LÂMINAS COM COLORAÇÃO CONVENCIONAL

Para a análise do cariótipo e identificação de ocorrência de cromossomos B, lâminas contendo células mitóticas foram obtidas a partir da técnica clássica de esmagamento de folículos ovarianos. Para o preparo de cada lâmina, com o auxílio de uma lupa, foram usadas seringas para separar um ou dois folículos da gônada e este foi colocado sobre uma lâmina limpa com o uso de uma pinça, posteriormente foi adicionada uma gota de ácido acético 45% e com o uso das seringas cortou-se o folículo em vários pedaços pequenos, para facilitar o espalhamento das células sobre a lâmina. Após alguns segundos o excesso de ácido foi retirado com um papel toalha e adicionada uma a duas gotas do corante orceína lacto-acética a 2%, esperando-se cerca de 5 minutos, para que a orceína pudesse corar os cromossomos, permitindo sua posterior visualização. Após esse tempo, foi colocada uma lamínula sobre o material com o corante, e segurando-a em uma parte com um papel toalha, bateu-se sobre o material nela presente com o êmbolo de uma seringa, para assim espalhar o material sobre a lâmina, rompendo as células e expondo os cromossomos para a visualização, depois, segurando a lamínula sobre a lâmina para não escorregar, aplicou-se uma pressão com o dedo “esmagando” o material

entre a lâmina e a lamínula. Por fim, a lâmina foi selada (“lutada”) usando esmalte nas bordas da lamínula para fixá-la sobre a lâmina e impedir o ressecamento do corante.

4.3. PREPARAÇÃO DE LÂMINAS E BANDEAMENTO C

Para o preparo das lâminas foi utilizada também a técnica clássica de esmagamento de folículos ovarianos, porém sem o uso de corantes. Após esse passo, as lâminas foram identificadas e levadas ao nitrogênio líquido por cerca de 5 minutos, o que permite que o material se fixe na lâmina devido o congelamento, passado esse tempo, as lâminas foram retiradas do nitrogênio e com uma lâmina de bisturi retirou-se as lamínulas.

Para o bandejamento C, que permite a identificação de heterocromatina constitutiva, foi seguida a técnica de Guerra e Souza (2002), adaptada de Sumner (1972). Foram utilizadas lâminas brancas previamente preparadas, as quais foram envelhecidas durante cerca de 5 dias, e posteriormente passaram pelas seguintes etapas:

Inicialmente as lâminas foram mergulhadas em uma solução de ácido clorídrico (HCl) 0,1N por 30 minutos à temperatura ambiente; em seguida foram lavadas com água destilada; posteriormente foram mergulhadas em solução de hidróxido de bário (BaOH) 5% a 60 °C por cerca de 10 segundos a 3 minutos, a depender do tempo de envelhecimento da lâmina, visto que lâminas mais velhas (a partir de 5 dias) requerem um tempo maior de tratamento com bário; em seguida passaram por lavagens em banhos rápidos (2 minutos em cada um) de HCl 0,1N e água destilada; posteriormente as lâminas foram mergulhadas em solução salina de citrato de sódio (2 x SSC) a 60 °C por 45 minutos; e em seguida passaram novamente por uma lavagem com água destilada; posteriormente as lâminas foram coradas com uma solução de Giemsa a 5% em tampão fosfato pH 6,8 por aproximadamente 10 minutos; e por fim lavadas com água destilada, secas e montadas com Euparal, colocando-se uma gota do mesmo sobre o material e uma lamínula por cima. Após montadas, as lâminas passaram ainda um período a temperatura ambiente para o endurecimento correto do meio de montagem.

4.4. ANÁLISE E REGISTRO

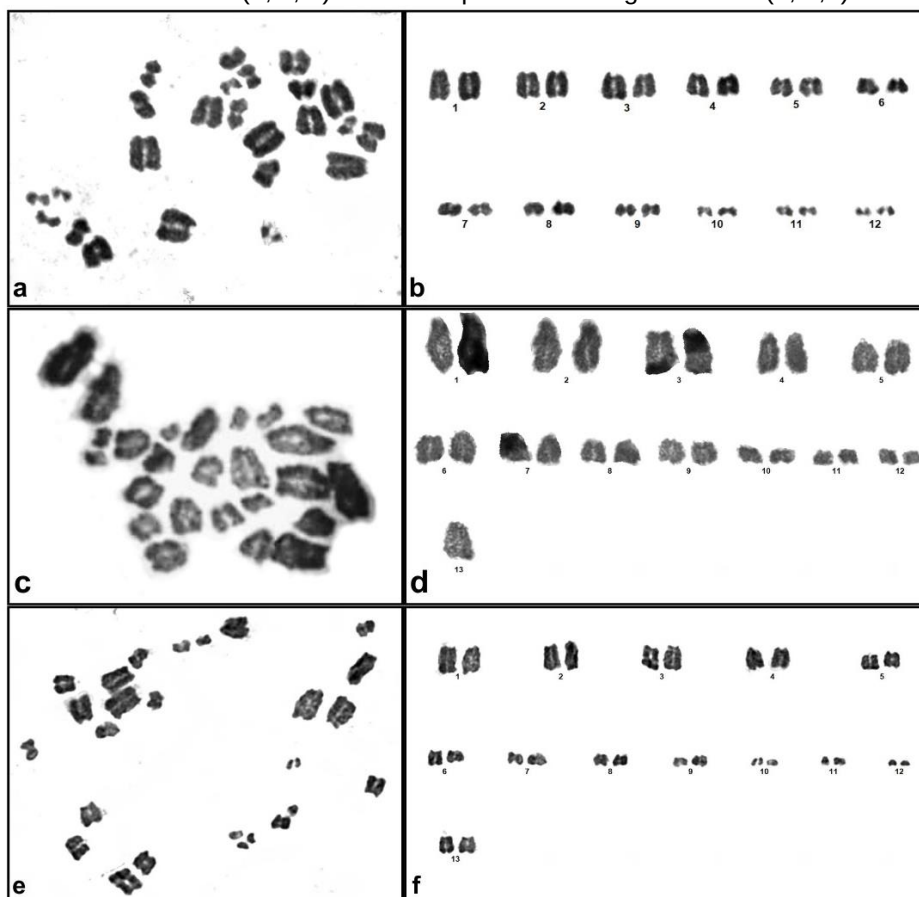
Após a preparação, as lâminas foram observadas ao microscópio óptico para procura de células completas as quais foram contadas com relação ao seu número cromossômico, avaliando a presença de um número normal de cromossomos com 24 cromossomos, ou com a alteração, com 25 ou mais cromossomos. Após a análise, as melhores células foram documentadas a partir da utilização de um fotomicroscópio da marca Leica e programa de montagem CytoVision para o registro e a montagem do cariótipo. Além disso, os dados da ocorrência e distribuição do cromossomo B nas diferentes populações foi sendo registrado em tabela obtida com o auxílio do programa Planilhas. E para a verificação da existência de uma diferença significativa entre as prevalências de cromossomos B das amostras, foi realizada a análise estatística de Mann-Whitney, utilizando-se a hipótese de 1 cauda (unicaudal) e um nível de significância (α) de 0,05, e formulando-se duas hipóteses, sendo a hipótese nula (H_0), que não há uma diferença significativa entre as amostras e a hipótese alternativa (H_1), que há uma diferença significativa entre as amostras.

5. RESULTADOS

Ao todo foram analisadas 32 fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus*, das quais 15 foram provenientes do estado do Ceará e 17 do estado de Pernambuco. Os 15 indivíduos analisados das amostras populacionais do Ceará, foram todos da localidade de Juazeiro do Norte-CE. Desses, oito foram coletados em 2011 (população 1) e sete em 2013 (população 2). Da população 1, seis apresentaram cariótipo sem alterações, $2n = 24,XX$ (0B), sendo os cromossomos organizados em três pares grandes, seis médios e três pares pequenos, e dois indivíduos possuíam 1 cromossomo B em seu cariótipo, $2n = 25,XX,+B$ (1B). Assim, a prevalência de cromossomo B para essa população foi de 25%. Já em relação a população 2, três indivíduos apresentaram cariótipo sem alterações, $2n = 24,XX$ (0B) (Figura 6a,b), e quatro possuíam cromossomo B. Destes, três apresentaram 1B, $2n = 25,XX,+B$ (1B) (Figura 6c,d) e um indivíduo apresentou 2 cromossomos B, $2n = 26,XX,+2B$ (2B) (Figura 6e,f). Um dos indivíduos 1B foi portador de mosaicismo, apresentando tanto células normais, quanto células com a alteração. A prevalência de cromossomo B para essa população foi, portanto, equivalente a 57,14%. Assim, 6 dos 15 indivíduos apresentaram ao menos 1 cromossomo B, representando 40% do total das amostras analisadas de Juazeiro do Norte-CE.

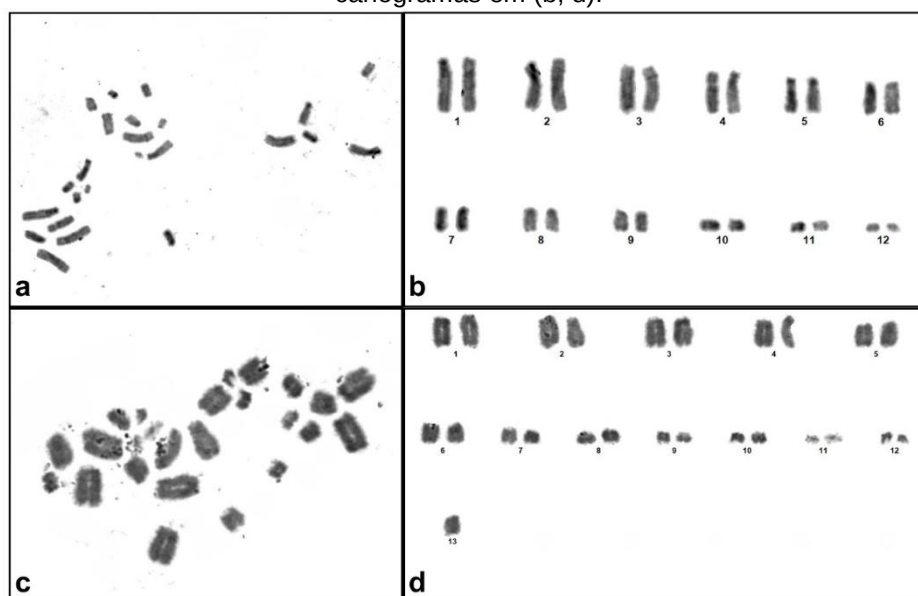
Dos 17 indivíduos analisados das amostras populacionais de Pernambuco, 12 foram coletados em Gurjaú no município de Cabo de Santo Agostinho-PE em 2012 (população 3) e 5 no município de Bezerros-PE em 2006 (população 4). Em relação à população 3, 10 indivíduos apresentaram cariótipo sem alterações, $2n = 24,XX$ (0B) (Figura 7a,b). Nesta população dois indivíduos possuíam cromossomo B em seu cariótipo, $2n = 25,XX,+B$ (Figura 7c,d), sendo um desses indivíduos portador de mosaicismo. Assim, a prevalência de cromossomo B para essa população foi de 16,67%.

Figura 6: Análise convencional de células mitóticas de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* de Juazeiro do Norte-CE, apresentando cariótipos: $2n = 24, XX$ (0B) (a, b); com um cromossomo B e cariótipo com $2n = 25, XX, +B$ (c, d); e com dois cromossomos B e cariótipo com $2n = 26, XX, +2B$ (e, f). Metáfases mitóticas em (a, c, e) e seus respectivos cariogramas em (b, d, f).



Fonte: De autoria própria (2024).

Figura 7: Análise convencional de células mitóticas de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* da população de Cabo de Santo Agostinho-PE, apresentando cariótipos: $2n = 24, XX$ (0B) (a, b); com um cromossomo B e cariótipo com $2n = 25, XX, +B$ (c, d); Metáfases mitóticas em (a, c) e seus respectivos cariogramas em (b, d).

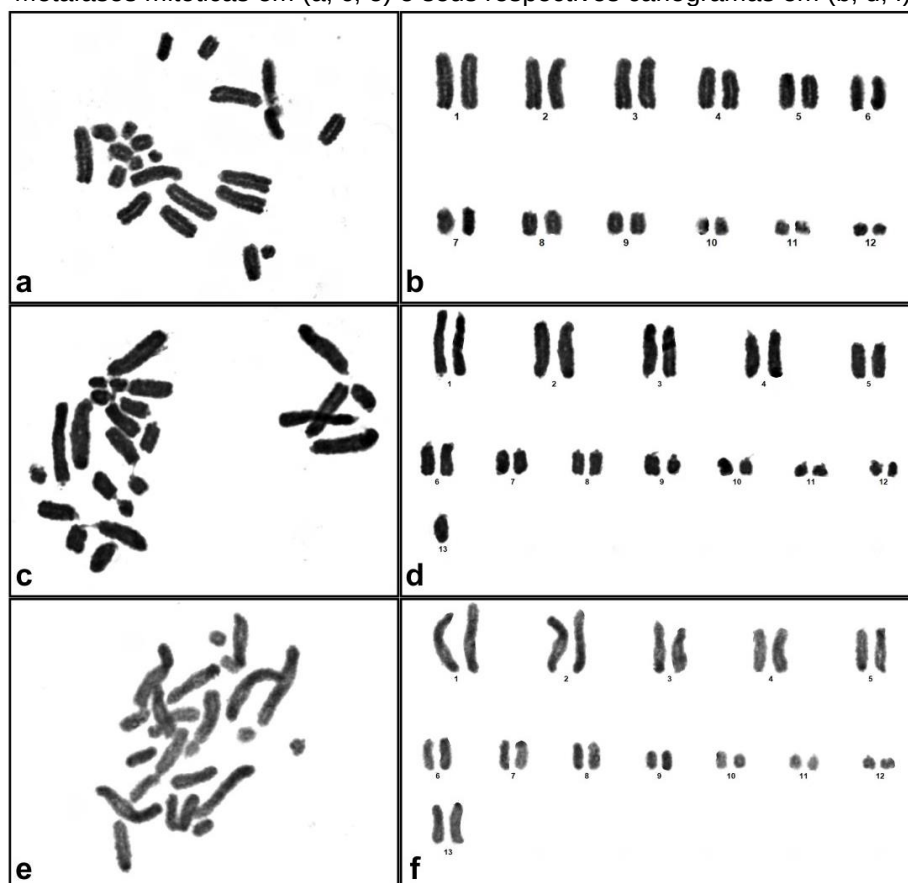


Fonte: De autoria própria (2024).

Da população 4, dois indivíduos apresentaram cariótipo sem alterações, $2n = 24,XX$ (0B) (Figura 8a,b), e três possuíam cromossomo B. Destes, dois apresentaram 1B, $2n = 25,XX,+B$ (1B) (Figura 8c,d), com um desses indivíduos portador de mosaicismos, e um indivíduo apresentou 2B, $2n = 26,XX,+2B$ (2B) (Figura 8e,f), sendo este também portador de mosaicismos. A prevalência de cromossomo B para essa população foi, portanto, equivalente a 60%. Assim, 5 dos 17 indivíduos da população amostral total de Pernambuco apresentaram ao menos 1 cromossomo B, representando 29,41%.

Ao todo, 11 dos 32 indivíduos apresentaram B, possuindo uma prevalência total de 34,38%, estando os cromossomos B presentes em todas as populações analisadas e apresentando uma morfologia acrocêntrica em todos os casos.

Figura 8: Análise convencional de células mitóticas de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* da população de Bezerros-PE, apresentando cariótipos: $2n = 24,XX$ (0B) (a, b); com um cromossomo B e cariótipo com $2n = 25,XX,+B$ (c, d); e com dois cromossomos B e cariótipo com $2n = 26,XX,+2B$ (e, f). Metáfases mitóticas em (a, c, e) e seus respectivos cariógramas em (b, d, f).



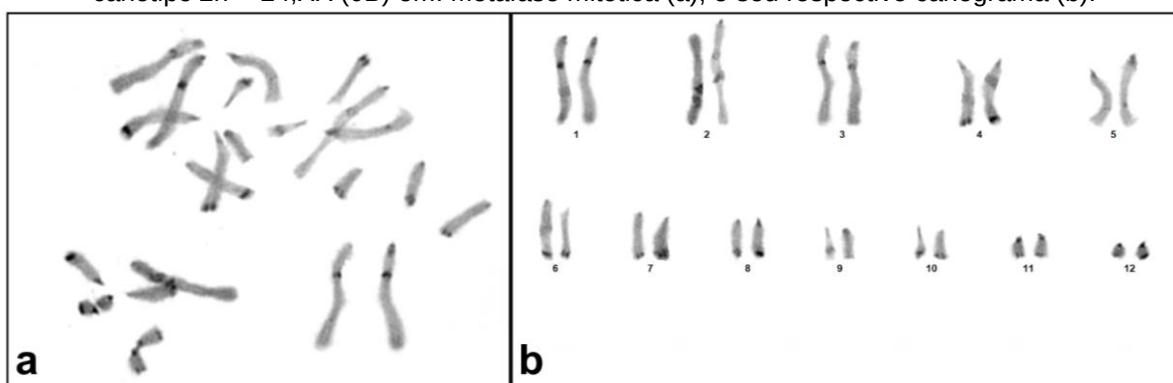
Fonte: De autoria própria (2024).

Através da aplicação da técnica do bandejamento C foi possível identificar o padrão de heterocromatina constitutiva (HC) em algumas fêmeas de *Xyleus*

discoideus angulatus. As fêmeas apresentaram um cariótipo com padrão de distribuição de heterocromatina com blocos pericentroméricos em todos os cromossomos A, pequenos blocos intersticiais nos três pares grandes e blocos distais em pares médios e pequenos (Figura 9a,b).

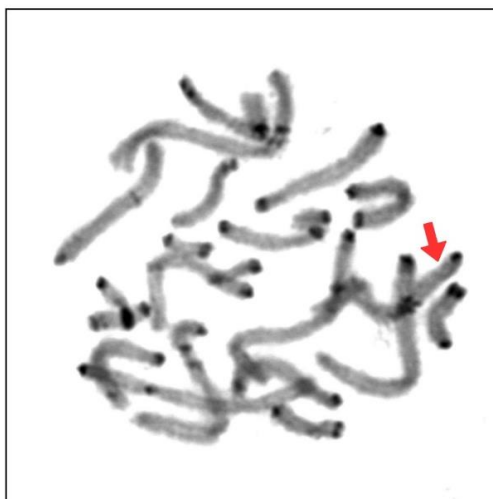
Também foram observadas algumas ligações entre autossomos e uma certa tendência de emparelhamento através da heterocromatina, sendo possível observar associações entre centrômero e centrômero e mais curiosamente entre blocos intersticiais e distais, estando os cromossomos lado a lado, ou formando sobreposições em formato de “X”, quando ambos os blocos eram intersticiais (Figura 9a). Quanto aos cromossomos B observados nas fêmeas, estes apresentaram um tamanho similar ao X e morfologia acrocêntrica, e apresentou blocos pericentromérico e intersticial nas populações de Pernambuco (Figura 10).

Figura 9: Análise do bandejamento C de fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus*, apresentando cariótipo $2n = 24, XX$ (0B) em: Metáfase mitótica (a); e seu respectivo cariograma (b).



Fonte: De autoria própria (2024).

Figura 10: Análise do bandejamento C de fêmeas de *Xyleus d. angulatus*, apresentando cariótipo $2n = 25, XX, +B$ (1B), em metáfase mitótica. A seta vermelha indica o cromossomo B no cariótipo.



Fonte: De autoria própria (2024).

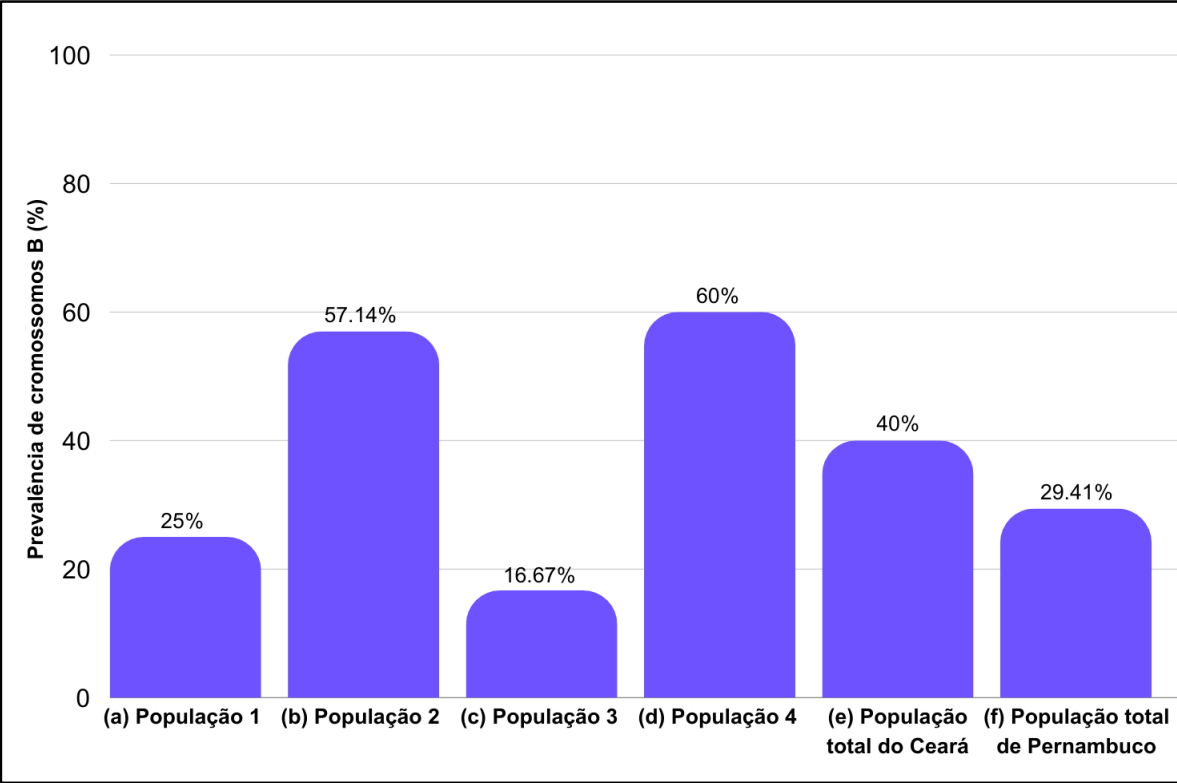
Fazendo uma comparação entre as populações do Ceará, foi possível perceber que a incidência de cromossomos B foi maior na de 2013. Enquanto na amostra de 2011 (População 1) a presença de cromossomos B foi observada em 25% da mesma, na de 2013 (População 2), estava em aproximadamente 57% (Figura 11a,b). Sendo assim, a incidência de cromossomos B na amostra de 2013 foi cerca de 32% maior que na de 2011.

Ao comparar as populações de Pernambuco, é possível perceber que a incidência de cromossomos B foi maior na população 4 (Bezerros-PE). Enquanto na população 3 (Cabo de Santo Agostinho-PE) a presença de cromossomos B foi observada em apenas aproximadamente 17% da mesma, na população 4 estava em 60% da amostra populacional (Figura 11c,d). Desse modo, a incidência de cromossomos B na população 4 foi cerca de 43% maior que na população 3.

Comparando as populações de fêmeas de Ceará e Pernambuco, foi possível perceber que a incidência de cromossomos B foi cerca de 11% maior na amostra total do Ceará, estando presente em 40% desta, que na amostra total de Pernambuco, onde a presença de cromossomos B foi observada em aproximadamente 29% da mesma (Figura 11e,f). Ao comparar as quatro populações, a população 4 obteve a maior prevalência de B, com 60%, sendo 35% maior que a população 1 (25%), cerca de 43% maior que a população 3 (16,67%), e apresentando um valor muito semelhante a prevalência da população 2 (57,14%), com cerca de apenas 3% de diferença.

Dados já publicados da ocorrência de cromossomos B em machos de *Xyleus discoideus angulatus* coletados em Juazeiro do Norte-CE em 2011 e 2013, no Cabo de Santo Agostinho em 2012 e em Bezerros-PE em 2004 a 2006 (Bernardino *et al.*, 2017), podem ser comparados com os dados aqui obtidos para as populações de fêmeas (Tabela 1).

Figura 11: Prevalência de cromossomos B observada nas fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus*, nas populações de Juazeiro do Norte-CE, 2011 - População 1 (a); Juazeiro do Norte-CE, 2013 - População 2 (b); Cabo de Santo Agostinho-PE, 2012 - População 3 (c); Bezerros-PE, 2006 - População 4 (d); na amostra populacional total do Ceará (e); e na amostra populacional total de Pernambuco (f).



Fonte: De autoria própria (2024).

Tabela 1: Prevalência e quantidade de indivíduos com cromossomo B para cada uma das quatro populações de fêmea de *Xyleus discoideus angulatus*, juntamente com dados das populações de machos para as mesmas localidades.

Amostras	Indivíduos com 0B	Indivíduos com 1B	Indivíduos com 2B	Total de indivíduos	Prevalência de B (%)
Fêmeas					
População 1 (Juazeiro do Norte-CE - 2011)	6	2	0	8	25
População 2 (Juazeiro do Norte-CE - 2013)	3	3*	1	7	57,14
População 3 (Cabo de Santo Agostinho-PE - 2012)	10	2*	0	12	16,67
População 4 (Bezerros-PE - 2006)	2	2*	1*	5	60
Total	21	9	2	32	34,38

Machos¹					
População de Juazeiro do Norte-CE - 2011/2013	30	6	0	36	16,66
População de Cabo de Santo Agostinho-PE - 2012	32	0	0	32	0
População de Bezerros-PE - 2004 a 2006 ²	38	6	0	44	13,64
Total	100	12	0	112	10,71

¹Populações analisadas por Bernardino *et al.* (2017).

²Populações fornecidas para Bernardino *et al.* (2017), pelo trabalho de Machado *et al.* (2014).

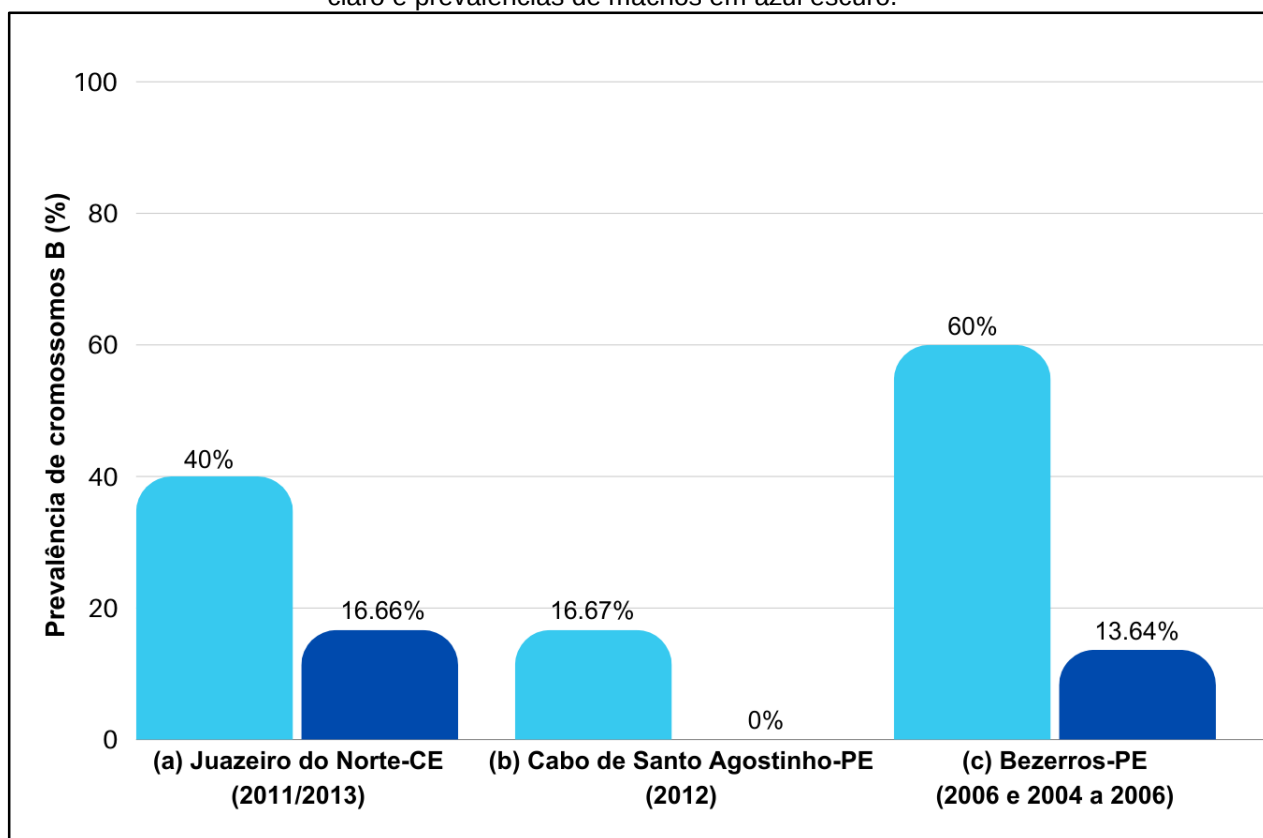
*Um indivíduo apresentou mosaïcismo.

Fonte: De autoria própria (2024).

Para as populações de machos do Ceará foram analisados 36 indivíduos, dos quais 6 apresentaram 1 cromossomo B e os demais não apresentaram alteração, sendo a prevalência de B na amostra analisada correspondente a 16,66% (Bernardino *et al.*, 2017). Assim, comparando as fêmeas e machos de *Xyleus d. angulatus* coletados em Juazeiro do Norte-CE em 2011/2013, a prevalência de B foi de 23,34% maior nas fêmeas (40%) do que nos machos (16,66%) (Figura 12a) (Figura 13a,b).

Em relação às populações de machos de Pernambuco, para a população do Cabo de Santo Agostinho-PE foram analisados 32 indivíduos, dos quais nenhum apresentou alteração, possuindo prevalência, portanto, de 0% (Bernardino *et al.*, 2017). Assim, comparando as fêmeas e machos coletados no Cabo de Santo Agostinho em 2012, a prevalência de B foi cerca de 17% maior nas fêmeas (16,67%) do que nos machos (0%) (Figura 12b). Já para a população de Bezerros-PE foram analisados 44 indivíduos machos coletados em 2004 a 2006, dos quais 6 possuíam cromossomo B, apresentando assim uma prevalência de 13,64% (Bernardino *et al.*, 2017). Portanto, ao comparar as fêmeas e machos coletados em Bezerros-PE, a prevalência de B foi de 46,36% maior nas fêmeas (60%) do que nos machos (13,64%) (Figura 12c).

Figura 12: Prevalência de cromossomos B observadas nas fêmeas e nos machos de *Xyleus discoideus angulatus*, nas populações de Juazeiro do Norte-CE, 2011/2013 (a); Cabo de Santo Agostinho-PE, 2012 (b); e Bezerros-PE, 2006 e 2004 a 2006 (c). Prevalências de fêmeas em azul claro e prevalências de machos em azul escuro.



Fonte: De autoria própria (2024).

Ao comparar ambas as populações de macho de Pernambuco, foi visto que os machos apresentaram, portanto, uma prevalência de aproximadamente 14% maior na população 4 (13,64%), que na população 3 (0%), sendo assim a população 4 foi maior em prevalência de cromossomos B em Pernambuco tanto nas fêmeas (com cerca de 43% de prevalência a mais que a população 3) quanto nos machos.

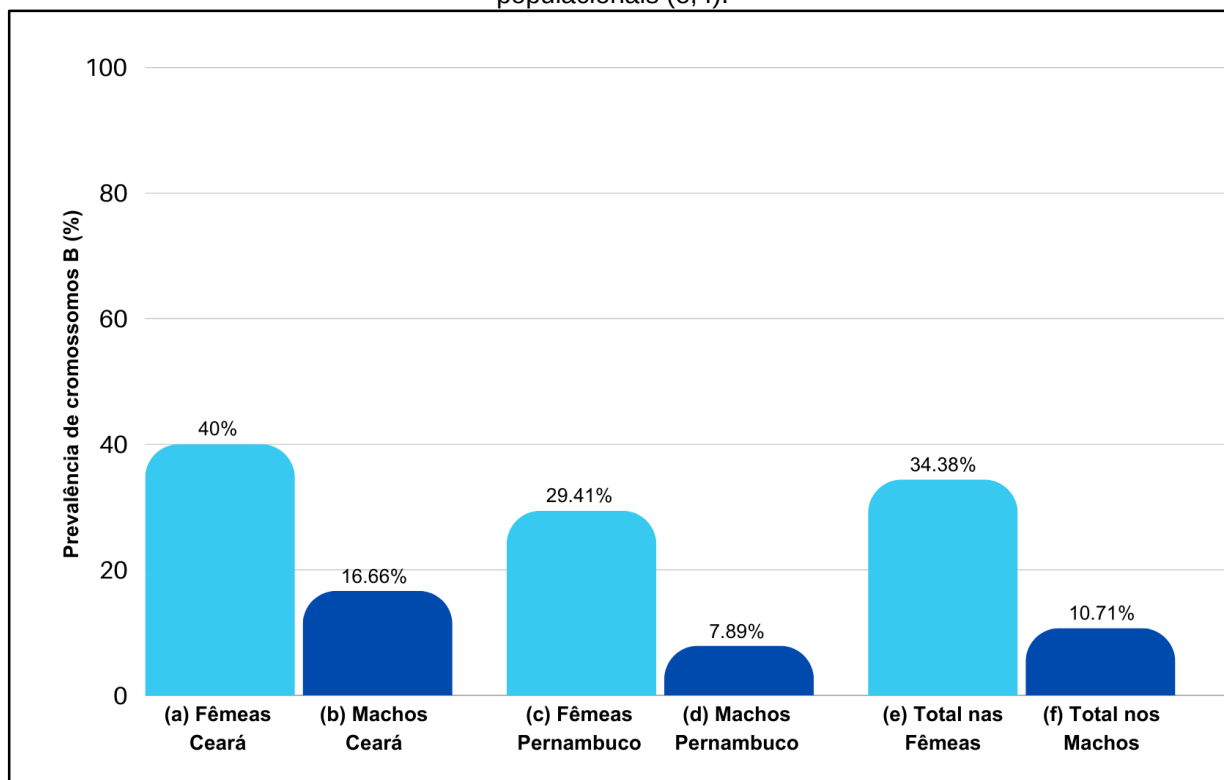
Assim, a prevalência total de B para as fêmeas e machos de *Xyleus d. angulatus* coletados no estado de Pernambuco, foi de 21,52% maior nas fêmeas (29,41%) do que nos machos (7,89%) (Figura 13c,d).

A diferença de prevalência entre Ceará e Pernambuco nos machos foi de aproximadamente 9% maior na amostra total do Ceará (16,66%), que na de Pernambuco (7,89%). Assim como a incidência de cromossomos B nas fêmeas, a qual foi cerca de 11% maior na amostra total de fêmeas do Ceará (40%), que na amostra total de fêmeas de Pernambuco (29,41%).

Ao comparar a prevalência total de cromossomos B encontrados nas fêmeas e nos machos, foi visto ainda um percentual de 23,67% a mais nas fêmeas, com

34,38% de prevalência, que nos machos, com apenas 10,71% de prevalência (Figura 13e,f).

Figura 13: Prevalência de cromossomos B observadas nas fêmeas e nos machos de *Xyleus discoideus angulatus*, nas populações do Ceará (a, b); Pernambuco (c, d); e no total das amostras populacionais (e, f).



Fonte: De autoria própria (2024).

A análise estatística de Mann-Whitney, unicaudal e com nível de significância (α) = 0,05, mostrou diferença significativa entre as prevalências de cromossomos B entre todas as populações de fêmeas e machos de *Xyleus discoideus angulatus* analisadas, entre a prevalência de fêmeas e machos do Ceará e de Pernambuco e entre a prevalência total das populações de fêmeas e a total das populações de machos. A análise estatística resultou nos valores de $U = 0$, $p = 0.00604$ e valor crítico = 4, assim, devido o valor de U ser menor que o valor crítico, rejeita-se a hipótese nula (H_0), e, portanto, aceita-se a hipótese alternativa (H_1), comprovando assim que há uma diferença significativa entre os dados analisados.

Sendo assim, tanto a população do Ceará, quanto a de Pernambuco, apresentaram uma prevalência significativamente maior nas fêmeas quando comparado aos machos, sendo este aumento similar entre essas duas populações,

com cerca de apenas 2% de prevalência maior na população do Ceará (23,34%), quando comparada com a de Pernambuco (21,52%). É válido ressaltar que, devido à observação de indivíduos fêmeas com B na população de Cabo de Santo Agostinho-PE, isto exclui a ausência de cromossomo B nesta população e indica, de fato, que a ausência de indivíduos machos com B descrita por Bernardino *et al.* (2017) pode estar associada a uma frequência muito baixa desse polimorfismo nesta localidade.

6. DISCUSSÃO

No presente trabalho foram evidenciados cromossomos B em fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* de quatro populações, duas do Ceará (Juazeiro do Norte - 2011 e 2013) e duas de Pernambuco (Cabo de Santo Agostinho - 2012 e Bezerros - 2006). Esse polimorfismo estava presente em todas as populações analisadas em mais de um indivíduo e em duas delas o número de cromossomo B variou de zero a dois. Além disso, três indivíduos com 1B e um com 2B apresentaram mosaicismo. Ao todo foram analisados, neste trabalho, 32 indivíduos, dos quais 11 apresentaram B, possuindo uma prevalência total de 34,38%.

Através dos resultados obtidos das análises da prevalência de cromossomos B nas populações de Pernambuco e Ceará foi observada uma variação entre as populações também quanto a distribuição geográfica e características do ambiente. Neste trabalho, o polimorfismo apresentou uma distância de distribuição de cerca de 500 km entre as populações de Juazeiro do Norte-CE e Bezerros-PE, cerca de 100 km entre as populações de Bezerros-PE e Cabo de Santo Agostinho-PE, e uma distância máxima de distribuição de, cerca de 600 km entre as populações de Juazeiro do Norte-CE e Cabo de Santo Agostinho-PE. Os dados da análise da prevalência de cromossomos B em Pernambuco e no Ceará nos machos por Bernardino *et al.* (2017) mostraram que houve uma variação entre as populações, e que o polimorfismo foi observado em diversas localidades, apresentando uma distância máxima de distribuição de, aproximadamente, 900 km entre as populações de Gravatá-PE e Sapó-CE, nas quais este polimorfismo estava presente. Estes fatores revelam que os cromossomos B estão amplamente distribuídos no cariótipo da espécie *Xyleus discoideus angulatus*. Estas características são fortalecidas pela presença desse polimorfismo em populações de machos e fêmeas que, mesmo isoladas, apresentam o elemento, como foi o caso de Caruaru-PE, em que indivíduos foram coletados em remanescentes de florestas úmidas de enclaves de Caatinga (Machado *et al.*, 2014). Um caso semelhante com invasão local de cromossomos B em diferentes populações foi relatado anteriormente no gafanhoto *E. plorans* (Camacho *et al.*, 2015).

Na análise de machos realizadas por Machado *et al.* (2014) e Bernardino *et al.* (2017), não foram identificadas relações significativas entre a prevalência de cromossomos B e as diferentes características de vegetação, clima e relevo do

Ceará e Pernambuco, baseado nos diferentes biomas em que a espécie está inserida (Mata Atlântica e Caatinga). De modo geral, os cromossomos B encontraram-se distribuídos nos machos de maneira uniforme nos dois ambientes, apesar de ter sido encontrado uma pequena variação, onde a prevalência foi vista um pouco mais acentuada nas regiões de Caatinga (Bernardino *et al.*, 2017). No presente trabalho, o mesmo se dá entre as fêmeas, pois mesmo em populações distintas como Cabo de Santo Agostinho-PE e Juazeiro do Norte-CE o polimorfismo está presente.

Em relação ao aumento de prevalência de cromossomos B observado na população de Juazeiro do Norte-CE do ano 2013 (População 2), frente a do ano 2011 (População 1), com um aumento de aproximadamente 32% em dois anos, este pode ter ocorrido devido a uma diminuição no fluxo gênico da espécie na região, as condições do ambiente em que a população se encontrava, ou ainda a características biológicas da espécie, como o fato de serem mais sésseis, e portanto, não se dispersando muito, havendo a possibilidade, inclusive, dos indivíduos coletados possuírem algum grau de parentesco, sendo assim influenciados pela segregação não mendeliana dos cromossomos B. Camacho *et al.* (2000) sugeriu que diferenças interpopulacionais na prevalência de B, dependem de eventos históricos (como o número de gerações existentes desde o surgimento do polimorfismo, além de sua transmissão), de eventos aleatórios (como flutuações genéticas) e de fatores seletivos (como tolerância ecológica de portadores de polimorfismos). Estes fatores também podem justificar as diferenças de prevalência vistas entre as outras populações analisadas neste trabalho.

A análise de fêmeas de *Xyleus d. angulatus* por Souza e Kido (1995), em exemplares da população de Igarassu-PE, encontrou uma prevalência de 27,7%. Comparativamente às prevalências de cromossomo B encontradas para fêmeas de *Xyleus d. angulatus* aqui analisadas, sendo elas 25%, ~57%, ~17% e 60%, para as populações 1, 2, 3 e 4 respectivamente, possuindo uma prevalência total de 34,38%, a população de Igarassu-PE apresentou uma prevalência de 6,68% menor que as quatro populações juntas. Contudo, é importante destacar que o percentual visto em Igarassu-PE se aproxima dos valores de Cabo de Santo Agostinho-PE (População 3) e Juazeiro do Norte-CE (população 1) e pode indicar um valor de estabilidade para a frequência de B em fêmeas de *Xyleus d. angulatus*. Análise de outras populações de fêmeas serão importantes para confirmar este valor de estabilidade.

Pouquíssimos estudos foram realizados em outras fêmeas de gafanhotos e alguns apontam para valores altos de prevalência de cromossomo B. Como no estudo realizado por Manrique-Poyato *et al.* (2006) com indivíduos da espécie *Eyprepocnemis plorans* coletados em Algarrobo (Málaga, Espanha) em 2002, 2003 e 2004, foi observado ocorrência de cromossomo B em fêmeas, com prevalência de 41%, 53% e 45%, respectivamente, com um total de prevalência equivalente a 46,15%, onde das 104 fêmeas analisadas por eles, 48 apresentaram cromossomo B. Assim, as fêmeas de *E. plorans* apresentaram prevalência 11,77% maior que as de *Xyleus d. angulatus* para as quatro populações analisadas. Contudo em outro estudo foi visto que a prevalência de B em fêmeas pode ser mais baixa: se comparadas com as fêmeas da espécie *Melanoplus femur-rubrum*, coletadas em Whipple Park em Rochester (Nova York, Estados Unidos), estudadas quanto à presença de cromossomo B, por Lucov e Nur (1973), as fêmeas de *Xyleus d. angulatus* apresentaram prevalência 25,28% maior que as de *Melanoplus femur-rubrum*, as quais possuíam prevalência de apenas 9,1%. Lucov e Nur (1973) também demonstraram que a alta taxa de transmissão do B encontrada em suas análises foi devido à sua segregação preferencial no oócito secundário durante a anáfase I.

É importante ressaltar que os dados aqui obtidos, mostram-se diferentes do padrão de frequência geralmente observados desse polimorfismo. Pois, contrariamente ao aumento significativo de cromossomos B nas fêmeas de *Xyleus d. angulatus*, apesar dos cromossomos B serem frequentemente analisados apenas em machos, devido à sua disponibilidade citológica de meiose, na maioria dos sistemas de cromossomos B em que machos e fêmeas foram analisados, foi mostrada uma frequência semelhante em ambos os sexos (Camacho, Schmid e Cabrero, 2011), como apontado no estudo envolvendo cromossomos B em fêmeas do gafanhoto *Abracris flavolineata* realizado por Bueno *et al.* (2013). No estudo, foram analisadas 27 fêmeas coletadas em Rio Claro (São Paulo, Brasil), das quais 8 apresentaram um ou dois cromossomos B submetacêntricos. A frequência de cromossomos B nas fêmeas foi de 29,7%, semelhante à encontrada nos machos também analisados no estudo, que foi de 31,5%.

Visto tamanho aumento da prevalência de cromossomos B entre as populações de fêmeas do Ceará, entre as fêmeas de Pernambuco e quando comparadas as prevalências das fêmeas com a dos machos para as mesmas localidades, tanto no Ceará quanto em Pernambuco, além do aumento observado

entre as fêmeas aqui analisadas e as fêmeas de Igarassu-PE, algumas possibilidades para este aumento podem ser sugeridas. Primeiramente, é válido propor que o aumento da ocorrência de B nas fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus* analisadas tenha ocorrido por conta de um aumento de mecanismo de acumulação nas mesmas, devido à transmissão dos cromossomos B para as próximas gerações seguir uma segregação não mendeliana (Camacho, 2022).

Sabendo-se que cromossomos B podem se associar aos cromossomos sexuais durante a meiose resultando em uma frequência de transmissão maior para um determinado sexo, uma segunda explicação possível para o aumento de prevalência de B nas fêmeas analisadas, é que em *Xyleus discoideus angulatus* ocorra uma segregação preferencial do B com o cromossomo X durante a espermatogênese. Em *Xyleus d. angulatus*, assim como nos outros gafanhotos que possuem sistema sexual $2n = 23,X0$ e $24,XX$, são gerados ao final da espermatogênese, dois gametas $n = 11$ (onze cromossomos autossomos) e dois $n = 12,X$ (onze cromossomos autossomos e um X), e ao final da ovogênese, tem-se quatro células $n = 12,X$, porém três delas são pequenas e não viáveis (corpos polares) e apenas um gameta viável é gerado (óvulo), consequentemente, ao ocorrer a fecundação do óvulo ($n = 12,X$) com um gameta masculino $n = 11$, será formado um macho $2n = 23,X0$, e ao ocorrer a fecundação com um gameta masculino $n = 12,X$, será formado uma fêmea $2n = 24,XX$. Quando ocorre uma segregação preferencial do cromossomo B com o cromossomo X durante a espermatogênese, o B se direciona juntamente com o X para o mesmo gameta, formando assim um $n = 13,X,+B$ (onze cromossomos autossomos, um X e um B). Consequentemente, ao gameta masculino com cromossomo B ($n = 13,X,+B$) fecundar com o feminino ($n = 12,X$), gerará uma fêmea portadora de B ($2n = 25,XX,+B$). Portanto, apesar do drive do cromossomo B estar ocorrendo nas fêmeas, a resposta para a causa desse drive pode estar nos machos, pois quando o B se associa e segrega com o cromossomo X durante a meiose masculina, resulta em uma transmissão mais frequente para a progênie feminina. Tal situação é vista nos gafanhotos *E. plorans* (Camacho *et al.*, 2011) e *Tettigidea lateralis* (Orthoptera - Tettigidae) (Fontana e Vickery, 1973; Burt e Trivers, 2008).

Uma terceira explicação para o aumento da prevalência observada nas fêmeas, diz respeito à função dos cromossomos B. Estes comumente não agregam vantagens ou desvantagens ao indivíduo que os possui. Contudo, um estudo

realizado por Ahmad *et al.* (2020) revelou diferentes questões sobre a composição genética, sobrevivência evolutiva, manutenção e papel funcional dos cromossomos Bs dentro da célula. Assim, é possível que os cromossomos B tenham causado alguma vantagem às fêmeas, fazendo com que tenham sido encontradas mais fêmeas com B, do que comparado às vantagens ou desvantagem de estarem nos machos. Atualmente, pouco ainda se é compreendido sobre o mecanismo do drive dos cromossomos B, porém, há a possibilidade da expressão das sequências desses cromossomos desempenharem uma função, a exemplo, várias sequências repetitivas e não codificantes por natureza presentes em cromossomos B, que são expressas a nível transcricional (Benetta, Akbari e Ferree, 2019). Em relação aos cromossomos B de *Xyleus discoideus angulatus*, estudos genômicos sobre suas sequências descreveram a existência de sequências teloméricas e sequências de DNA moderadamente e altamente repetitivo (Bernardino *et al.*, 2017), além de 18 famílias de DNA sat distintas (Milani *et al.*, 2018), contudo estudos a respeito da existência de genes funcionais ainda se fazem necessários para um melhor entendimento de seu drive na espécie.

Uma quarta possibilidade é de que o cromossomo B em *Xyleus discoideus angulatus* possua alguma função na determinação sexual da espécie, ocasionando um aumento no número de fêmeas com cromossomos B na população. Pois, como em algumas espécies os cromossomos B podem ser restritos ou predominantes em um sexo, existe a hipótese de que o B poderia desempenhar um papel na determinação do sexo. Algo similar ao que ocorre nos machos do peixe-caverna *Astyanax mexicanus* da caverna Pachón, onde foi visto que esse polimorfismo é predominante nos machos, e com base em uma montagem genômica de alta qualidade de um macho portador de B, foi caracterizada a sequência B do peixe-caverna e descoberto que ela possui dois loci duplicados do suposto fator de diferenciação de crescimento do gene *MSD 6b* (*gdf6b*). Além disso, foi descoberto que o gene *gdf6b* de *A. mexicanus* é especificamente expresso na diferenciação de gônadas masculinas, e que seu *knockout* influencia a reversão sexual de macho para fêmea em machos portadores de cromossomo B (Imarazene *et al.*, 2021). Outro caso semelhante foi o estudado por Yoshida *et al.* (2011), onde concluíram que os cromossomos B têm um efeito funcional na determinação do sexo feminino em peixes de *Lithochromis rubripinnis* (Cichlidae) da população da ilha de Matumbi. Os resultados mostraram que os cromossomos B estavam presentes em quase

todas as fêmeas, porém, em nenhum macho. A ausência de cromossomos B nos machos indicou que os cromossomos B foram específicos para o sexo feminino na população. O estudo sugeriu que a presença de cromossomos B específicos para fêmeas nesta espécie leva a uma razão sexual tendenciosa para as fêmeas, e confirmou o efeito dos cromossomos B na determinação do sexo.

Uma última hipótese que não pode ser descartada vem da constatação de que a análise que é comumente realizada na descrição de cromossomos B em gafanhotos, e usada em *Xyleus d. angulatus*, é que em machos é feita a partir de células germinativas, enquanto para as fêmeas são utilizadas células somáticas (Souza e Kido, 1995; Bernardino *et al.*, 2017). Desta forma, poderia haver um diferencial de viabilidade da presença de cromossomos B em diferentes tipos de tecidos, estando estes mais prevalentes na linhagem somática dos indivíduos.

Os dados obtidos através do bandeamento C podem ser comparados a dados presentes na literatura para machos da espécie. O padrão de distribuição de heterocromatina de cromossomos A encontrado nas fêmeas foi similar aos padrões vistos nos machos (Souza e Silva-Filha, 1993; Souza e Kido, 1995). O padrão de distribuição dos blocos de heterocromatina nos cromossomos B foi similar ao observado nas análises de bandeamento C para os machos de *Xyleus discoideus angulatus* de Ceará e Pernambuco, Brasil, por Bernardino *et al.* (2017), onde foram observados blocos intersticiais em populações de Pernambuco.

7. CONCLUSÃO

A presença de cromossomos B foi observada em todas as populações analisadas, onde 11 das 32 fêmeas apresentaram B, possuindo uma prevalência total equivalente a 34,38%. Foi visto que há diferença significativa entre as prevalências de cromossomos B entre todas as populações de fêmeas e machos de *Xyleus d. angulatus* analisadas, entre a prevalência de fêmeas e machos do Ceará e de Pernambuco e entre a prevalência total das populações de fêmeas e de machos.

Os cromossomos B observados nas fêmeas apresentaram morfologia acrocêntrica e blocos de heterocromatina pericentromérico e intersticial nas populações de Pernambuco. O padrão de distribuição da heterocromatina constitutiva e a morfologia dos cromossomos B foi similar ao observado nas análises de bandeamento C para os machos de *Xyleus d. angulatus* de Ceará e Pernambuco, onde foram observados blocos intersticiais em populações de Pernambuco e morfologia acrocêntrica.

Visto o aumento da prevalência de cromossomos B entre as populações de fêmeas do Ceará e nas fêmeas comparado com a prevalência encontrada nos machos para as mesmas localidades, tanto no Ceará quanto em Pernambuco, bem como o aumento de prevalência observado entre as fêmeas de *Xyleus d. angulatus* das quatro populações e as de Igarassu-PE, foram aqui levantadas cinco possibilidades para este aumento. Podendo este ser devido a:

1- Um aumento de mecanismo de acumulação nas fêmeas, devido a transmissão dos cromossomos B para as próximas gerações seguir uma segregação não mendeliana;

2- Possibilidade de haver uma segregação preferencial do cromossomo B com o cromossomo X durante a espermatogênese;

3- Existência de alguma função dos cromossomos B, sendo possível que os mesmos tenham causado alguma vantagem às fêmeas, fazendo com que tenham sido encontradas mais fêmeas com B, do que comparado às vantagens ou desvantagem de estarem nos machos;

4- Existência de alguma função na determinação sexual da espécie, ocasionando um aumento no número de fêmeas com cromossomos B na população;

5- Possibilidade dos cromossomos B de *Xyleus d. angulatus* possuírem uma viabilidade maior quando presente na linhagem somática do organismo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELAZIZ, M. et al. Physical mapping of rDNA and satDNA in A and B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* from a Greek population. *Cytogenetic and Genome research*, v. 119, n. 1-2, p. 143-146, 2007. <https://doi.org/10.1159/000109631>.
- ABUCARMA, Miriam; MARTINS-SANTOS, Isabel Cristina. Karyotype and B chromosome of *Rhamdia* species (Pisces, Pimelodidae) endemic in the River Iguaçu basin. *Cytologia*, v. 66, n. 3, p. 299-306, 2001. <https://doi.org/10.1508/cytologia.66.299>.
- ADNADEVIC, T. et al. Possible influence of B chromosomes on genes included in immune response and parasite burden in *Apodemus flavicollis*. *PLoS One*, v. 9, n. 11, p. e112260, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112260>.
- AHMAD, Syed Farhan; MARTINS, Cesar. The modern view of B chromosomes under the impact of high scale omics analyses. *Cells*, v. 8, n. 2, p. 156, 2019. <https://doi.org/10.3390/cells8020156>.
- AHMAD, Syed F. et al. B chromosomes of multiple species have intense evolutionary dynamics and accumulated genes related to important biological processes. *BMC genomics*, v. 21, p. 1-25, 2020. <https://bmcbgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-020-07072-1>.
- AMEDEGNATO, C. Les genres áacridiens néotropicaux, leur classification par familles, sous-familles et tribus. *Acrida*, v. 3, p. 193-208, 1974.
- AMEDEGNATO, C. STRUCTURE AND EVOLUTION OF GENITALIA IN ACRIDIDAE AND RELATED FAMILIES. *Acrida*, 1976. <http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.2.35889.76640>.
- BAKKALI, M.; CAMACHO, J. P. M. The B chromosome polymorphism of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* in North Africa: III. Mutation rate of B chromosomes. *Heredity*, v. 92, n. 5, p. 428-433, 2004. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800437>
- BAKKALI, M. et al. Population differences in the expression of nucleolus organizer regions in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Protoplasma*, v. 217, p. 185-190, 2001. <https://doi.org/10.1007/BF01283399>.
- BAKKALI, M. et al. The B chromosome polymorphism of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* in North Africa. I. B variants and frequency. *Heredity*, v. 83, n. 4, p. 428-434, 1999. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6885950>.
- BANAEI-MOGHADDAM, Ali Mohammad et al. Formation and expression of pseudogenes on the B chromosome of rye. *The Plant Cell*, v. 25, n. 7, p. 2536-2544, 2013. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.111856>.

BELOVSKY, G. E.; SLADE, J. B. The role of vertebrate and invertebrate predators in a grasshopper community. *OIKOS*, v. 68, n. 2, p. 193-201, nov. 1993.
<https://doi.org/10.2307/3544830>.

BENETTA, Elena Dalla; AKBARI, Omar S.; FERREE, Patrick M. Sequence expression of supernumerary B chromosomes: function or fluff?. *Genes*, v. 10, n. 2, p. 123, 2019. <https://doi.org/10.3390/genes10020123>.

BERNARDINO, Andrezza C. S. et al. B chromosome variants of the grasshopper *Xyleus discoideus angulatus* are potentially derived from pericentromeric DNA. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 152, n. 4, p. 213-221, out. 2017.
<https://doi.org/10.1159/000480036>.

BEUKEBOOM, Leo W. -Bewildering Bs: an impression of the 1st B-Chromosome Conference. *Heredity*, v. 73, n. 3, p. 328-335, 1994.
<https://doi.org/10.1038/hdy.1994.140>.

BIDAU, Claudio Juan; MARTI, Dardo Andrea. B chromosomes and Robertsonian fusions of *Dichroplus pratensis* (Acrididae): intraspecific support for the centromeric drive theory. *Cytogenetic and genome research*, v. 106, n. 2-4, p. 347-350, 2004.
<https://doi.org/10.1159/000079311>.

BIRCHLER, James A.; YANG, Hua. The supernumerary B chromosome of maize: drive and genomic conflict. *Open Biology*, v. 11, n. 11, p. 210197, 2021.
<https://doi.org/10.1098/rsob.210197>.

BITTAR, Ana Cristina. *População e danos de gafanhoto desfolhador (Acrididae) em helicônias sob diferentes níveis de sombreamento em Santo Antônio de Pádua, RJ*. 2013. 56 f. Dissertação (Mestrado em Agricultura Orgânica) — Instituto de Agronomia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2013.

BRAGA, C. E. S.; GUTJAHR, A. L.; SOVANO, R. S. S.; TAVARES, G. C. Os gafanhotos Romaleidae (Orthoptera: Acridoidea) da região metropolitana de Belém, Pará, Brasil. In: *62ª Reunião Anual da SBPC*, Ciências Biológicas, 14, Zoologia, 6, 2015.

BROWN, Roland Wilbur. *Composition of scientific words*. Washington, DC: Smithsonian Institution Press, 1956. 882 p.

BUENO, Danilo; PALACIOS-GIMENEZ, Octavio Manuel; CABRAL-DE-MELLO, Diogo Cavalcanti. Chromosomal mapping of repetitive DNAs in the grasshopper *Abracris flavolineata* reveal possible ancestry of the B chromosome and H3 histone spreading. *Plos one*, v. 8, n. 6, p. e66532, 2013.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066532>.

BURT, A.; TRIVERS, R. *Genes in conflict*. Cambridge: Belknap, 2008.

BURT, Austin; TRIVERS, Robert. *Genes in conflict: the biology of selfish genetic elements*. Cambridge: The Belknap Press of Harvard University Press, 2006.

CABRAL-DE-MELLO, Diogo Cavalcanti et al. Cytogenetic mapping of 5S and 18S rRNAs and H3 histone genes in 4 ancient Proscopiidae grasshopper species: contribution to understanding the evolutionary dynamics of multigene families. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 132, n. 1-2, p. 89-93, 2010. <https://doi.org/10.1159/000317476>.

CABRERO, J.; ALCHÉ, J. D.; CAMACHO, Juan Pedro M. Effects of B chromosomes on the activity of nucleolar organizer regions in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*: activation of a latent nucleolar organizer region on a B chromosome fused to an autosome. *Genome*, v. 29, n. 1, p. 116-121, 1987. <https://doi.org/10.1139/g87-020>.

CABRERO, J. et al. Multiregional origin of B chromosomes in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, v. 112, p. 207-211, 2003. <https://doi.org/10.1007/s00412-003-0264-2>.

CABRERO, J.; VISERAS, E.; CAMACHO, J. P. M. The B-chromosomes of *Locusta migratoria* I. Detection of negative correlation between mean chiasma frequency and the rate of accumulation of the B's; a reanalysis of the available data about the transmission of these B-chromosomes. *Genetica*, v. 64, n. 3, p. 155-164, 1984. <https://doi.org/10.1007/BF00115339>.

CAMACHO, Juan Pedro M. B chromosomes. In: GREGORY, T. R. (Ed.). *The evolution of the genome*. San Diego: Academic Press, 2005. p. 223-286. <https://doi.org/10.1016/B978-012301463-4/50006-1>.

CAMACHO, J. P. M. et al. Evolution of a near-neutral B chromosome. In: Henriques-Gil, N., Parker, J.S., Puertas, M.J. (eds). *Chromosomes Today: Volume 12*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1997. p. 301-318. https://doi.org/10.1007/978-94-009-1537-4_18.

CAMACHO, J. P. M. et al. The B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* and the intragenomic conflict. *Genetica*, v. 117, p. 77-84, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1022311320394>.

CAMACHO, J. P. M.; SCHMID, M.; CABRERO, J. B chromosomes and sex in animals. *Sexual Development*, v. 5, n. 3, p. 155-166, 2011. <https://doi.org/10.1159/000324930>.

CAMACHO, Juan Pedro M. et al. Transient microgeographic clines during B chromosome invasion. *The American Naturalist*, v. 186, n. 5, p. 675-681, 2015. <http://www.jstor.org/stable/10.1086/683172>.

CAMACHO, Juan Pedro M.; SHARBEL, Timothy F.; BEUKEBOOM, Leo W. B-chromosome evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 355, n. 1394, p. 163-178, 2000. <https://doi.org/10.1098/rstb.2000.0556>.

CAMACHO, Juan Pedro M. Non-Mendelian segregation and transmission drive of B chromosomes. *Chromosome Research*, v. 30, n. 2-3, p. 217-228, jun. 2022. <https://doi.org/10.1007/s10577-022-09692-7>.

CAPINERA, John L. Host plant selection by *Romalea microptera* (Orthoptera: Romaleidae). *The Florida Entomologist*, v. 97, n. 1, p. 38-49, mar. 2014. <https://www.jstor.org/stable/24362433>.

CARBONELL, Carlos S. Origin, evolution, and distribution of the Neotropical acridomorph fauna (Orthoptera): a preliminary hypothesis. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina*, v. 36, n. 1-4, p.153-175, 1977. <https://www.biotaxa.org/RSEA/article/view/41780>.

CARBONELL, Carlos S. The genus *Xyleus* Gistel 1848 (Acridoidea, Romaleidae, Romaleinae). *Journal of Orthoptera Research*, v. 13, n. 1, p. 63-133, 2004. [https://doi.org/10.1665/1082-6467\(2004\)013\[0063:TGXGAR\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1665/1082-6467(2004)013[0063:TGXGAR]2.0.CO;2).

CARBONELL, Carlos S. *Radacridium nordestinum*: a new genus and species of Romaleid grasshoppers from the Brazilian Caatinga (Orthoptera, Acridoidea). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, v. 136, p. 123-129, 1984. <https://www.jstor.org/stable/4064822>.

CARBONELL, Carlos S. Revision of the Neotropical genus *Tropidacris* (Orthoptera, Acridoidea, Romaleidae, Romaleinae). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, v. 138, n. 2, p. 366-402, 1986. <https://www.jstor.org/stable/4064913>.

CARBONELL, Carlos S. *The Grasshopper Tribe Phaeopariini (Acridoidea: Romaleidae)*. Orthopterists' Society, Academy of Natural Sciences, Department of Entomology, 2002.

CHEN, Qin; JAHIER, Joseph; CAUDERON, Yvonne. The B Chromosome System of Inner Mongolian *Agropyron* Gaertn. 3. Cytogenetical Evidence for B- A Pairing at Metaphase I. *Hereditas*, v. 119, n. 1, p. 53-58, 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1993.00053.x>.

CONFALONIERI, V. A.; BIDAU, C. J. The B-chromosomes of two species of *Cylindrotettix* (Leptysminae, Acrididae). *Genetica*, v. 68, n. 2, p. 87-95, 1986. <https://doi.org/10.1007/BF02424404>.

D'AMBROSIO, Ugo et al. B-chrom: a database on B-chromosomes of plants, animals and fungi. *New Phytologist*, v. 216, n. 3, p. 635-642, 2017. <https://www.jstor.org/stable/90015059>.

DOUGLAS, Ryan N.; BIRCHLER, James A. B chromosomes. In: BHAT, T.; WANI, A. (Eds.). *Chromosome structure and aberrations*. New Delhi: Springer, 2017. p. 13-39. https://doi.org/10.1007/978-81-322-3673-3_2.

EADES, David C. Evolutionary relationships of phallic structures of Acridomorpha (Orthoptera). *Journal of Orthoptera Research*, p. 181-210, 2000. <https://doi.org/10.2307/3503648>.

FERNANDES, Valéria Dorneles; PÁDUA, José Augusto. A praga de gafanhotos no Sul da América: Argentina, Brasil e Uruguai (1890-1950). *Fronteira: Journal of Social, Technological and Environmental Science*, v. 7, n. 3, p. 145-160, 2018. <https://doi.org/10.21664/2238-8869.2018v7i3.p145-160>.

FERREE, Patrick M. et al. What is a B chromosome? Early definitions revisited. *G3 Genes| Genomes| Genetics*, v. 14, n. 6, 2024. <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkae068>.

FONTANA, P. G.; VICKERY, V. R. Segregation-distortion in the B-chromosome system of *Tettigidea lateralis* (Say)(Orthoptera: Tetrigidae). *Chromosoma*, v. 43, n. 1, p. 75-98, 1973. <https://doi.org/10.1007/BF01256733>.

GANDAR, M. V. The dynamics and trophic ecology of grasshoppers (Acridoidea) in a South African savanna. *Trophic Ecology of Grasshoppers in South African Savanna. Oecologia*, v. 54, p. 370-378, 1982. <https://www.jstor.org/stable/4216777>.

GANGWERE, S. K.; MURALIRANGAN, M. C.; MURALIRANGAN, M. (Eds.). *The bionomics of grasshoppers, katydids, and their kin*. New York: CAB International, 1997.

GEISER, David M.; TIMBERLAKE, William E.; ARNOLD, Michael L. Loss of meiosis in *Aspergillus*. *Molecular Biology and Evolution*, v. 13, n. 6, p. 809-817, 1996. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025641>.

GILLON, Y. The invertebrates of the grass layer. In: BOURLIÈRE, F. (Ed.). *Ecosystems of the World 13: tropical savannas*. Amsterdam: Elsevier, 1983. p. 289-311.

GISTEL, J. *Naturgeschichte des Thierreichs, für höhere Schulen*. Stuttgart: Zweite Auflage, 1848. v. 9, p. 216.

GOOGLE MAPS. Municípios de coleta das fêmeas de *Xyleus discoideus angulatus*. Google Maps, Ceará e Pernambuco, 2024.

GRAPHODATSKY, Alexander S. et al. The proto-oncogene C-KIT maps to canid B-chromosomes. *Chromosome Research*, v. 13, p. 113-122, 2005. <https://doi.org/10.1007/s10577-005-7474-9>.

GRIECO, Mariano L.; BIDAÚ, Claudio J. The dicentric nature of the metacentric B chromosome of *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acridinae, acrididae). *Heredity*, v. 84, n. 6, p. 639-646, 2000. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2000.00688.x>.

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. *Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana*. Brasil: FUNPEC, 2002.

GUTIÉRREZ, María Luisa et al. First update to B-chrom: a database on B-chromosomes. In: GARCIA, S.; NUALART, N. (Eds.). *Plant genomic and cytogenetic databases*. Methods in Molecular Biology, v. 2703. New York, NY: Humana, 2023. p. 227-236. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3389-2_17.

HANSSON, Bengt. On the origin and evolution of germline chromosomes in songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 116, n. 24, p. 11570-11572, 2019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1906803116>.

HARVEY, A. W.; HEWITT, G. M. B chromosomes slow development in a grasshopper. *Heredity*, v. 42, n. 3, p. 397-401, 1979. <https://doi.org/10.1038/hdy.1979.43>.

HENRIQUES-GIL, N.; SANTOS, J. L.; ARANA, P. Evolution of a complex B-chromosome polymorphism in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, v. 89, n. 4, p. 290-293, 1984. <https://doi.org/10.1007/BF00292477>.

HEWITT, G. M.; JOHN, B. The B-chromosome system of *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb.) Ill. The statistics. *Chromosoma*, v. 21, n. 2, p. 140-162, 1967. <https://doi.org/10.1007/BF00343641>.

HEWITT, G. M. Orthoptera. In: JOHN, B. (Ed.). *Animal cytogenetics*. v. 3, Insecta 1: Orthoptera. Berlin: Gebr. Borntrager, 1979. p. 1-170.

HEWITT, Godfrey M. The integration of supernumerary chromosomes into the orthopteran genome. In: *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1973. p. 183-194. 10.1101/SQB.1974.038.01.022.

HOUBEN, Andreas et al. Evolution and biology of supernumerary B chromosomes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, v. 71, p. 467-478, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1437-7>.

IMARAZENE, Boudjema et al. A supernumerary "B-sex" chromosome drives male sex determination in the Pachón cavefish, *Astyanax mexicanus*. *Current Biology*, v. 31, n. 21, p. 4800-4809. e9, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.08.030>.

JAMILENA, M. et al. Characterisation of repeated sequences from microdissected B chromosomes of *Crepis capillaris*. *Chromosoma*, v. 104, p. 113-120, 1995. <https://doi.org/10.1007/BF00347693>.

JAMILENA, M.; REJÓN, C. Ruiz; REJÓN, M. Ruiz. A molecular analysis of the origin of the *Crepis capillaris* B chromosome. *Journal of Cell Science*, v. 107, n. 3, p. 703-708, 1994. <https://doi.org/10.1242/jcs.107.3.703>.

JOERN, Anthony et al. Natural history of mass-action in predator-prey models: a case study from wolf spiders and grasshoppers. *The American Midland Naturalist*, v. 156, n. 1, p. 52-64, 2006. [https://doi.org/10.1674/0003-0031\(2006\)156\[52:NHOMIP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1674/0003-0031(2006)156[52:NHOMIP]2.0.CO;2).

JOHN, Ulrik P.; LEACH, Carolyn R.; TIMMIS, Jeremy N. A sequence specific to B chromosomes of *Brachycome dichromosomatica*. *Genome*, v. 34, n. 5, p. 739-744, 1991. <https://doi.org/10.1139/g91-114>.

JONES, R. Neil. B chromosomes in plants. *New Phytologist*, v. 131, n. 4, p. 411-434, 1995. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1995.tb03079.x>.

JONES, R. N.; PUERTAS, M. J. The B chromosomes of rye (*Secale cereale* L.). In: DHIR, K. K.; SAREEN, T. S. (eds). *Frontiers in Plant Science Research*. Bhagwati Enterprises, 1993. p. 81-112.

JONES, R. N.; REES, H. *B chromosomes*. London: Academic Press, 1982. 226 p.

JONES, R. Neil; VIEGAS, Wanda; HOUBEN, Andreas. A century of B chromosomes in plants: so what?. *Annals of botany*, v. 101, n. 6, p. 767-775, 2008. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm167>.

JONES, R. N. Transmission and drive involving parasitic B chromosomes. *Genes*, v. 9, n. 8, p. 388, 2018. <https://doi.org/10.3390/genes9080388>.

KARAMYSHEVA, Tatyana et al. New data on organization and spatial localization of B-chromosomes in cell nuclei of the yellow-necked mouse *Apodemus flavicollis*. *Cells*, v. 10, n. 7, p. 1819, 2021. <https://doi.org/10.3390/cells10071819>.

KAYANO, Hiroshi. Accumulation of B chromosomes in the germ line of *Locusta migratoria*. *Heredity*, v. 27, n. 1, p. 119-123, 1971. 10.1038/hdy.1971.76.

KOMLUSKI, Jovan; STUKENBROCK, Eva H.; HABIG, Michael. Non-Mendelian transmission of accessory chromosomes in fungi. *Chromosome Research*, v. 30, n. 2, p. 241-253, 2022. <https://doi.org/10.1007/s10577-022-09691-8>.

LECLAIR, S. et al. Meiotic behaviour of the minichromosome in the phytopathogenic ascomycete *Leptosphaeria maculans*. *Current genetics*, v. 30, n. 6, p. 541-548, 1996. <https://doi.org/10.1007/s002940050167>

LHANO, Marcos G. et al. *Tropidacris collaris* (Orthoptera: Romaleidae) expands its damage in orchards of the dwarf cashew, *Anacardium occidentale* (Anacardiaceae). *Entomological Science*, v. 22, n. 2, p. 151-156, 2019. <https://doi.org/10.1111/ens.12347>.

LISTRE, A. *Distribución geográfica de las familias Romaleidae y Ommexechidae (Orthoptera: Acridoidea) en el Uruguay*. 2009. Tese de Doutorado. Tesis de grado, Universidad de la República, Facultad de Ciencias, Montevideo–Uruguay. 62p.

LÓPEZ-LEÓN, M. D. et al. Possible origin of a B chromosome deduced from its DNA composition using double FISH technique. *Chromosome Research*, v. 2, p. 87-92, mar. 1994. <https://doi.org/10.1007/BF01553487>.

LORETO, Vilma et al. Possible autosomal origin of macro B chromosomes in two grasshopper species. *Chromosome Research*, v. 16, p. 233-241, 2008. <https://doi.org/10.1007/s10577-007-1188-0>.

LORRAN, Ívis. Foto 250974372 [imagem]. *iNaturalist*, 2023. Disponível em: <https://www.biodiversity4all.org/photos/250974372>. Acesso em: 2 jun. 2024.

LUCOV, Zipora; NUR, Uzi. Accumulation of B-chromosomes by preferential segregation in females of the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Chromosoma*, v. 42, n. 3, p. 289-306, set. 1973. <https://doi.org/10.1007/BF00284776>.

MACHADO, C. B. et al. B chromosome prevalence and physical mapping of 18S rDNA and H4 histone sites in the grasshopper *Xyleus discoideus angulatus* (Romaleidae). *Genetics and Molecular Research*, v. 13, p. 7052-7060, mar. 2014. <http://dx.doi.org/10.4238/2014.March.26.4>.

MAKUNIN, Alexey I. et al. Genes on B chromosomes of vertebrates. *Molecular cytogenetics*, v. 7, p. 1-10, 2014. <https://doi.org/10.1186/s13039-014-0099-y>.

MANRIQUE-POYATO, M. I. et al. Causes of B chromosome variant substitution in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosome Research*, v. 14, p. 693-700, set. 2006. <https://doi.org/10.1007/s10577-006-1081-2>.

MARANHÃO, Z. C. *Entomologia geral*. 3. ed. São Paulo: Nobel, 1976. p. 145-154 e 317-319.

MARIÑO-PEREZ, R. et al. *Plains Lubber Grasshopper Brachystola magna* (Girard, 1854) (Romaleidae). In: *Encyclopedia of Pest Orthoptera of the World*. Beijing: China Agricultural University Press, 2019. p. 225-229. <https://www.researchgate.net/publication/344785640>

MCALLISTER, Bryant F.; WERREN, John H. Hybrid origin of a B chromosome (PSR) in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. *Chromosoma*, v. 106, n. 4, p. 243-253, 1997. <https://doi.org/10.1007/s004120050245>.

MESA, A.; FERREIRA, A.; CARBONELL, G. S. Cariología de los acridoideos neotropicales: estado actual de su conocimiento y nuevas contribuciones. *Annales de la Société Entomologique de France (ns)*. Taylor & Francis, v. 18, n. 4, p. 507-526, out. 1982. <https://doi.org/10.1080/21686351.1982.12278337>.

MESA, A.; FONTANETTI, C. S. Multiple sex-chromosomes, autosomal polymorphism and a high number of S chromosomes in *Euchroma gigantea* L. 1735 (Coleoptera, Buprestidae). *Revista Brasileira de Genética*, v. 7, n. 4, p. 629-637, 1984. <http://hdl.handle.net/11449/32093>.

MEZA, Kevin. Foto 62379656 [imagem]. *iNaturalist Mexico*, 2020. Disponível em: <https://www.inaturalist.org/photos/62379656>. Acesso em: 2 jun. 2024.

MIAO, Vivian P.; COVERT, Sarah F.; VANETTEN, Hans D. A fungal gene for antibiotic resistance on a dispensable ("B") chromosome. *Science*, v. 254, n. 5039, p. 1773-1776, 1991. <https://doi.org/10.1126/science.1763326>.

MIAO, Vivian PW; MATTHEWS, David E.; VANETTEN, Hans D. Identification and chromosomal locations of a family of cytochrome P-450 genes for pisatin detoxification in the fungus *Nectria haematococca*. *Molecular and General Genetics MGG*, v. 226, p. 214-223, 1991.

MILANI, Diogo et al. Satellite DNAs unveil clues about the ancestry and composition of B chromosomes in three grasshopper species. *Genes*, v. 9, n. 11, p. 523, 2018. <https://doi.org/10.3390/genes9110523>.

MILANI, Diogo; CABRAL-DE-MELLO, Diogo Cavalcanti. Microsatellite organization in the grasshopper *Abracris flavolineata* (Orthoptera: Acrididae) revealed by FISH mapping: remarkable spreading in the A and B chromosomes. *PLoS One*, v. 9, n. 5, p. e97956, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097956>.

MILLS, Dallice; MCCLUSKEY, Kevin. Electrophoretic karyotypes of fungi: the new cytology. *Mol. Plant-Microbe Interact*, v. 3, p. 351-357, 1990. 10.1094/MPMI-3-351.

MITCHELL, John E.; PFADT, Robert E. A role of grasshoppers in a shortgrass prairie ecosystem. *Environmental Entomology*, v. 3, n. 2, p. 358-360, 1974. <https://doi.org/10.1093/ee/3.2.358>.

MONTIEL, Eugenia E. et al. Preferential occupancy of R2 retroelements on the B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *PLoS One*, v. 9, n. 3, p. e91820, 2014. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091820>.

MUNOZ-PAJARES, A. Jesus et al. A single, recent origin of the accessory B chromosome of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Genetics*, v. 187, n. 3, p. 853-863, 2011. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.122713>.

NAVARRO-DOMÍNGUEZ, Beatriz et al. Protein-coding genes in B chromosomes of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 45200, 2017. <https://doi.org/10.1038/srep45200>.

NETO, Marcos S. Regueira; SOUZA, Maria José De; LORETO, Vilma. Chromosomal evolution of rDNA and H3 histone genes in representative Romaleidae grasshoppers from northeast Brazil. *Molecular Cytogenetics*, v. 6, p. 1-7, 2013. <https://doi.org/10.1186/1755-8166-6-41>.

NUR, Uzi. A mitotically unstable supernumerary chromosome with an accumulation mechanism in a grasshopper. *Chromosoma*, v. 14, n. 4, p. 407-422, 1963. <https://doi.org/10.1007/BF00326786>.

NUR, Uzi. Mitotic instability leading to an accumulation of B-chromosomes in grasshoppers. *Chromosoma*, v. 27, n. 1, p. 1-19, 1969. <https://doi.org/10.1007/BF00326108>.

OLIVEIRA, Nathalia L. et al. Chromosomal mapping of rDNAs and H3 histone sequences in the grasshopper *Rhammatocerus brasiliensis* (Acrididae, Gomphocerinae): extensive chromosomal dispersion and co-localization of 5S rDNA/H3 histone clusters in the A complement and B chromosome. *Molecular Cytogenetics*, v. 4, p. 1-7, nov. 2011. <https://doi.org/10.1186/1755-8166-4-24>.

PAJEU, Pajeu. Foto 79653526 [imagem]. *iNaturalist*, 2020. Disponível em: <https://www.inaturalist.org/photos/79653526>. Acesso em: 2 jun. 2024.

PALESTIS, Brian G. et al. B chromosomes are more frequent in mammals with acrocentric karyotypes: support for the theory of centromeric drive. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, v. 271, n. suppl_3, p. S22-S24, 2004a. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0084>.

PALESTIS, B. G. et al. The distribution of B chromosomes across species. *Cytogenetic and genome research*, v. 106, n. 2-4, p. 151-158, 2004b. <https://doi.org/10.1159/000079281>.

PARDO, M. C. et al. Transmission analysis of mitotically unstable B chromosomes in *Locusta migratoria*. *Genome*, v. 37, n. 6, p. 1027-1034, 1994. <https://doi.org/10.1139/g94-146>.

PARDO, M. C. et al. Mitotic instability of B chromosomes during embryo development in *Locusta migratoria*. *Heredity*, v. 74, n. 2, p. 164-169, 1995. <https://doi.org/10.1038/hdy.1995.24>.

PÉREZ R., Manuel A. Foto 113749183 [imagem]. *iNaturalist Mexico*, 2021. Disponível em: <https://www.inaturalist.org/photos/113749183>. Acesso em: 2 jun. 2024.

PETERSON, Daniel G. et al. Integration of Cot analysis, DNA cloning, and high-throughput sequencing facilitates genome characterization and gene discovery. *Genome Research*, v. 12, n. 5, p. 795-807, 2002. <http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.226102>.

PEREIRA, L. G.; SOUZA, M. J. Nature and distribution of constitutive heterochromatin and NOR location in the grasshopper *Phaeoparia megacephala* (Romaleidae: Orthoptera). *Cytobios*, v. 103, n. 403, p. 111-119, 2000. 11077973.

POKORNÁ, Martina Johnson; REIFOVÁ, Radka. Evolution of B chromosomes: from dispensable parasitic chromosomes to essential genomic players. *Frontiers in genetics*, v. 12, p. 727570, 2021. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.727570>.

RANDOLPH, L. A. Types of supernumerary chromosomes in maize. *Anatomical Record*, v. 41, p. 102, 1928.

RIEDE, Klaus. A comparative study of mating behaviour in some neotropical grasshoppers (Acridoidea). *Ethology*, v. 76, n. 4, p. 265-296, 1987. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1987.tb00689.x>.

ROCHA, M. F.; SOUZA, M. J.; TASHIRO, T. Karyotype Variability in the Genus *Radacridium* (Orthoptera, Romaleidae, Romaleinae). *Cytologia*, v. 62, n. 1, p. 53-60, 1997. <https://doi.org/10.1508/cytologia.62.53>.

RUBAN, Alevtina et al. Supernumerary B chromosomes of *Aegilops speltoides* undergo precise elimination in roots early in embryo development. *Nature Communications*, v. 11, n. 1, p. 2764, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16594-x>.

RUIZ-ESTEVEZ, Mercedes et al. B-chromosome ribosomal DNA is functional in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *PLoS One*, v. 7, n. 5, p. e36600, 2012. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036600>.

RUIZ-ESTÉVEZ, Mercedes et al. Ribosomal DNA is active in different B chromosome variants of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Genetica*, v. 141, p. 337-345, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10709-013-9733-6>.

SAPRE, A. B.; DESHPANDE, D. S. Origin of B chromosomes in *Coix L.* through spontaneous interspecific hybridization. *Journal of Heredity*, v. 78, n. 3, p. 191-196, 1987. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a110355>.

SCHARTL, Manfred et al. Incorporation of subgenomic amounts of DNA as compensation for mutational load in a gynogenetic fish. *Nature*, v. 373, n. 6509, p. 68-71, 1995. <https://doi.org/10.1038/373068a0>.

SERVILLE, J. G. A. Revue methodique des insectes de l'Ordre des Orthoptères. *Annales des Sciences Naturelles*, Paris, v. 22, p. 28-65, 134-167, 262-292, 1831. <https://biostor.org/reference/61310>.

SILVA, Duílio Mazzoni Zerbinato de Andrade et al. Long-term persistence of supernumerary B chromosomes in multiple species of *Astyanax* fish. *BMC biology*, v. 19, p. 1-17, 2021. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-00991-9>.

SONG, Hojun et al. Evolution, diversification, and biogeography of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). *Insect Systematics and Diversity*, v. 2, n. 4, p. 3, 2018. <https://doi.org/10.1093/isd/ixy008>.

SONG, Hojun. Grasshopper systematics: past, present and future. *Journal of Orthoptera Research*, p. 57-68, 2010. <https://www.jstor.org/stable/20789567>.

SONNTAG, Frederico Acáz. Foto 185220657 [imagem]. *iNaturalist*, 2022. Disponível em: <https://www.inaturalist.org/photos/185220657>. Acesso em: 2 jun. 2024.

SOUZA, M. J.; HAVER, P. R. O.; MELO, N. F. Karyotype, C-and fluorescence banding patterns, NOR location and FISH in the grasshopper *Xestotrichelus robustus* (Romaleidae). *Caryologia*, v. 56, n. 3, p. 261-267, 2003. <https://doi.org/10.1080/00087114.2003.10589333>.

SOUZA, M. J.; SILVA-FILHA, M. H. N. Effects of extra chromosome segments on chiasma distribution in *Xyleus angulatus* (Orthoptera, Romaleidae). *Revista Brasileira de Genética*, v. 16, p. 23-33, 1993.

SOUZA, M. J.; RUFAS, J. S.; ORELLANA, J. Constitutive heterochromatin, NOR location and FISH in the grasshopper *Xyleus angulatus* (Romaleidae). *Caryologia*, v. 51, n. 1, p. 73-80, 1998. <https://doi.org/10.1080/00087114.1998.10589122>.

SOUZA, M. J.; KIDO, L.M.H. Variability of constitutive heterochromatin in karyotypes of representatives of the family Romaleidae (Orthoptera). *Rev. Brasil. Genet.*, v. 18, n. 4, p. 517-520, 1995. <https://cir.nii.ac.jp/crid/1571417124053818368>.

SOYER, Jessica L. et al. To B or not to B: a tale of unorthodox chromosomes. *Current opinion in microbiology*, v. 46, p. 50-57, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.01.012>.

STÅL, C. Orthoptera nova descripsit. *Kongliga Vetenskaps-akademiens Forhandlingar*, Stockholm, v. 30, p. 39-53, 1873.

STEVENS, N. M. The chromosomes in *Diabrotica vittata*, *Diabrotica soror* and *Diabrotica 12- punctata*. A contribution to the literature on heterochromosomes and sex determination. *Journal of Experimental Zoology*, v. 5, n. 4, p. 453-470, 1908. <https://doi.org/10.1002/jez.1400050402>.

STEPHENS, Robert T.; BREGMAN, A. A. The B-chromosome system of the grasshopper *Melanoplus femur-rubrum*. *Chromosoma*, v. 38, n. 3, p. 297-311, 1972. <https://doi.org/10.1007/BF00290927>.

SUMNER, A. T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental cell research*, v. 75, n. 1, p. 304-306, 1972. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(72\)90558-7](https://doi.org/10.1016/0014-4827(72)90558-7).

TERUEL, María. Origen, expresión y efectos fenotípicos de un parásito genómico. 2009. Tese – Universidad de Granada, Granada, Espanha, 2009.

TERUEL, María et al. Nucleolus size variation during meiosis and NOR activity of a B chromosome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosome Research*, v. 15, p. 755-765, 2007. <https://doi.org/10.1007/s10577-007-1159-5>.

TERUEL, María et al. Quantitative analysis of NOR expression in a B chromosome of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. *Chromosoma*, v. 118, p. 291-301, 2009a. <https://doi.org/10.1007/s00412-008-0197-x>.

TERUEL, María et al. Microdissection and chromosome painting of X and B chromosomes in *Locusta migratoria*. *Chromosome Research*, v. 17, p. 11-18, 2009b. <https://doi.org/10.1007/s10577-008-9001-2>.

TERUEL, María et al. B chromosome ancestry revealed by histone genes in the migratory locust. *Chromosoma*, v. 119, p. 217-225, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00412-009-0251-3>.

TORGASHEVA, A. A. et al. Germline-restricted chromosome (GRC) is widespread among songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 116, n. 24, p. 11845–11850, 2019. <https://doi.org/10.1073/pnas.1817373116>.

TRIFONOV, Vladimir A. et al. Transcription of a protein-coding gene on B chromosomes of the Siberian roe deer (*Capreolus pygargus*). *BMC biology*, v. 11, p. 1-11, 2013. <https://doi.org/10.1186/1741-7007-11-90>.

TRIPLEHORN, C. A.; JOHNSON, N. F. Borror and DeLong's: Introduction to the study of insects. 7. ed. Australia: Thomson Brooks/Cole, 2005. 212 p.

TZENG, Tzy-Hwa et al. A restriction fragment length polymorphism map and electrophoretic karyotype of the fungal maize pathogen *Cochliobolus heterostrophus*. *Genetics*, v. 130, n. 1, p. 81-96, 1992. <https://doi.org/10.1093/genetics/130.1.81>.

UHL, Charles H.; MORAN, Reid. The chromosomes of *Pachyphytum* (crassulaceae). *American Journal of Botany*, v. 60, n. 7, p. 648-656, 1973. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1973.tb05969.x>.

VALENTE, Guilherme T. et al. Origin and evolution of B chromosomes in the cichlid fish *Astatotilapia latifasciata* based on integrated genomic analyses. *Molecular biology and evolution*, v. 31, n. 8, p. 2061-2072, 2014. <https://doi.org/10.1093/molbev/msu148>.

VÁSQUEZ-ORDÓÑEZ, Aymer Andrés. Foto 157833700 [imagem]. *Naturalista Colombia*, set. 2021. Disponível em: <https://www.naturalista.co/photos/157833700>. Acesso em: 2 jun. 2024.

VILARDI, J. C. Isocromosomas B e irregularidades meióticas en dos especies de *Euplectrotettix* (Orthoptera: Acrididae). *Mendeliana*, v. 7, p. 125-137, 1986a.

VILARDI, Juan C. Parallel polymorphisms for interstitial C-bands and B-chromosomes in *Zoniopoda tarsata* (Orthoptera: Romaleidae). *Caryologia*, v. 39, n. 3-4, p. 365-380, 1986b. <https://doi.org/10.1080/00087114.1986.10797799>.

VISERAS, E. et al. Relationship between mitotic instability and accumulation of B chromosomes in males and females of *Locusta migratoria*. *Genome*, v. 33, n. 1, p. 23-29, 1990. <https://doi.org/10.1139/g90-005>.

VUJOŠEVIĆ, M.; BLAGOJEVIĆ, J. B chromosomes in populations of mammals. *Cytogenetic and Genome Research*, v. 106, n. 2-4, p. 247-256, 2004. <https://doi.org/10.1159/000079295>.

VUJOŠEVIĆ, Mladen; RAJIČIĆ, Marija; BLAGOJEVIĆ, Jelena. B chromosomes in populations of mammals revisited. *Genes*, v. 9, n. 10, p. 487, 2018. <https://doi.org/10.3390/genes9100487>.

VUJOŠEVIĆ, M.; ŽIVKOVIĆ, S. Numerical chromosome polymorphism in *Apodemus flavicollis* and *A. sylvaticus* (Mammalia: Rodentia) caused by supernumerary chromosomes. *Acta Veterinaria*, v. 37, p. 81–92, 1987.

WARCZALOWSKA-SLIWA, Elzbieta et al. B chromosomes, translocation between B and autosomes, and C-heterochromatin polymorphism of the grasshopper *Podisma sapporensis* Shir. (Orthoptera, Acrididae) in Hokkaido, northern Japan. *FOLIA BIOLOGICA-KRAKOW*-, v. 49, n. 1/2, p. 63-76, 2001. 11732168.

WERREN, John H.; STOUTHAMER, Richard. PSR (paternal sex ratio) chromosomes: the ultimate selfish genetic elements. *Genetica*, v. 117, p. 85-101, 2003. <https://doi.org/10.1023/A:1022368700752>.

WHITE, Michael James Denham. *Animal cytology and evolution*, 3rd edn. London: Cambridge University Press, 1973.

WHITE, Michael James Denham. *Animal cytology and evolution*, 2nd ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1954.

WILSON, Edmund B. The supernumerary chromosomes of Hemiptera. *Science, NY*, v. 26, p. 870-871, 1907.

YOSHIDA, Kohta et al. B chromosomes have a functional effect on female sex determination in Lake Victoria cichlid fishes. *PLoS genetics*, v. 7, n. 8, p. e1002203, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002203>.