



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Análise do polimorfismo de inversões cromossômicas em populações de
Drosophila polymorpha do sul da ilha de
Santa Catarina - Florianópolis**

Bruna Wildemann

Florianópolis, Dezembro de 2011.



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Bruna Wildemann

Análise do polimorfismo de inversões cromossômicas em populações de *Drosophila polymorpha* do sul da ilha Santa Catarina - Florianópolis

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Daniela Cristina De Toni

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Roberto Petersen Hofmann

Florianópolis, Dezembro 2011.

Aos meus pais, Osmar e Salete

AGRADECIMENTOS

Deixo aqui em poucas, porém sinceras palavras meu muito obrigada a todos que participaram de alguma forma e permitiram que eu concluísse mais esta etapa da minha vida.

- À minha orientadora Daniela De Toni e co-orientador Paulo Hoffmann, por toda dedicação e ensinamentos.
- Ao pessoal do Laboratório de Drosofilídeos UFSC, especialmente Indyara, Fernando, Chico e Marcos pela ajuda tanto nas coletas, taxonomia, meio de cultura... E ao Luis Bizzo, novo aluno de pós-doutorado pelas valiosas dicas.
- À Chirle do Fluorbeg (laboratório de microscopia de fluorescência do departamento de biologia celular, embriologia e genética - UFSC) na ajuda com microscópio e captura de imagens.
- Aos meus pais por todo apoio, compreensão e amor incondicional.
- A toda minha família pelo carinho.
- Meu namorado Nick pelo amor, carinho, companhia e pelas muitas aulas de inglês.
- À turma 06.2 e colegas do curso pelos muitos momentos compartilhados nestes 5 anos.
- A todos meus amigos, presentes e ausentes, vocês fazem parte de mim.
- E a Deus por colocar todas estas pessoas especiais na minha vida e tornar tudo possível.

MUITO OBRIGADA!

An old man was walking along a beach where thousands of starfish had washed ashore. Further on he saw a girl picking up the starfish, one by one, and tossing them back into the ocean. Approaching her he said, 'Silly girl! There are thousands of starfish here. How can your little effort possibly make any difference?' Smiling and tossing another starfish into the sea, the girl replied, 'It makes a difference to this one'.

Unknown author

RESUMO

O grupo *cardini* do subgênero *Drosophila* apresenta quesitos muito interessantes principalmente no que se refere à distribuição, pigmentação e padrões evolutivos. Sua distribuição abrange a região Neotropical e, apesar de sua alta representatividade nesta região, ainda há poucos estudos sobre o grupo. A espécie *D. polymorpha* pertencente a este grupo tem recebido recentemente grande atenção dos pesquisadores devido aos seus polimorfismos: pigmentação e inversão cromossômica paracêntrica. No Brasil, estudos apontam sua maior abundância na região Sul e em levantamentos taxonômicos na região de Florianópolis, tem sido uma das espécies de drosofilídeos mais abundante. Os polimorfismos de inversão cromossômica em espécies de *Drosophila* constituem um dos sistemas mais estudados em evolução e dados recentes apontam *D. polymorpha* como uma das espécies mais polimórficas do grupo *cardini*. O presente estudo teve como objetivo analisar o polimorfismo de inversões cromossômicas em *D. polymorpha* na Caiera da Barra do Sul, área de Mata Atlântica do extremo sul da região insular de Florianópolis. As 6 isolinhagens cultivadas em laboratório foram obtidos a partir da captura com rede sobre iscas de banana fermentada deixadas no campo por no mínimo três dias. As lâminas com os cromossomos politênicos foram obtidas a partir das larvas de terceiro estágio destas linhagens. Duas inversões, XA e IIRE sendo esta última descrita pela primeira vez na literatura. O estudo contribui no complemento do mapa cromossômico da espécie, com informações citogenéticas agregadas a aspectos ecológicos do grupo bem como para futuras pesquisas sobre sua história evolutiva.

Palavras-chave: Grupo *cardini*, *Drosophila polymorpha*, polimorfismo de inversão cromossômica, cromossomos politênicos.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTO.....	IV
RESUMO.....	VI
SÚMARIO.....	VII
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Objeto de estudo.....	1
1.2 Polimorfismos de inversão cromossômica.....	3
2. OBJETIVOS.....	8
2.1 Objetivo geral.....	8
2.2 Objetivos específicos.....	8
3. MATERIAS E MÉTODOS.....	9
3.1 Área de estudo.....	9
3.2 Coleta.....	10
3.3 Identificação e estoque.....	10
3.4 Preparações citológicas e análise citogenética.....	10
4. RESULTADOS.....	12
5. DISCUSSÃO.....	17
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	20
7. REFERÊNCIAS.....	21
8. ANEXO.....	28
8.1 Artigo publicado na revista <i>Drosophila Information Service</i> , dezembro 2011.....	28

1. INTRODUÇÃO

1.1 Objeto de estudo

Dentre as 150 famílias que compõem a Ordem Diptera (Classe Insecta) encontra-se a família Drosophilidae a qual apresenta ampla distribuição e diversificação (Yeates & Wiegmann, 2005). Com 3.800 espécies descritas, distribuídos em 65 gêneros, *Drosophila* é o gênero mais diverso (Bächli, 2011).

Moscas deste gênero tornaram-se umas das principais ferramentas de estudo envolvendo genética desde que Thomas Morgan, em 1910 elucidou aspectos fundamentais das teorias cromossômicas e hereditariedade. Embora as drosófilas sejam usadas nas pesquisas biológicas como animais modelo e o conhecimento sobre algumas espécies seja amplo, muitas ainda são desconhecidas (De Toni, *et al.*, 2007).

Dentro do gênero *Drosophila*, o subgênero *Drosophila* é o mais representativo e com maior presença na região neotropical, o qual também agrega o grupo *D. cardini* (Bächli, 2011). Este grupo apresenta aspectos interessantes especialmente no que concerne à sua distribuição, pigmentação abdominal e padrões evolutivos (Heed & Russel, 1971, Hollocher *et al.*, 2000; Brisson *et al.*, 2006). As moscas pertencentes a este grupo apresentam tamanhos médios (2–3,5mm de comprimento), são morfologicamente muito semelhantes e possuem a habilidade de colonizar múltiplos nichos (Rohde & Valente, 2006).

Este grupo, estabelecido por Sturtevant (1942), tem uma história relativamente recente para *D. cardini*, *D. similis* e outras espécies que depois foram realocadas no grupo *D. tripunctata* (Vilela, 1984), apontando a proximidade entre estes dois grupos irmãos (Yotoko *et al.*, 2003). Desde 1984, as seguintes espécies foram adicionadas ao grupo *cardini*: *D. acutilabella*, *D. antillea*, *D. arawakana*, *D. bedicheki*, *D. belladunni*, *D. cardinoides*, *D. caribiana*, *D. dunni*, *D. neocardini*, *D. neomorpha*, *D. nigrodunni*, *D. polymorpha*, *D. parthenogenetica* e *D. procardinoides* (tabela 1). Apesar da alta representatividade do grupo *cardini* na região neotropical, ainda existem poucos estudos referenciando-o. (Val *et al.*, 1981).

Tabela 1: Classificação e divisão das espécies do grupo *D. cardini* nos seus respectivos subgrupos. Modificada de Cordeiro, 2009.

Família	<i>Drosophilidae</i>	
Gênero	<i>Drosophila</i>	
Subgênero	<i>Drosophila</i>	
Grupo	<i>D. cardini</i>	
Subgrupo		Primeira descrição
	<i>cardini</i>	
	<i>D. bedichecki</i>	Heed e Russel, 1971
	<i>D. acutilabella</i>	Stalker, 1953
	<i>D. cardini</i>	Sturtevant, 1916
	<i>D. cardinoides</i>	Dobzhansky e Pavan, 1943
	<i>D. neocardini</i>	Streisinger, 1946
	<i>D. neomorpha</i>	Heed e Wheeler, 1957
	<i>D. parthenogenetica</i>	Stalker, 1953
	<i>D. polymorpha</i>	Dobzhansky e Pavan, 1943
	<i>D. procardinoides</i>	Frydenberg, 1956
	<i>dunni</i>	
	<i>D. antilea</i>	Heed, 1962
	<i>D. arawakana</i>	Heed, 1962
	<i>D. belladunni</i>	Heed e Krishnamurthy, 1959
	<i>D. caribiana</i>	Heed, 1962
	<i>D. dunni</i>	Townsend e Wheeler, 1955
	<i>D. nigrodunni</i>	Heed e Wheeler, 1957
	<i>D. similis</i>	Williston, 1896

Sete espécies pertencem ao subgrupo *dunni*, distribuído pelas ilhas do Caribe, e nove espécies integram o subgrupo *cardini*, presentes do México ao sul do Brasil, norte da Argentina e Chile (Heed & Krishnamurthy, 1959; Heed 1962; Heed & Russell, 1971).

Entre as espécies do grupo *D. polymorpha*, objeto de estudo deste trabalho, tem recebido recentemente grande atenção dos pesquisadores devido aos seus polimorfismos: pigmentação (Da Cunha, 1949; Heed & Blake, 1963; Martinez & Cordeiro, 1970) (figura 1) e inversão cromossomal paracêntrica (Da Cunha *et al.*, 1953; Heed & Russel, 1971; Rohde & Valente, 1996). Esta espécie apresenta uma distribuição clinal do polimorfismo de pigmentação com indivíduos mais claros ao sul e mais escuros ao norte da sua distribuição (Heed, 1963). Revela também um padrão fenotípico sazonal (Machado *et al.*, 2001) onde os indivíduos escuros aumentam em número durante os períodos mais frios do ano, por volta de 13°C, o que parece ter uma explicação fisiológica ainda não totalmente elucidada.

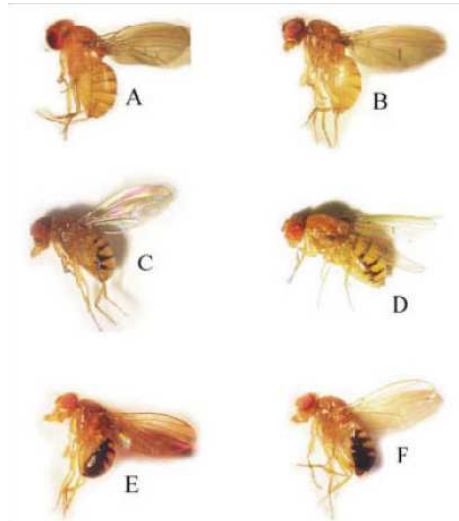


Figura 1. Fotografias de indivíduos de *Drosophila polymorpha* mostrando os diferentes padrões de coloração dos tergitos abdominais, proposto por Da Cunha (1949): fenótipo claro (A. macho, B. fêmea); fenótipo intermediário (C. macho, D. fêmea) e fenótipo escuro (E. macho, F. fêmea). Fonte: Machado *et al.*, 2001

No Brasil estudos relataram maior presença de *D. polymorpha* na região Sul (Da Cunha *et al.*, 1953). Em Florianópolis-SC, De Toni & Hofmann (1995), em estudo taxonômico de comunidade de *Drosophila*, constataram que *D. polymorpha* foi a segunda espécie mais abundante dentro da comunidade analisada.

Citogeneticamente *D. polymorpha* tem como número diplóide ($2n$) de cromossomos igual 8, com seu núcleo constituído por dois pares cromossomos metacêntricos (cromossomos II e III), um cromossomo pontual (IV) e um par sexual acrocêntrico (X). O cromossomo Y é heterocromático, não sendo distinguido da região centromérica.

1.2 Polimorfismos de inversão cromossômica

Polimorfismos de inversão são um dos sistemas mais estudados em genética de populações em espécies de *Drosophila*. Inversões têm auxiliado, por exemplo, no estudo de filogenia, mecanismos meióticos, seleção natural e outras forças evolutivas (Ananina *et al.*, 2004).

Para a detecção e análise dos polimorfismos de inversão se faz necessária a observação do padrão de bandas dos cromossomos politênicos. Estes cromossomos, também conhecidos como cromossomos gigantes, foram descritos em 1881 por Balbiani como estruturas nucleares em células gigantes das glândulas salivares e dos túbulos de Malpighi de larvas da mosca do gênero *Chironomus*. Painter (1933) então publicou um trabalho preliminar

descrevendo os cromossomos politênicos das glândulas salivares de larvas de *D. melanogaster*.

Vistos ao microscópio os braços dos cromossomos politênicos estão ligados ao cromocentro, região formada por heterocromatina, e apresentam um padrão alternado e distinto de bandas (escuras) e interbandas (claras). Esta diferenciação ocorre devido ao diferente grau de condensação da cromatina em cada área e também pela proporção de proteínas presentes. As bandas dos cromossomos politênicos de *Drosophila* podem ser reorganizadas por suas diferentes espessuras, espaçamento e padrão de expressão temporal, gerando *puffes* (figura 2). Recebem assim um número que identifica cada região de banda ou interbanda, gerando um “mapa” cromossômico (De Toni *et al.*, 2001).

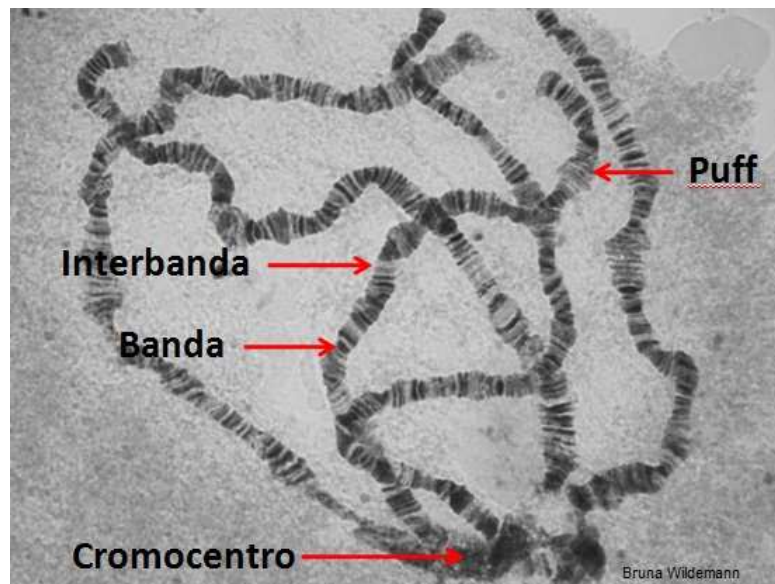


Figura 2. Cromossomo politênico da espécie *D. polymorpha* com indicações nas regiões de banda e interbanda, puff e cromocentro. Fonte: Bruna Wildemann.

Mutações cromossômicas, como as inversões, são as principais mudanças observadas no genoma de drosófilas, as quais têm sido amplamente estudadas ao longo dos anos. Estima-se que três quartos das espécies examinadas de *Drosophila* são naturalmente polimórficas para inversão (Krimbas & Powell, 1992). Os fatores envolvidos nas suas origens, sobrevivência em heterozigose e a sua permanência, devem ser quase tão diversos quanto às espécies em que ocorrem (Wasserman & Wasserman, 1992).

Há dois tipos de inversões: Pericêntricas que inclui os dois braços de um mesmo cromossomo juntamente com o cromocêntrico e as paracêntricas, que se restringem aos braços

cromossômicos, excluindo regiões centroméricas. Esta última é a forma de inversão mais facilmente encontrada em drosófilas. A ocorrência de recombinações dentro de uma alça de inversão tende a diminuir a frequência de gametas normais e funcionais, pelo fato de gerar produtos meióticos não viáveis (Garcia, 2006). Porém como há um considerável número de espécies com alta frequência deste tipo de polimorfismo sob seleção, conclui-se que ele se mantém de forma balanceada nas populações (Ananina *et al.*, 2004). De acordo com Da Cunha (1950) e Da Cunha & Dobzhansky (1954), sendo estes polimorfismos cromossômicos adaptativos e balanceados, a quantidade de polimorfismo presente em uma raça ou espécie deve ser em função do número e da variedade de nichos ecológicos que suas populações ocupam. Sob essa óptica, as inversões resultariam em blocos de genes coadaptados que confeririam adaptações específicas a nichos ou a condições ecológicas particulares.

Graças à fidelidade com que as cromátides intimamente pareadas dos cromossomos politênicos refletem a natureza estrutural do cariótipo de seu portador, e ao fato de que uma grande quantidade de espécies de *Drosophila* ser naturalmente polimórfica para inversões paracêntricas, a investigação desse tipo de rearranjo nos cromossomos politênicos é uma importante ferramenta para a determinação das relações filogenéticas dentro deste gênero (Sturtevant & Dozhansky 1936a, b; Wassermann, 1963). Assim, a comparação do padrão de bandas dos cromossomos politênicos entre espécies próximas pode fornecer um registro da sua história evolutiva, possibilitando a determinação do número e dos tipos de rearranjos cromossômicos fixados durante a sua divergência, a partir de seu último ancestral comum (Garcia, 2006).

As primeiras espécies do grupo *cardini* a terem seus cromossomos politênicos descritos foram *D. cardinoides* e *D. polymorpha* (Rohde & Valente, 1996) seguidas de *D. neocardini* e *D. neomorpha* (De Toni *et al.*, 2001). De Toni *et al.*, (2001 e 2002) aprofundou o estudo envolvendo o grupo *cardini* e seus cromossomos politênicos, analisando populações insulares e continentais da região de Florianópolis/SC, contribuindo com o aprimoramento do mapa cromossômico da espécie assim como da relação das inversões encontradas com o ambiente de Mata Atlântica.

Um estudo preliminar da evolução cromossômica do grupo *cardini* parece indicar que os cromossomos das espécies deste grupo sofreram uma alta reorganização na sua porção mediana, mantendo relativa conservação do padrão de banda e interbanda nas regiões distais e proximais dos cromossomos (Cordeiro & De Toni, dados ainda não publicados). Este estudo revela fatores muito interessantes na evolução deste grupo, como quebras e consequente aumento do número de cromossomos, além de relações de regiões de homologia de bandas,

não evidenciadas por estudos moleculares. Um exemplo é a monofilia entre *D. polymorpha* e *D. neomorpha* (figura 3), observada por Cordeiro (2009). Este evento não seria esperado devido a pouca similaridade entre os cromossomos destas duas espécies, visto que os cromossomos de *D. neomorpha* têm padrões muito similares aos de *D. cardinoides* e *D. parthenogenetica*, apontando assim para uma necessidade de aprofundamento dos estudos neste grupo (Cordeiro & De Toni, dados ainda não publicados).

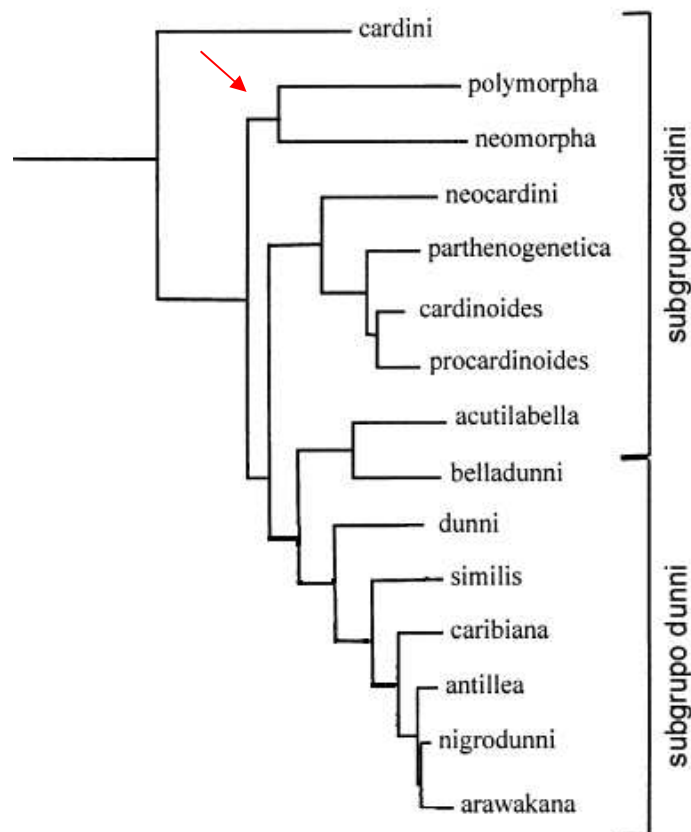


Figura 3. Reconstrução da filogenia do grupo *cardini* baseado em três genes nucleares e três genes mitocondriais. Seta indica a representação da monofilia entre *D. polymorpha* e *D. neomorpha*. Modificado de Cordeiro, 2009.

A grande destruição, aliada à falta de estudos evolutivos, no ambiente de Mata Atlântica a torna de especial interesse para estudos ecológicos. Os drosofilídeos podem, neste sentido, trazer informações relativas à conservação dos remanescentes de mata visto que mudanças ambientais refletem nas populações e até mesmo na sua estrutura do material genética. Estudos como os de Gottschalk (2002 e 2004) em Florianópolis, Santa Catarina e Avondet *et al.* (2003) em Oxford, Ohio (EUA) ressaltam a importância da utilização destes dípteros como bioindicadores de urbanização.

Nas últimas décadas foi publicado no Brasil vários trabalhos que abordam o estudo de comunidades de drosofilídeos. Apesar disto, poucos estudos vinculam os dados obtidos na área da ecologia com dados de análise genética. Estudos de drosofilídeos em ambientes heterogêneos, como o da Mata Atlântica, podem ainda fornecer subsídios para a compreensão de aspectos ecológicos e evolutivos das espécies desta família como a quantidade elevada de variabilidade genética ainda encontrada nas populações que habitam este ecossistema e corroborar o corpo de dados que aponta para a urgente necessidade de conservação deste bioma brasileiro (De Toni *et al.*, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Detectar a presença de polimorfismos de inversão em populações de *Drosophila polymorpha* em região insular sul de Florianópolis/SC.

2.2 Objetivos específicos

- Coletar, triar e identificar indivíduos do sexo feminino de populações de *Drosophila polymorpha*.
- Estabelecer e manter as isolinhagens derivadas das fêmeas coletadas na natureza.
- Confeccionar lâminas com cromossomos politênicos desta espécie para o registro de inversões a partir da análise dos mesmos.
- Contribuir no complemento do mapa cromossômico de referência da espécie.
- Relacionar aspectos genéticos aos ecológicos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Áreas de estudo

A coleta foi realizada na Caieira da Barra do Sul (S 27°48'S; O 48°33'), área de Mata Atlântica secundária em estágio avançado de regeneração, ao sul da parte insular do município de Florianópolis-SC (figura 4). Distante aproximadamente 40 km do centro da cidade, esta área que se localiza entre o mar e o morro possui considerável cobertura vegetal com pouca intervenção urbana.

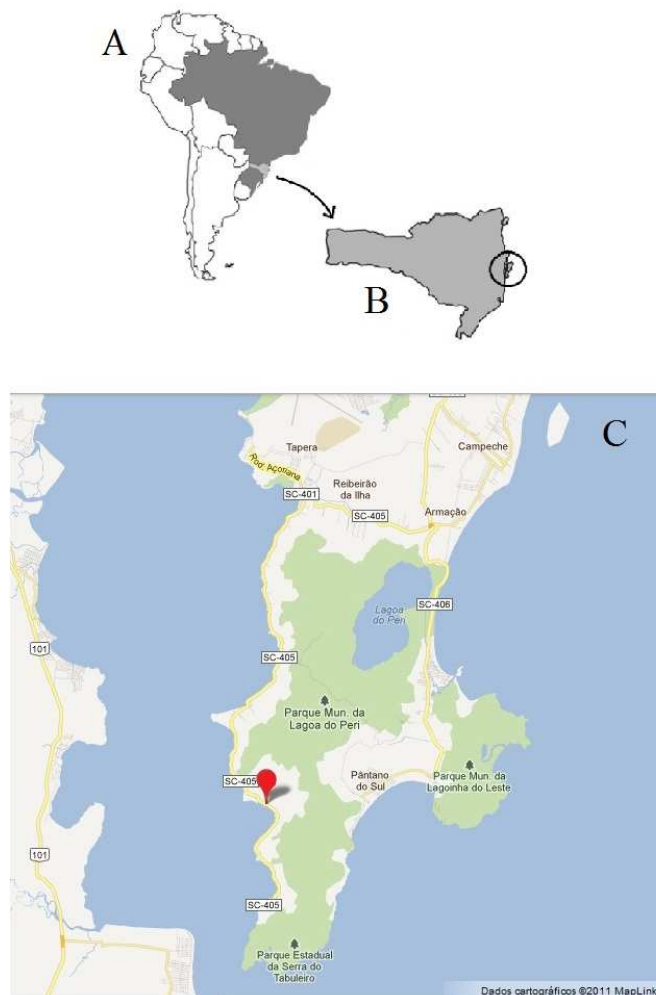


Figura 4. Mapa da America do Sul, com destaque no Brasil (A) e ampliação do estado de Santa Catarina onde a circunferência representa a região da grande Florianópolis (B). Ampliação da região sul insular do município de Florianópolis-SC onde a marcação em vermelho representa a região onde foram realizadas as coletas - Caieira da Barra Sul (C).

3.2 Coleta

Ao longo do ano de 2011, cinco coletas foram realizadas. Estas ocorreram nos meses de fevereiro, março, maio e outubro.

Amostras das populações de *Drosophila* foram obtidas a partir da captura de indivíduos adultos com rede entomológica sobre recipientes com isca de banana fermentada deixadas por no mínimo três dias na área de coleta. Capturas com uso de armadilhas preparadas com garrafa pet (Tidon & Sene, 1988) também foram eventualmente realizadas. As diferentes formas de coleta foram feitas com o objetivo de aumento do esforço amostral.

3.3 Identificação e estoque

Para a identificação taxonômica de *Drosophila polymorpha*, foi realizada uma rápida esterização para a observação sob microscópio estereoscópico no laboratório, baseando-se na morfologia externa da espécie. As linhagens estudadas foram estabelecidas usando uma única fêmea fértil coletada na natureza. A prole de cada fêmea foi mantida como um *pool* em laboratório e cultivada em meio de cultura de farinha de milho (Marques *et al.*, 1966), em câmara com temperatura controlada ($17^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 60% umidade relativa).

3.4 Preparação citológica e análise citogenética

Para preparação citológica do material, larvas de terceiro estágio foram dissecadas em solução fisiológica para retirada das glândulas salivares. As larvas de terceiro estágio representam a fase que antecede a formação da pupa. Ao atingirem este estágio, as larvas sobem pela parede do recipiente buscando espaço para a formação da pupa. Além disso, elas podem ser identificadas devido o seu tamanho diferenciado, maiores que as larvas de primeiro e segundo estágio.

Assim que obtidas, as glândulas foram fixadas em ácido acético 45% por 30 segundos, transferidas para a lâmina e coradas com orceína acética por 3 minutos de acordo com a técnica de Ashburner (1967). Após a colocação, lamínula foi colocada sobre o material, onde foi feito um *squash*, método de esmagamento do órgão para que os cromossomos se espalhassem, facilitando a análise.

Os melhores núcleos observados, aqueles que tiveram seus cromossomos bem corados e espalhados, foram fotografados em aumento de 100x e registrados com o uso do microscópio de contraste de fase com captador de imagem acoplado, situado no FLUORBEG - UFSC (laboratório de microscopia de fluorescência do departamento de biologia celular, embriologia e genética). Os arranjos observados foram registrados e os pontos de quebra observados foram definidos de acordo com o fotomapa dos cromossomos politênicos desta espécie (figura 5) proposto por Rohde & Valente (1996), modificado por Cordeiro & De Toni (dados ainda não publicados).

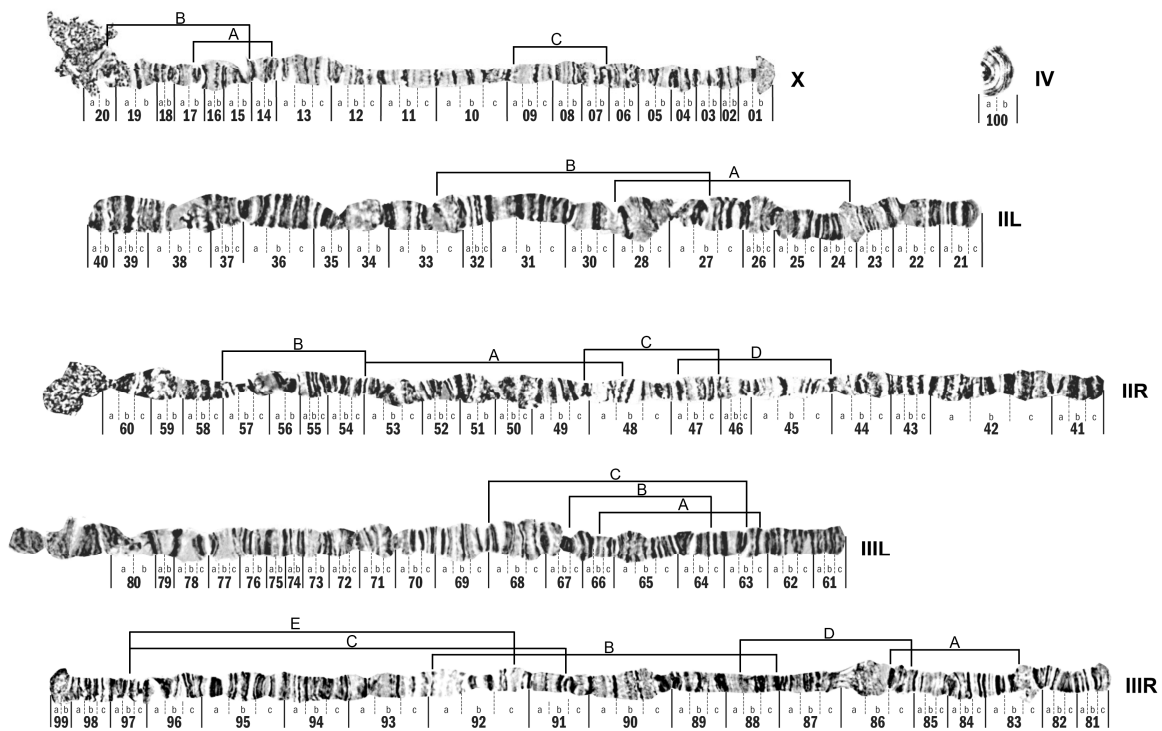


Figura 5. Fotomapa dos cromossomos politênicos da espécie *D. polymorpha* proposto por Rohde & Valente (1996), modificado por Cordeiro e De Toni, (dados ainda não publicados). Os números abaixo dos cromossomos representam as sessões e as letras sobre colchetes denominam e delimitam o tamanho das inversões.

Foram utilizadas pelo menos cinco larvas de cada isolinhagem foram observados cinco núcleos de cada indivíduo foram observado para detectar a presença de polimorfismos de inversões cromossômicas.

4. RESULTADOS

As coletas foram realizadas entre janeiro de 2011 à dezembro de 2011 na Caieira Barra Sul, região sul da ilha de Florianópolis, SC.

Cromossomos politênicos de seis isolinhagens da espécie *Drosophila polymorpha* foram observados e tiveram pelo menos cinco núcleos politenizados analisados para certificação dos resultados. Destas isolinhagens, três apresentaram inversões paracêntricas (tabela 2), sendo uma delas pela primeira vez descrita.

Tabela 2. Isolinhagens analisadas de *Drosophila polymorpha*, indicando as inversões cromossômicas encontradas e período de coleta de cada isolinhagem. XA e IIRE representam inversões encontradas no estudo sendo IIRE pela primeira vez descrita. Na nomenclatura das inversões o número Romano representa o braço do cromossomo seguido pela letra R ou L indicando braço esquerdo ou direito (Right/Left) nos cromossomos metacêntricos. A última letra denomina cada inversão.

Isolinhagens	Inversão	Data da Coleta
<i>D. polymorpha 1</i>	IIRE	Fevereiro 2011
<i>D. polymorpha 2</i>	XA	Março 2011
<i>D. polymorpha 3</i>	-	Março 2011
<i>D. polymorpha 4</i>	-	Março 2011
<i>D. polymorpha 5</i>	-	Maio 2011
<i>D. polymorpha 6</i>	IIRE	Outubro 2011

Conforme fotomapa de referência da espécie, as linhagens *D. polymorpha 1* e *D. polymorpha 6* apresentaram nova inversão paracêntrica presente no braço do cromossomo IIR, nomeada como IIRE (Wildemann & De Toni, 2011), com pontos de quebra definidos na sessão 50a proximal e 48c distal (figura 6, 7 e 8).

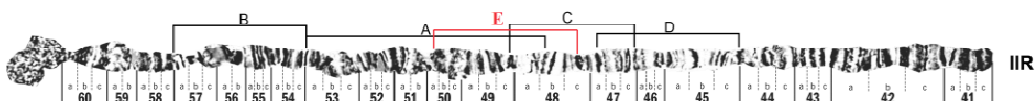


Figura 6. Fotomapa do cromossomo IIR de *D. polymorpha*. Indicação em vermelho representa nova inversão, IIRE encontrada na linhagem *D. polymorpha 1* e *D. polymorpha 6*.

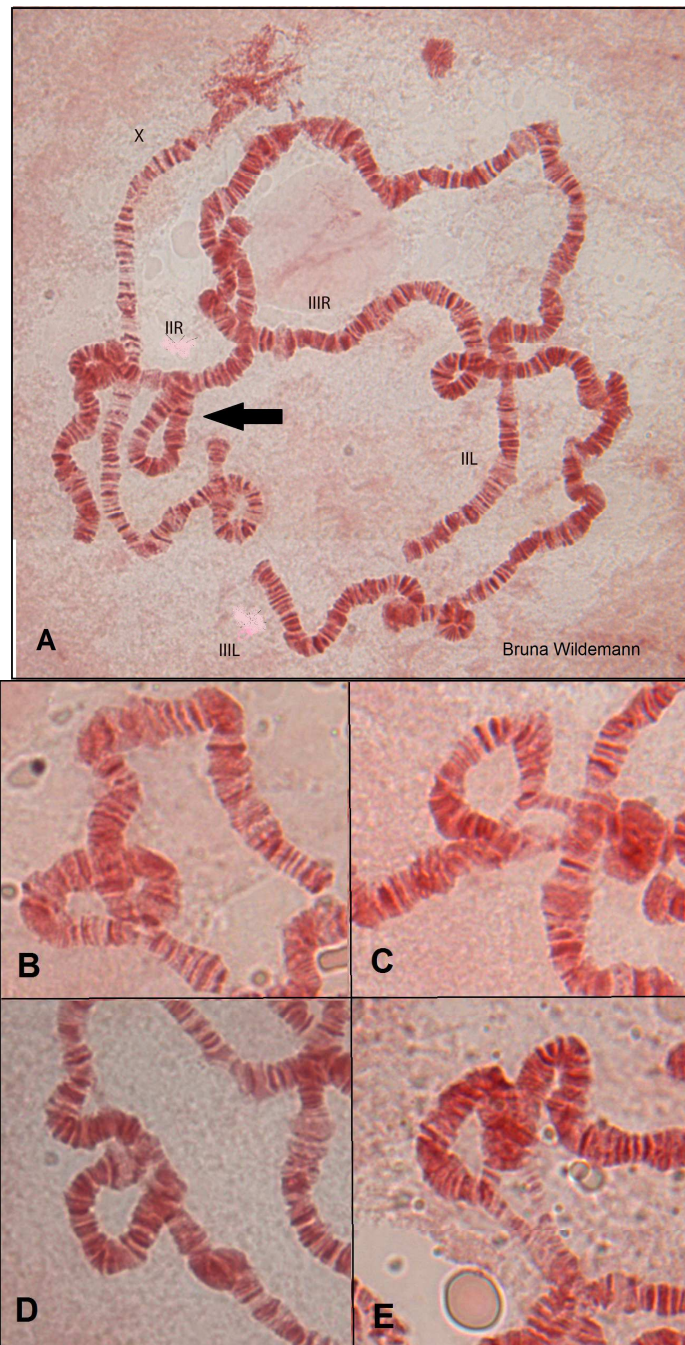


Figura 7. Imagem A mostra um núcleo politenizado de *D. polymorpha I* com todos os cromossomos da espécie (seta destacando a inversão IIRE). Imagens B, C, D e E destacam a inversão IIRE provenientes de quatro outros núcleos da mesma isolinhagem.

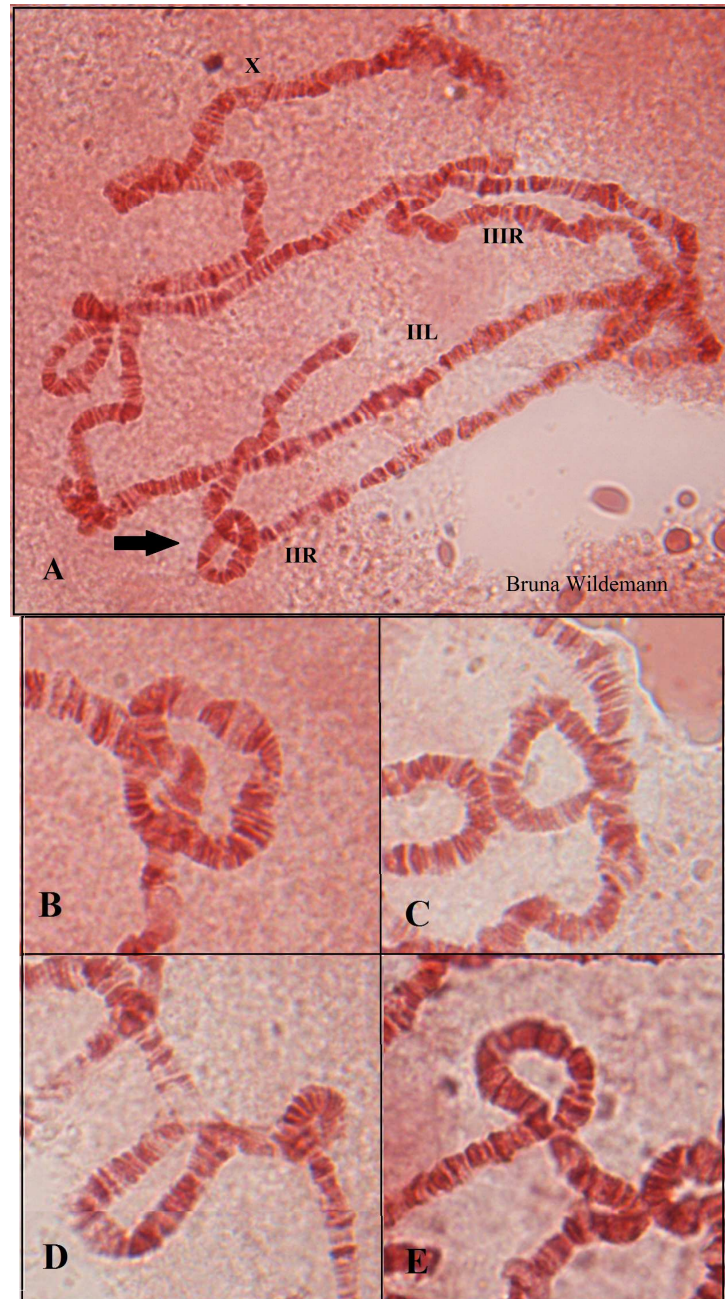


Figura 8. Imagem A mostra um núcleo politenizado de *D. polymorpha 6* com todos os cromossomos da espécie (seta destacando a inversão IIRE). Imagens B, C, D e E destacam a inversão IIRE provenientes de quatro outros núcleos da mesma isolinhagem.

A inversão detectada na isolinhagem nomeada como *D. polymorpha 2* corresponde a inversão XA (figura 9 e 10), já que apresenta os mesmos pontos de quebra descritos por De Toni *et al.* (2001).

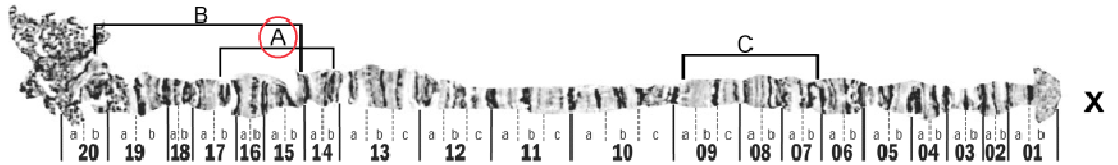


Figura 9. Fotomapa do cromossomo X de *D. polymorpha*. A indicação em vermelho representa os pontos de quebra (17 b próximo, 14 b distal) da inversão XA encontrada na isolinhagem *D. polymorpha 2*.

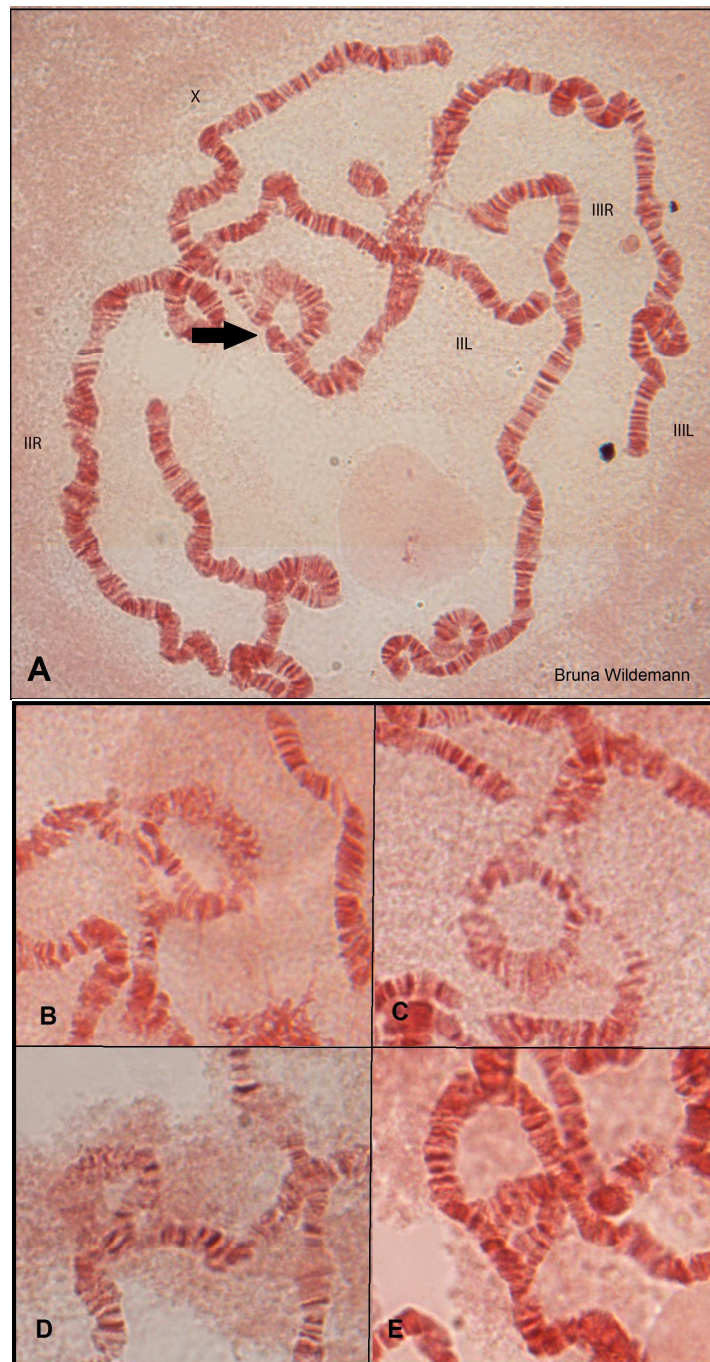


Figura 10. Imagem A mostra núcleo politenizado da isolinhagem *D. polymorpha 2* com todos os cromossomos da espécie (seta destacando a inversão XA). Imagens B, C, D e E destacam a inversão XA provenientes de quatro outros núcleos da mesma isolinhagem.

5. DISCUSSÃO

De acordo com os resultados observados neste trabalho podemos avaliar que a espécie *Drosophila polymorpha* do grupo *D. cardini*, no ambiente de mata Atlântica onde foi coletada, possivelmente apresenta um considerável grau de polimorfismo cromossômico, visto que em uma baixa amostragem foi possível detectar uma nova inversão na população.

Uma das inversões encontrada em *D. polymorpha* provenientes da Caiera Barra do Sul corresponde a uma nova inversão presente no cromossomo IIR (anexo 8.1), nomeada agora como IIRE (figura 6) com pontos de quebra definidos na sessão 50a distal e 48c proximal. De Toni *et. al.*, (2001) em estudo de polimorfismo da espécie em Santa Catarina, observou sete novos arranjos cromossômicos, sendo seis deles pela primeira vez descritos. Também constatou que o braço esquerdo do cromossomo II foi o mais polimórfico, com um total de cinco inversões diferentes, seguido do cromossomo X, com duas novas inversões. Uma delas, XA (figura 9), também encontrada na região da Caiera da Barra do Sul. De Toni (2002) em mais um estudo cromossômico envolvendo o grupo *cardini* nas assembléias catarinenses, identificou nove inversões pela primeira vez descrita em *D. polymorpha* desta forma afirmando o alto grau de polimorfismo desta espécie.

Em geral estudos revelam que a variabilidade cromossômica observada nas espécies esteja relacionada com a idade onde espécies consideradas mais antigas têm maior polimorfismo do que as mais jovens. O sucesso na utilização do ambiente é outro fator que contribui no aumento do polimorfismo. O polimorfismo cromossômico está geralmente associado ao fato da população e da espécie ser bem sucedida (Heed, 1962) assim como em observações anteriores feitas por Da Cunha & Dobzhansky (1954), em condições ambientais favoráveis, polimorfismos cromossômicos de algumas espécies de *Drosophila* tendem a aumentar.

Populações urbanas de *D. polymorpha* e *D. cardinoides* foram analisadas por Rohde & Valente (1996) em comunidades do Rio Grande do Sul. No entanto, neste estudo *D. cardinoides* apresentou maior grau de polimorfismo. Isto pode estar associado ao fato de *D. cardinoides*, ser considerada a espécie ancestral, que originou as outras espécies do grupo (Heed & Russel, 1971) sendo assim mais antiga que *D. polymorpha* e por isso revelando maior polimorfismo.

Trabalhos clássicos de Da Cunha e Dobzhansky (1954) e Da Cunha *et al.* (1959), que sugerem que o grau de polimorfismo de certas espécies está relacionado ao número de nichos explorados. Se certas espécies têm seus nichos ecológicos bem definidos, adaptação não pode

proporcionar um aumento de recombinações, ou seja, o baixo nível de polimorfismo cromossômico é um sinal da alta estruturação dos homozigotos, pois indivíduos com nível menor de inversões têm maiores chances de desenvolverem combinações genéticas via recombinação (Fontdevila *et al.*, 1982).

A disponibilidade de nicho, em contrapartida, pode ser influenciada pela competição presente por outras espécies; quando a competição é fraca, maior é a disponibilidade de nicho assim maior a quantidade de polimorfismo presente (Wasserman & Wasserman, 1992).

É ainda importante lembrar que uma das propriedades das inversões é que, em heterozigose, elas são capazes de suprimir o *crossing-over* (Sturtevant, 1917; 1926; 1931). Dobzhansky (1947) postulou que as inversões que transportariam e manteriam esses complexos gênicos ligados coadaptados seriam favorecidas pela seleção natural e impediriam que conjuntos de genes coadaptados entre si fossem desfeitos pela recombinação (Dobzhansky, 1970).

No entanto, Wasserman & Wasserman (1992) afirmam que os fatores relacionados aos polimorfismos são inúmeros. Os elementos que tendem a promovê-los são provavelmente antagonistas ao que levam à fixação destas mutações, portanto não há apenas um mecanismo evolutivo capaz de explicar toda a variabilidade cromossômica encontrada na natureza. Desde o trabalho de Wright & Dobzhansky (1946), também vários estudos mostraram que as inversões estão frequentemente sob seleção. No entanto, as múltiplas formas pela quais os polimorfismos de inversões cromossômicas são mantidos continuam sendo uma importante questão a ser investigada.

De Toni *et al.* (2001) analisaram os polimorfismos cromossômicos de *D. polymorpha* em comunidades catarinenses insulares e continentais, provenientes de ambiente de Mata Atlântica. Concluiu-se que as regiões insulares apresentaram-se mais polimórficas que as continentais, resultado este que contraria trabalhos de muitos autores que analisaram populações de outras espécies de *Drosophila* em condições similares (Dobzhansky, 1957; Townsed, 1958; Ayala *et al.*, 1971). De acordo com Singh (2008), populações marginais mostram um menor grau de polimorfismo cromossômico do que populações distribuídas em regiões centrais. Embora importante considerar que a amostra de De Toni *et al.* (2001) adquirida na região continental foi menor do que a obtida no reduto insular, os autores atribuíram o grande polimorfismo encontrado à heterogeneidade do ambiente em questão, o que particularmente é verdadeiro onde a vegetação original de Mata Atlântica ainda persiste. Embora este trabalho não tenha realizado um estudo comparativo entre regiões insular e

continental, o ambiente de Mata Atlântica onde as coletas foram realizadas contribuiu com o grau de polimorfismo encontrado na espécie *D. polymorpha*.

O bioma Mata Atlântica, devido a sua localização costeira e conseqüente pressão antrópica, expõe seus organismos a grande risco de extinção. No entanto, De Toni (1998) destaca a particularidade desta mata em se autorrecompôr devido ao seu solo geologicamente muito antigo e fértil. Segundo Gottschalk (2004), apesar da maior parte da mata original ter desaparecido, sua grande capacidade de regeneração permite que diversos estágios intermediários sejam reconhecidos e descritos. As condições físicas variam muito e apesar de estar submetida a um clima geral, há diversos microclimas presentes. Esta heterogeneidade permite uma grande variedade de nichos que contribui com a coexistência de diversas espécies de animais, principalmente insetos. Este aspecto reforça o porquê da considerável quantidade de polimorfismo de inversão cromossômica neste ambiente.

Em pesquisas envolvendo inversões cromossômicas do grupo *D. cardini*, a espécie *D. polymorpha* tem se mostrado a espécie mais polimórfica (Da Cunha *et al.*, 1953; Rohde & Valente, 1996; De Toni *et al.*, 2001) e também a mais versátil, sendo encontrada em abundância nos diferentes tipos de ambientes (De Toni & Hofmann, 1994; De Toni *et al.*, 2007). Da Cunha *et al.* (1953), em estudo avaliando a presença de inversões em espécies do grupo *cardini* analisou as espécies *D. polymorpha* e *D. cardinoides*. Neste trabalho, *D. polymorpha* mostrou maior grau de polimorfismo em populações do sul do Brasil do que *D. cardinoides*. Assim este autor propôs que o alto grau de polimorfismo em populações naturais de *D. polymorpha* deve-se a sua alta freqüência na região Sul do país. De Toni *et al.*, (2001) também afirma que amostras mais polimórficas são provenientes de lugares onde as espécies são mais prevalentes e que apesar da baixa amostragem coletada neste estudo, comparado-se com estudos anterior sobre o assunto, De Toni & Hofmann (1994), em análise taxonômica de comunidade de *Drosophila* em Florianópolis, constataram *D. polymorpha* como sendo uma das espécies mais freqüentes na região da ilha de Florianópolis. Assim, a pequena amostragem neste trabalho pode ser decorrente das condições climáticas bem como o período do ano em que as coletas foram realizadas. Embora houvesse a intenção de realizar as coletas em dias quentes e úmidos os quais esta espécie tem preferência (Sene *et al.*, 1980), ocorreram variações. Além disso, apenas as fêmeas da espécie foram usadas onde algumas ainda que capturadas, mas não desenvolveram larvas para análise citogenética, não sendo contabilizadas.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

De acordo com os objetivos deste estudo, analisou-se a presença de inversões cromossômicas em *D. polymorpha* concluindo que esta espécie apresenta considerável grau de polimorfismo.

O estudo de polimorfismo de inversões cromossômicas pode trazer informações importantes que corroboram na determinação das relações filogenéticas dentro do gênero. Ainda fornece um registro da história evolutiva através da comparação do padrão de banda entre as espécies e o número de arranjos cromossômicos fixados durante a sua divergência a partir do seu último ancestral comum (Wasserman, 1963).

Todos estes arranjos e registros feitos a respeito dos cromossomos da espécie *D. polymorpha* permitem que estes dados sejam usados como marcadores para estudos genéticos, populacionais e evolutivos pelo fato de se manterem nas populações ocorrentes. Cordeiro *et al.*, (2009) fez uso desta ferramenta para realizar estudo sobre a evolução do grupo *cardini*, analisando padrão de bandas e inversões cromossômicas presente nas espécies identificando suas similaridades.

Destaca-se também a importância do polimorfismo de inversões cromossômicas como um potencial bioindicador para se detectar respostas genéticas às mudanças ambientais (Hoffmann & Danborn, 2007; Hoffmann & Willi, 2008; Balanyà *et al.*, 2009). Alguns estudos em análise temporal de longo prazo do polimorfismo de inversões de diferentes espécies de *Drosophila*, já relacionaram o aquecimento global como causa de rápidas alterações genéticas (Hoffmann & Rieseberg, 2008). Embora este trabalho não tenha realizado um estudo de longo prazo, foi possível fazer relação com a natureza do ambiente e presença de inversões cromossômicas.

Os dados registrados neste trabalho também contribuíram complementando o mapa cromossômico da espécie *D. polymorpha* apontando mais um ponto de quebra mutacional que possibilita a entrada de elementos transponíveis (TEs), segmentos de DNA capazes de se movimentar ao longo do genoma (Loreto *et al.*, 1998).

Os resultados aqui expostos ainda fornecem informações relevantes para a continuidade do estudo evolutivo do grupo *cardini* baseados nos cromossomos politênicos.

7. REFERÊNCIAS

- Ananina, G.; Peixoto, A. A.; Bitner-Mathé, B. C.; Souza, W. N.; Da Silva, L. B.; Valente, V. L. S.; Klaczko, L. B. 2004. Chromosomal Inversion Polymorphism in *Drosophila mediopunctata*: Seasonal, Altitudinal and Latitudinal Variation. **Genetics and Molecular Biology**, 27 (1): 61-69.
- Ashburner M. 1967 – Patterns of puffing activity in the salivary gland chromosomes of *Drosophila*. I. Autosomal puffing patterns in a laboratory stock of *Drosophila melanogaster*. **Chromosoma**, 27: 47-63.
- Avondet, J. L.; Blair, R. B.; Berg, D. J.; Ebbert, M. A. 2003. *Drosophila* (Diptera: *Drosophilidae*) response to changes in ecological parameters across an urban gradient. **Environmental Entomology**, 32 (2): 347-358.
- Ayala, F. J.; Powell, J. R.; Dobzhansky, T. 1971. Polymorphism in continental Island population of *Drosophila willistoni*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 68(10): 2480-2483.
- Bächli, G. 2011. Taxodros, the database on taxonomy of *Drosophilidae*. Disponível em: <<http://www.taxodros.uzh.ch/>>. Acesso em: Jun. 2011.
- Balanyà J.; Huey R. B.; Gilchrist G. W.; Serra L. 2009. The chromosomal polymorphism of *Drosophila subobscura*: a microevolutionary weapon to monitor global change. **Heredity** 103: 364-367.
- Balbani E. G. 1881 Sur la structure du noyau des cellules salivaires chez les lames de *Chironomus*. **Zoologische Anzeiger** 4: 637-64
- Brisson, J. A.; Wilder, J.; Hollocher, H. 2006. Phylogenetic analysis of the *cardini* group of *Drosophila* with respect to changes in pigmentation. **Evolution**, 60: 1228-1241.
- Cordeiro, J. **Elemento de transposição *micropia* e evolução cromossômica do subgrupo *cardini*, grupo *cardini* do gênero *Drosophila* (Diptera: *Drosophilidae*)**. 2009. 198p. Tese

(Doutorado em Genética e Biologia Molecular) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 2009.

Cordeiro, J.; De Toni, D. C.; Silva, G. S.; Valente Gaiesky, V. L. S. 2009. Evolução cromossômica no grupo *cardini* de *Drosophila* (Diptera: *Drosophilidae*): Fotomapa dos cromossomos politênicos de referência para *Drosophila cardini* e *Drosophila parthenogenetica*. **Neotropical Entomology**.

Da Cunha A. B., 1949 – Genetic analysis of the polymorphism of colour pattern in *Drosophila polymorpha*. **Evolution** 3: 239-251.

Da Cunha A. B. 1950. Adaptative Chromosomal Polymorphism in *Drosophila willistoni*. **Evolution** 4: 212-235.

Da Cunha A. B.; Brncic D.; Salzano F. M. 1953. A comparative study of chromosomal polymorphism in certain South American species of *Drosophila*. **Heredity**, 7: 193-202.

Da Cunha, A. B.; Dobzhansky T. 1954. A further Study of chromosomal Polymorphism in *Drosophila willistoni* in its Relation to the Environment. **Evolution**, 2 (8) 119-134.

Da Cunha A. B.; Dobzhansky T.; Pavlovsky O.; Spassky B., 1959. Genetics of natural populations. Supplementary data on the chromosomal polymorphism of *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. **Evolution** 13:389-404.

De Toni, D. C.; Hofmann, P.R.P. 1994. Preliminary Taxonomic Survey of the genus *Drosophila* (Diptera: *Drosophilidae*) at Morro Lagoa da Conceição, Santa Catarina Island, Brazil. **Revista brasileira de Biologia**, 55(3): 347-35.

De Toni, D. C. 1998. **Estudo de comunidades de *Drosophila* em regiões de Mata Atlântica do continente e de ilhas de Santa Catarina e variabilidade cromossômica de *Drosophila polymorpha***. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 166p.

De Toni, D. C. 2002. **Estudo da variabilidade genética e ecológica de comunidades de *Drosophila* em regiões de Mata Atlântica de ilhas do continente de Santa Catarina**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 152p.

De Toni D. C., Gottschalk M. S.; Cordeiro J.; Hofmann P. R. P.; Valente V. L. S. 2007. Study of de *Drosophilidae* (Diptera) communities on Atlantic Forest islands of Santa Catarina State, Brazil. **Neotropical entomology**. 36(3): 356-375.

De Toni, D.C.; Herédia, F.O.; Valente, V.L.S.; 2001. Chromosomal variability of *Drosophila polymorpha* populations from Atlantic Forest remnants of continental and insular environments in the State of Santa Catarina, Brazil. **Caryologia**, 54 (4): 329–337.

De Toni, D. C. 2002. **Estudo da variabilidade genética e ecológica de comunidades de *Drosophila* em regiões de Mata Atlântica de ilhas do continente de Santa Catarina**, Tese de doutorado Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brazil. 152pp.

Dobzhansky, T. 1947. Adaptative changes induced by natural selection in wild populations of *Drosophila*. **Evolution**, 1: 1-16.

Dobzhansky T. 1970. Genetics of the evolutionary process. **Columbia University Press, New York**, 505 pp.

Dobzhansky, T. 1957. Genetic of Natural populations. XXVI. Chromosomal variability in Insuland and continental population *Drosophila willistoni* from Central América and the West Indies. **Evolution**, 11: 280-293.

Fontdevila, A.; Ruiz, A.; Ocãna, J.; Alonso, G. 1982. Evolutionary history of *Drosophila buzzatii*. II. How much has chromosomal polymorphism changed in colonization? **Evolution**, 36: 843-851.

Garcia, A. C. L. **Evolução Cromossômica da Superespécie *Drosophila paulistorum* e ecologia de populações marginais**. 2006. 185p. Tese (Pos-graduação em Genética e Biologia Molecular), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil 2006.

Gottschalk, M. S. **Comparação entre duas metodologias de coleta e estudo da influência da urbanização e da sazonalidade sobre as comunidades de drosofilídeos na Ilha de Santa Catarina, Brasil.** 2002. 73p. Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 2002.

Gottschalk, M. S. **Influência da urbanização sobre assembléias de Drosophilidae na cidade de Florianópolis, SC, Brasil.** 2004. 111p. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brasil, 2004.

Heed, W. B. 1962. Genetic characteristics of isle populations. **University of Texas Publications**, 6205: 173-206.

Heed W.B.; Blake P. 1963. A new colour allele at the E locus of *Drosophila polymorpha* from Northern South America. **Genetics**, 48: 217-234.

Heed, W. B.; Krishnamurthy N. B. 1959. Genetic studies on the *cardini* group of *Drosophila* in the West Indies. **University of Texas Publications**, 5914: 155-179.

Heed, W. B.; Russell J. S. 1971. Phylogeny and population structure in island and continental species of the *cardini* group of *Drosophila* studied by inversion analysis. **University of Texas Publications** 7103: 91-130.

Hollocher, H.; Hatcher, J. L.; Dyreson, E. G. 2000. Evolution of abdominal pigmentation differences across species in the *Drosophila dunni* subgroup. **Evolution** 54 (6): 2046 - 2056.

Hoffmann A. A.; Danborn P. J. (2007). Towards genetic markers in animal populations as biomonitors for human-induced environmental change. **Ecology Letters.**, 10: 63-76.

Hoffmann A. A.; Rieseberg L. H. 2008. Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation? **Annual Review of Ecology and Systematics** 39: 21-42.

Hoffmann A. A.; Willi Y. 2008. Detecting genetic responses to environmental changes. **Nat. Rev. Genet.**, 9: 421-432.

Krimbas, C. B.; Powell, J. R. 1992. ***Drosophila* inversion polymorphism**. C.R.C. Boca Raton, Florida, p. 2-52.

Machado M. X.; De Toni D.C.; Hofmann P. R. P. 2001. Abdominal pigmentation polymorphism of *Drosophila polymorpha* (Dobzhansky and Pavan, 1943) collected on Ilha de Santa Catarina and neighboring islands. **Biotemas** 14 (1): 87-107.

Marques, E. K.; Napp, M.; Winge, H.; Cordeiro, A. R. 1966. A Corn Meal Soybean Flour, Wheat Germ for *Drosophila*. ***Drosophila Information Service***, 41: 147.

Martinez M. N.; Cordeiro A. R. 1970. Modifiers of colour pattern genes in *Drosophila polymorpha*. **Genetics**, 64: 573-587.

Painter, T. S. 1933. A New method for the study of chromosome rearrangements and the plotting of chromosome maps. **Science** 78:585-586.

Rohde, C.; Valente, V. L. S. 1996. Cytological maps and chromosomal polymorphism of *Drosophila polymorpha* e *Drosophila cardinoides*. **Brazilian Journal of Genetics**, 19: 27-32.

Sene, F. M.; Val F. C.; Pereira, M. A. Q. R. 1980. Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* species within morphoclimatic domains of Brazil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, 33(22): 315-326.

Singh B. N. 2008. Chromosome inversions and linkage disequilibrium in *Drosophila*. **Curr. Sci.** 94(4):459-464.

Stutervant A. H. (1917). Genetic factors affecting the strength of linkage in *Drosophila*. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** 7: 235.

Stutervant A. H. (1926). A crossover reducer in *Drosophila melanogaster* due to inversion of a section of the third chromosome. **Biol Zentralbl** 46: 697.

Sturtevant A. H. (1931). Known and probable inverted section of the autosomes of *Drosophila melanogaster* to crossing over and disjunction. **Carnegie Institution Washington Publication** 42: 1.

Sturtevant, A. H.; Dobzhansky, T. 1936a. Inversions in the third chromosome of wild races of *Drosophila pseudoobscura* and their use in the study of the history of the species. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** 22:448-450.

Sturtevant, A. H.; Dobzhansky, T. 1936b. Geographical distribution and cytology of sex-ratio in *Drosophila pseudoobscura* and related species. **Genetics** 26:517-541.

Sturtevant, A. H. 1942. The classification of the genus *Drosophila*, with descriptions of nine new species. **University of Texas Publishing** 4213: 5-51.

Tidon, R.; Sene, F. M. 1988. A trap that retains and keeps *Drosophila* alive. **Drosophila Information Service** 67: 89.

Townsend, J. I. 1958. Chromosomal polymorphism in Caribbean island populations of *Drosophila willistoni*. **Proceeding of the National Academy of Sciences USA**, 44: 38-42.

Val, F. C.; Vilela, C. R.; Marques, M. D. 1981. *Drosophilidae* of the Neotropical region. In: Ashburner, M.; Carson, H. L. and Thompson Jr., J. N. (eds.). **The Genetics and Biology of Drosophila. 3a**. London: Academic Press, 1981. p. 123– 168.

Vilela, C. R. 1984. Notes on the holotypes of four Neotropical species of the genus *Drosophila* (Diptera: *Drosophilidae*) described by A.H. Sturtevant. **Revista Brasileira de Entomologia**, 28 (3): 245-256.

Wasserman, M. 1963. Cytology and phylogeny of *Drosophila*. **American Naturalist** 97: 333-352

Wasserman, M.; Wasserman, F. 1992. Inversion Polymorphism in Island Species of *Drosophila*, M, Hecht, B. Wallace e R. Macntyre, (eds). **Evolutinary Biology**, vol. 26. Plenum Press, New York. In Press.

Wildemann, B.; De Toni D. C. 2011. Analysis of inversion polymorphism and new inversion recorded in *Drosophila polymorpha* in the South of Florianopolis, Santa Catarina, Brazil. ***Drosophila Information Service***, 94:95.

Wright S.; Dobzhansky T. 1946. Genetics of natural populations. XIII. Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in some populations of *Drosophila pseudoobscura*. ***Genetics*** 31: 125.

Yeates D. K.; Wiegmann B. M. 2005. Phylogeny and Evolution of Diptera: Recent insights and new perspectives. *In*: Yeates DK, Wiegmann BM (eds) The evolutionary biology of flies. **Columbia University Press**, New York, pp 14-44

Yotoko, K. S. C.; Medeiros, H. F.; Solferini, V. N.; Klaczko, L. B. 2003. A molecular study of the systematics of the *Drosophila tripunctata* group and the *tripunctata* radiation. ***Molecular Phylogenetics and Evolution***, 28: 614-619.

8. ANEXO

8.1 Artigo publicado na revista *Drosophila Information Service*, dezembro 2011.



Analysis of inversion polymorphism and new inversion recorded in *Drosophila polymorpha* in the South of Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

Wildemann, B., and D.C. De Toni Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil; brunawild@yahoo.com.br; detoni@ccb.ufsc.br.

Drosophila polymorpha, described by Dobzhansky and Pavan (1943), belongs to the *cardini* group within the genus *Drosophila*. Species of this group inhabit different areas of Neotropical America. In Brazil, *D. polymorpha* has reports of a wider distribution in the Southeast (Da Cunha *et al.*, 1953), while in the south of the island of Santa Catarina, taxonomic studies of *Drosophila* communities consider this to be one of the species most often found (De Toni and Hoffmann, 1994).

Studies involving chromosomal inversions in the group *cardini* point to *D. polymorpha* as showing the highest number of polymorphisms of the group, both in relation to pigmentation and chromosomal inversions (Da Cunha *et al.*, 1953; Rohde and Valente, 1996a; De Toni *et al.* 2001a). These inversion polymorphisms are one of the most studied systems in population genetics. Paracentric inversions are a common form of this polymorphism, restricted to chromosomal arms. This does not include centromeric regions, which are commonly observed in *Drosophila* (Ananina *et al.*, 2004). To analyze these inversions, the banding pattern present in polytene chromosomes, illustrated in a reference photomaps, allows one to identify the breakpoints (De Toni, 2001).



Figure 1. Indication in red represents the break points (14 b distal, 17 b proximal) XA, present in *D. polymorpha* isoline 1.

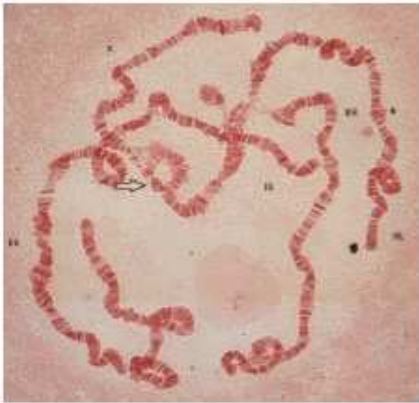


Figure 2. *Polytene chromosomes* hybridized. The arrow points to the paracentric inversion XA in heterozygous state found in the sample of *D. polymorpha* 1.

Heed and Krishnamurthy (1959) developed genetic studies on the *cardini* group of island populations of the West Indies. Heed and Russell (1971) also contributed to studies of chromosomal inversion polymorphisms of the group, observing a high proportion of fixed inversions in the chromosomes of *D. polymorpha*. Further study of chromosomal polymorphism in this species was made by

De Toni *et al.* (2001) in mainland and island communities in southern Brazil, in which seven different inversions were found in the communities of Santa Catarina, (six of them found and described for the first time).

Continuing with this study, we collected samples from populations of *Drosophila* in the south of the island, in an island region called Caiera da Barra Sul (S 27° 48'S; The 48° 33'), of Florianópolis, Santa Catarina, an area with formation of secondary Atlantic Forest in advanced stages of regeneration.

Samples of populations of *Drosophila* were obtained as adults flying around rooting fruit and banana baits left for at least three days in the area of collection.

The taxonomic identification of species, maintenance of collected samples, production of isofemale lines, cytological preparation, and cytogenetic analysis were all performed at the *Drosophila* Laboratory at the Federal University of Santa Catarina, Brazil.

Even though few strains have been analyzed so far, there has been a fairly high number of inversions. Out of the six strains analyzed, two inversions occurred, one of which was undescribed before now.

According to the photomap of the polytene chromosomes of this species, proposed by Rohde and Valente (1996) modified by Cordeiro and De Toni (unpublished data), the inversion detected in isoline named as *D. polymorpha 1*, corresponds to an inversion X (Figure 1), since it has the same breakpoints described by De Toni *et al.* (2001).

The strain called *D. polymorpha 2* shows a new paracentric inversion in the arm of chromosome IIR, now named IIRE, with break points set in the sessions 50a distal and 48c proximal (Figure 3).

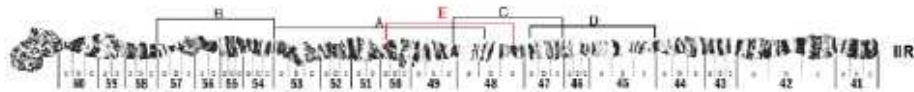


Figure 3. Indication in red represents a new inversion, IIRE found in *D. polymorpha* isoline 2.

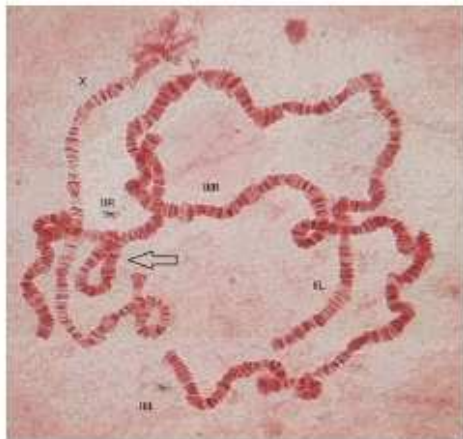


Figure 4. Polytene chromosomes hybridized. The arrow points to the new paracentric inversion IIRE in heterozygous state found in the sample of *D. polymorpha* isoline 2.

The study of chromosomal inversions through the polytene chromosomes in *Drosophila* allowed us to assess evolutionary aspects of the genus, for example, the numerous chromosomal rearrangements as inversions of segments, which were fixed in each species (Wasserman, 1986).

As can be seen in the references (Dobzhansky, 1943; Tiniakov and Dubinin, 1945; Dobzhansky and Levene, 1948, 1951), the nature of chromosomal polymorphism in flies, especially in *Drosophila*, is clearly adaptive and balanced.

Thus, according to Da Cunha *et al.* (1950, 1959) and Da Cunha and Dobzhansky (1954), the amount of polymorphism present in a species is related to the variety of ecological niches they occupy by their species.

The hypothesis presented in this paper largely meets the data available in literature, which possibly explains the polymorphisms of this species, even with only such a low sampling in the area.

The results presented in this paper will contribute to future analysis in greater detail of the evolution of the *D. cardini* group.

References: Ananina, G., A.A. Peixoto, B.C. Bitner-Mathé, W.N. Souza, L.B. Da Silva, V.L.S. Valente, and L.B. Klaczko 2004, *Genetics and Molecular Biology* 27(1): 61-69; Da Cunha, A.B., D. Brncic, and F.M. Salzano 1953, *Heredity* 7(2): 193-202; Da Cunha, A.B., H. Burla, and T. Dobzhansky 1950, *Evolution* 4: 212-234; Da Cunha, A.B., and T. Dobzhansky 1954, *Evolution* 8: 119-134; Da Cunha, A.B., T. Dobzhansky, O. Pavlovsky, and B. Spassky 1959, *Evolution* 13: 389-404; De Toni, D.C., F. Herédia, and V.L.S. Valente 2001a, *Caryologia* 54 (4): 329-337; De Toni, D.C., and P.R.P. Hofmann 1994, *Revta. Bras. Biol.* 55(3): 347-35; Dobzhansky, T., 1943, *Genetics* 28: 162-186; Dobzhansky, T., and H. Levene 1948, *Genetics* 33: 537-547; Dobzhansky, T., and C.

Pavan 1943, *Bolm. Fac. Filos Cienc. S. Paulo* 36(4): 7-72; Dubinin, N.P., and G.G. Tiniakov 1945, *American Naturalist* 79: 570-572; Heed, W.B., and J.S. Russell 1971, *Univ. Texas Publ.* 7103: 91-130; Heed, W.B., and N.B. Krishnamurthy 1959, *Univ. Texas Publ.* 5914: 155-178; Rodhe, C., and V.L.S. Valente 1996, *Brazilian Journal of Genetics* 19: 27-32; Wasserman, M., 1986, Evolution of the *repleta* group. In: *The Genetics and Biology of Drosophila*. (Ashburner, M., H.L. Carson, and J.N. Thompson, jr., eds.), 548 p., Academic Press, New York.