

# Biologia de Anofelinos amazônicos. V. Polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi* Root (Diptera, Culicidae)<sup>(1)</sup>

Wanderli Pedro Tadei <sup>(2)</sup>

Joselita Maria Mendes dos Santos <sup>(3)</sup>

Mohammad Ghulan Rabbani <sup>(4)</sup>

## Resumo

Foi analisado o polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi*, cuja amostra foi obtida na Rodovia BR-174 (Manaus/Boa Vista). Foram descritas duas novas inversões independentes, estendendo-se para doze o número de rearranjos de *A. darlingi*. Três regiões de despareamento também foram descritas, sendo uma no cromossomo X e duas no cromossomo 2. Ocorreu uma alta incidência de inversões no estado heterozigoto e o número médio por indivíduo foi elevado ( $4,13 \pm 0,13$ ). As freqüências elevadas e significativas de heterozigotos para a maioria das inversões foram interpretadas como indicativas de uma adaptabilidade maior dos mesmos em relação à heterogeneidade ambiental. Os testes para associação de inversões evidenciaram a ocorrência de uma associação intracromossômica (braços 3R e 3L) e quatro intercromossômicas (cromossomos X - 3 e 2 - 3). Os dados de polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi* corroboram a hipótese de que populações centrais da área de distribuição geográfica de uma espécie são mais polimórficas que as populações marginais. As populações de *A. darlingi* da Amazônia são altamente polimórficas quando comparadas com as populações do sul nas quais foram fixados determinados arranjos com reduzido polimorfismo.

## INTRODUÇÃO

*Anopheles darlingi*, do subgênero *Nyssorhynchus*, é o principal vetor da malária humana no Brasil, sendo, praticamente, o transmissor em todo o interior do país (Rachou, 1958; Ferreira, 1964). Esta espécie apresenta uma ampla distribuição geográfica, ocorrendo desde o México até o norte da Argentina (Forattini, 1962; Kreutzer *et al.*, 1972; Pessoa & Martins, 1978). No Brasil, foi constatada em todos os

estados brasileiros, com exceção de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Ferreira, 1964).

Os primeiros registros relativos ao polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi* foram realizados por Guedes *et al.* (1957), Schreiber & Guedes (1960, 1961). Esses autores assinalaram a ocorrência de duas inversões em um dos autossomos no estado heterozigoto, de material procedente da região de Bocaiuva (MG). Posteriormente, Kreutzer *et al.* (1972) realizaram um estudo mais amplo e descreveram nove inversões independentes e um arranjo complexo. Analisaram duas populações brasileiras, uma da Amazônia e outra do sul do país, e verificaram que a população do norte é altamente polimórfica quando comparada com a população do sul. Esta última, segundo os autores, aparentemente fixou determinados arranjos com reduzido polimorfismo.

Com o objetivo de contribuir para o conhecimento do polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi*, neste trabalho são apresentados dados relativos a uma população da Amazônia, em uma área onde a malária é endêmica.

## MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de *Anopheles darlingi* analisada foi obtida no Km 137 da Rodovia BR-174 (Manaus/Boa Vista), nos meses de outubro e novembro de 1976. A região caracteriza-se por uma alta incidência de casos de malária, sendo as infecções causadas por *Plasmodium vivax* e *P. falciparum* (Ferraroni & Hayes, 1979). É uma

(1) — Trabalho subvencionado pela FAPESP e pelo CNPq.

(2) — Universidade Estadual Paulista (UNESP), São José do Rio Preto, SP.

(3) — Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus.

(4) — Em memória. Os dados de campo deste trabalho foram obtidos por este autor, cujo falecimento em 02 de fevereiro de 1977 resultou de infecção mista de *Plasmodium falciparum* e *P. vivax*.

área de colonização recente (1973-1974) e as linhagens de *P. falciparum* apresentaram resistências às cloroquinas (Ferraroni *et al.*, 1977). Amostra de *A. darlingi* da região revelaram um comportamento de resistência ao DDT (Hayes & Charlwood, 1977).

As lâminas foram preparadas a partir de larvas de 4º estágio e os cromossomos das glândulas salivares foram analisados. A técnica empregada foi a de French *et al.* (1962). As fêmeas coletadas na natureza foram transportadas para o laboratório e postas para desovar individualmente. Após a eclosão, as larvas oriundas de cada desova foram mantidas até o 4º estágio e então utilizadas no preparo das lâminas. De cada desova foram feitas, em média, quatro lâminas. O meio de montagem da Zeiss para contraste de fase-L15 (nD=1,515) foi utilizado nas preparações permanentes.

## RESULTADOS

As populações de *Anopheles darlingi* estudadas por Kreutzer *et al.* (1972) eram procedentes de Manaus-Itacoatiara, Estado do Amazonas e de Araraquara, Estado de São Paulo. As nove inversões independentes, descritas por esses autores, estão distribuídas em todos os cromossomos da seguinte forma: uma no cromossomo X e designada In(1)1; três no 2R e designadas In(2R)1, In(2R)2 e In(2R)3; uma no 2L, In(2L)1; e duas em cada um dos braços do cromossomo 3: In(3R)1, In(3R)2 e In(3L)1, In(3L)2.

O arranjo complexo está localizado no braço 2L e é designado arranjo "Manaus" (Kreutzer *et al.*, 1972). Em relação a este braço cromossômico, além do arranjo "Manaus" ocorre também um outro arranjo descrito pelos mesmos autores, denominado "Araraquara", que apresenta a inversão (2L)1 no estado homocigoto, cujos limites são 22A-21A. O arranjo "Manaus" contém, além da inversão (2L)1, uma nova inversão, designada In(2L)2, a qual é superposta em relação à primeira, abrangendo as regiões 22B-22A em In(2L)1 e as regiões 21B-20A fora dos limites dessa inversão.

No presente trabalho, a análise da amostra da população do Km 137 da BR-174 revelou

duas novas inversões e três regiões de despareamento (Fig. 1). Uma inversão está localizada no cromossomo 2R, na região proximal e a outra no cromossomo 3R, entre as inversões (3R)1 e (3R)2. Uma das regiões de despareamento está localizada na extremidade proximal do cromossomo X; a segunda na extremidade distal do 2R e a terceira no início do último terço na extremidade proximal do cromossomo 2L. Na determinação dos limites das duas inversões e das regiões de despareamento foi utilizado o mapa cromossômico proposto por Kreutzer *et al.* (1972), o qual é considerado como arranjo padrão tendo sido preparado pelos autores a partir de uma população de Manaus.

A inversão localizada no braço 2R, logo após a In(2R)3, próximo à região centromérica, abrange desde aproximadamente 2/3 da região 14A até a região mediana de 14C. A inversão localizada no 3R abrange uma parte da região 32B e a região 33A. As inversões foram designadas 2Rd e 3Rc, respectivamente, seguindo-se a denominação usualmente utilizada em *Drosophila*, particularmente por Wassermann (1963), Carson *et al.* (1967), Bicudo (1973) e para *Anopheles stephensi* e *A. superpictus* por Coluzzi *et al.* (1973). As inversões descritas por Kreutzer *et al.* também foram redenominadas seguindo-se esta mesma nomenclatura. Na tabela 1 constam todas as inversões de *A. darlingi* descritas, com as denominações anteriores e as adotadas para este trabalho. No diagrama da figura 2, as inversões estão representadas segundo as delimitações feitas por Kreutzer *et al.*, com exceção de 2Rd e 3Rc, cujos limites foram determinados neste trabalho.

As três regiões de despareamento também estão representadas na fig. 2, sendo que a primeira, localizada no cromossomo X, abrange desde a região mediana de 4B até a parte final de 5B. A segunda, situada na extremidade distal do braço R do cromossomo 2, envolve toda a região 6 e parte de 7A. A terceira região localizada no cromossomo 2L, compreende parte da 18A e inteiramente a 18B.

Na tabela 2 são apresentadas as frequências de fêmeas que produziram descendentes com os despareamentos. É apresentada tam-

bém a freqüência com que os desapareamentos foram detectados entre os descendentes de cada fêmea. O fato de terem sido constatados entre os descendentes de cada fêmea indivíduos com pareamento normal e indivíduos com desapareamento para as regiões consideradas, torna-se evidente que na população ocorrem as duas formas cromossômicas. Os dados da

tabela 2 indicam que foram mais freqüentes as fêmeas que produziram descendentes com desapareamento no cromossomo X e 2L, representando 41% e 52% respectivamente, do total de fêmeas analisadas em cada caso.

Em relação ao cromossomo X, foram computadas apenas as larvas fêmeas. Foram analisados 50 indivíduos, descendentes de 13 fê-

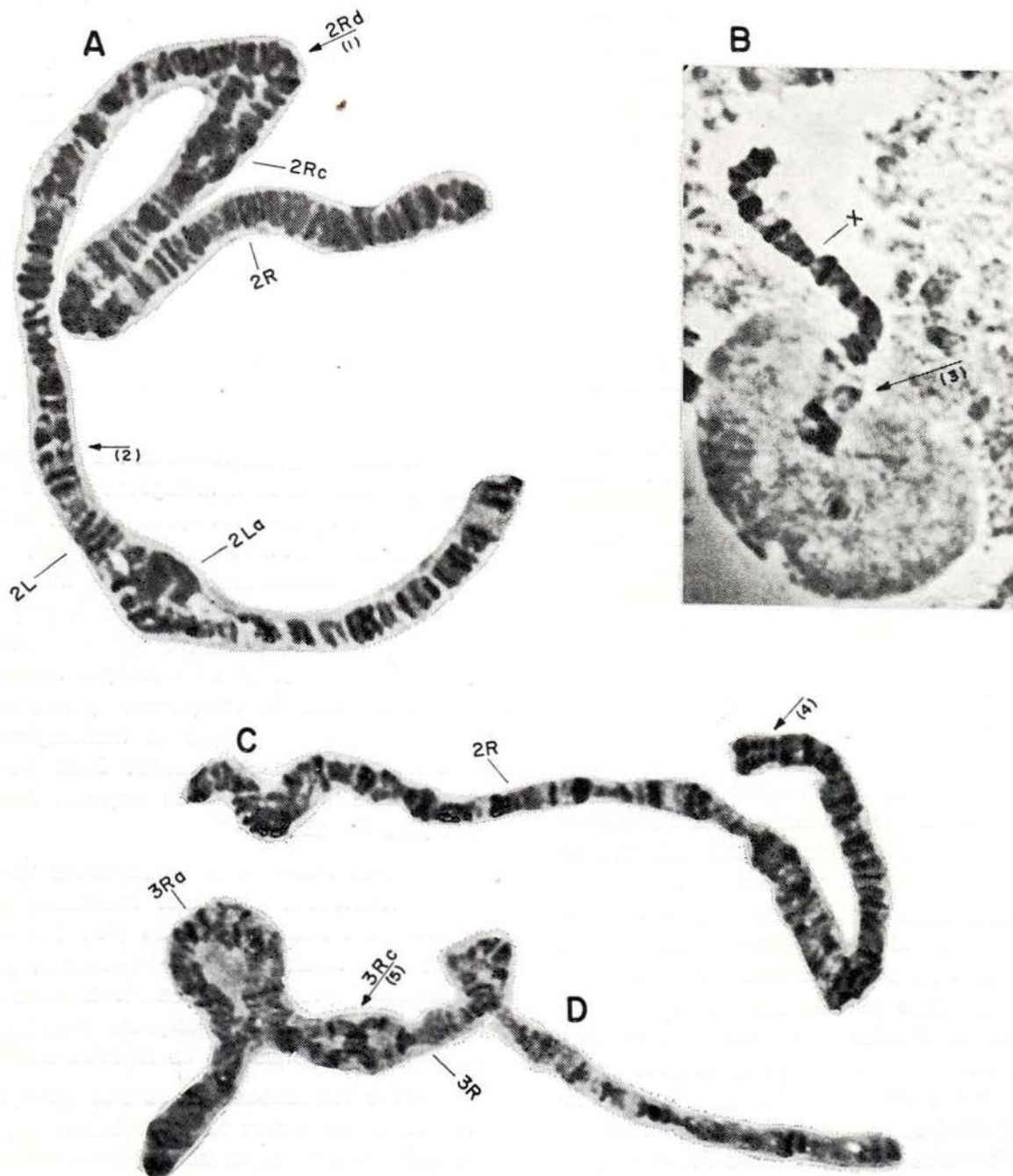


Fig. 1 — A — Inversão 2Rd do braço 2R (seta<sub>1</sub>) e região de desapareamento do braço 2L (seta<sub>2</sub>). B — Desapareamento da região proximal do cromossomo X (seta<sub>3</sub>) e associação ao nucléolo, indicando que este cromossomo é organizador do nucléolo. C — Desapareamento da região distal do braço 2L (seta<sub>4</sub>). D — Inversão 3Rc do braço 3R (seta<sub>5</sub>).

meas, e 52% apresentaram despereamento. Para o cromossomo 2R, o número de indivíduos analisados foi de 32, descendentes de 7 fêmeas, e exatamente 50% mostraram o despereamento. Quanto ao cromossomo 2L, foi analisado o maior número de indivíduos — 73, descendentes de 16 fêmeas, e 40% apresentaram despereamento.

A análise da constituição cromossômica dos 32 fêmeas estudadas foi realizada reconhecendo-se os homocigotos para o arranjo padrão (PP), homocigotos para o arranjo das inversões (II) e heterocigotos (PI). Os resultados mostraram que nenhuma das fêmeas analisadas produziu descendentes homocigotos para os três pares de cromossomos simultaneamente. Na tabela 3, são apresentadas as freqüências de fêmeas que produziram descendentes homocigotos e fêmeas que produziram descendentes homo e heterocigotos para cada uma das inversões nos três pares de cromossomos. Em uma primeira observação, verifica-se que ocorre elevada incidência de fêmeas que produziram descendentes homo e heterocigotos para as diferentes inversões. Os valores foram especialmente altos para 2Rb, 2Rc, 2Lb, 3Rb e 3La. Resultados opostos foram verificados para a inversão 2Ra, cuja freqüência de homo e heterocigotos foi apenas de 8%. Para o cromossomo X, também foi elevada a freqüência de homocigotos (75%). Valores intermediários ocorreram para as inversões 3Ra e 3Lb.

Para a análise das freqüências das inversões, todos os descendentes das 32 fêmeas estudadas foram reunidos, totalizando 118 indivíduos. Na tabela 4 constam as freqüências observadas para os três pares de cromossomos, considerando-se os arranjos PP, PI e II. Os dados para o cromossomo X referem-se apenas às larvas fêmeas analisadas e as freqüências verificadas são coincidentes com aquelas observadas na tabela 3. Fêmeas homocigotas para o arranjo da inversão Xa não foram detectadas. Em relação ao cromossomo 2R, as fórmulas cromossômicas PP, PI e II foram observadas para as inversões 2Ra e 2Rc. Indivíduos homocigotos 2Rb não foram observados. Homocigotos 2Ra para o arranjo padrão (PP) foram os mais freqüentes (85%). Para

TABELA 1 — Inversões de *Anopheles darlingi* com as denominações de Kreutzer et al. (1972) e as adotadas neste trabalho.

Cromossomo	Inversão	
	denominação de Kreutzer et al.	denominação neste trabalho
X	In (1)1	Xa
2R	In (2R)1	2Ra
	In (2R)2	2Rb
	In (2R)3	2Rc
	—	2Rd
2L	In (2L)1	2La
	Arranjo "Manaus"	2Lb
3R	In (3R)1	3Ra
	In (3R)2	3Rb
	—	3Rc
3L	In (3L)1	3La
	In (3L)2	3Lb

2Rb, os heterocigotos foram os mais freqüentes (63%); contudo, os homocigotos para o arranjo padrão (PP) também apresentaram freqüências elevadas (37%). No caso de 2Rc, os heterocigotos mostraram os níveis mais altos (84%); os homocigotos para o arranjo padrão (PP) e para a inversão (II) apresentaram freqüências baixas (13% e 3%, respectivamente). A inversão 2Rd foi computada apenas no estado heterocigoto porque os homocigotos PP e II não foram diferenciados. Essa inversão ocorreu em níveis próximos daqueles observados para Xa (24%).

As três fórmulas cromossômicas também foram verificadas para 2Lb. Indivíduos homocigotos para o arranjo padrão (PP) e heterocigotos (PI) foram os mais freqüentes, porém os últimos apresentaram os níveis mais altos (63%). Indivíduos homocigotos para 2Lb representaram apenas 8% da amostra analisada.

Para o cromossomo 3, os três arranjos foram observados para todas as inversões, com exceção de 3Rb, cujos homocigotos para o arranjo da inversão (II) não foram detectados. A inversão 3Rc também foi computada apenas no estado heterocigoto e na freqüência de 18%. Valores aproximadamente iguais foram obser-

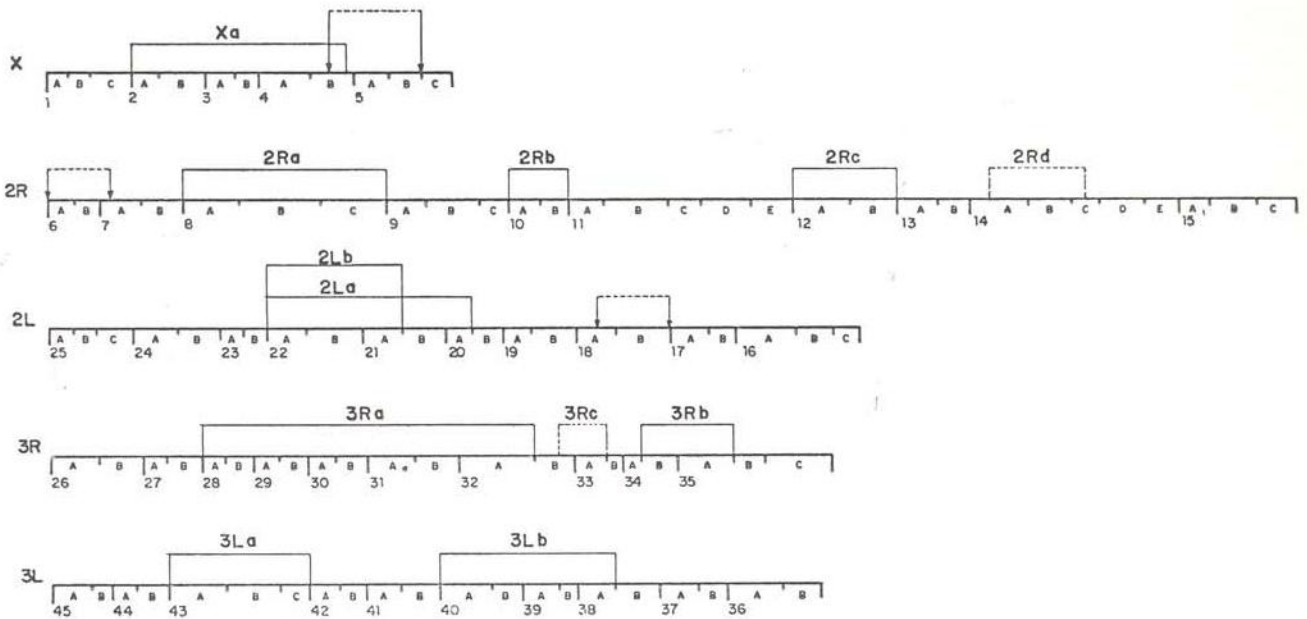


Fig. 2 — Diagrama das inversões e regiões de despareamento de *Anopheles darlingi*. — = inversões previamente descritas. - - - - - = inversões novas. V V = regiões de despareamento.

vados para os arranjos PP e PI da inversão 3Ra (respectivamente, 49% e 48%). Para 3Rb, os valores para os arranjos PP e PI também foram próximos, porém com divergência maior (46% e 54%). Para o braço 3L, as freqüências observadas dos arranjos PP e PI para 3La e 3Lb foram opostas para as duas inversões. Enquanto na primeira foi mais freqüente o arranjo PI (60%), na segunda foi o arranjo PP (65%).

A observação dos dados da tabela 4 possibilita visualizar que a classe dos heterozigotos (PI) para as diferentes inversões, ocorreu em freqüências superiores a 50% em 5 dos 9 casos analisados, nos quais os três arranjos foram estudados. Possibilita visualizar também que a classe dos homozigotos PP é, freqüentemente, muitas vezes maior que a dos homozigotos II. Na tabela 5 são apresentados os desvios entre as freqüências observadas e esperadas segundo o teorema de Hardy-Weinberg, calculados a partir dos dados constantes na tabela 4, para os três arranjos de todas as inversões. O qui-quadrado não foi calculado no caso das inversões Xa, 2Ra e 3Lb, pois existem freqüências esperadas abaixo de 5. No entanto, por inspeção dos dados, torna-se evidente que não existem diferenças estatísticas entre o observado e o esperado para as inversões Xa e 3Lb. Não se pode tirar conclusões em rela-

ção à inversão 2Ra. Para as demais inversões, os desvios foram significativos e os valores observados para a classe dos heterozigotos foram maiores que os esperados, segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg. Alguma mortalidade diferencial favorecendo os heterozigotos e discriminando contra os homozigotos deve ocorrer na população.

As inversões dos três pares de cromossomos foram testadas quanto à ocorrência de associação, por meio do qui-quadrado. Para análise, uma inversão foi considerada em relação a outra e os testes foram intra e intercromossômicos. No primeiro caso, foram verificadas as inversões dentro de cada braço cromossômico e entre os dois braços de cada cromossomo e no segundo caso, as inversões de um cromossomo em relação às de outro. Como a análise cromossômica foi desenvolvida reconhecendo-se os homozigotos para o arranjo padrão, para o arranjo da inversão e os heterozigotos, em cada teste de associação era possível verificar nove combinações. No entanto, como a classe dos homozigotos para o arranjo da inversão mostrou sempre freqüências baixas e foi mesmo inexistente em alguns casos (tabela 4), os testes foram realizados considerando-se apenas as classes dos homozigotos para o arranjo padrão e heterozigotos.

Desta forma, apenas quatro combinações foram testadas em cada caso, e uma tabela de contingência 2 x 2 foi utilizada.

Na tabela 6 constam os dados relativos aos testes de associação intracromossômico. Considerando as inversões dentro de cada braço cromossômico, foram possíveis quatro combi-

nações no braço 2R e uma combinação para cada um dos braços do cromossomo 3. Os desvios não foram significativos para o cromossomo 2 nem para o 3. Entre as inversões dos dois braços de cada cromossomo, de sete combinações possíveis, uma apresentou o valor de qui-quadrado significativo — 3Rb x 3Lb

TABELA 2 — Freqüência de fêmeas que produziram descendentes com despareamento nos cromossomos X e 2 e freqüência do despareamento entre os descendentes de cada fêmea. ( ) = percentagem.

Cromossomo	total de fêmeas analisadas	fêmeas que produziram descendentes com despareamento	descendentes analisados em cada caso	descendentes	
				pareamento normal	despareamento
X	32	13(41)	3	1	2
			6	1	5
			2	0	2
			5	3	2
			3	1	2
			5	4	1
			6	0	6
			4	3	1
			5	4	1
			2	1	1
			4	3	1
			4	3	1
			1	0	1
			total 50	24(48)	26(52)
2R	29	7(24)	5	1	4
			5	3	2
			4	3	1
			5	4	1
			4	2	2
			5	0	5
			4	3	1
total 32	16(50)	16(50)			
2L	31	16(52)	4	2	2
			5	4	1
			5	4	1
			3	2	1
			7	4	3
			5	2	3
			5	4	1
			5	4	1
			5	3	2
			4	3	1
			4	3	1
			4	2	2
			3	2	1
			5	3	2
			5	2	3
4	0	4			
total 73	44(60)	29(40)			

**TABELA 3 —** Fraquências de fêmeas que produziram descendentes homozigotos, e homo e heterozigotos para cada uma das inversões dos três pares de cromossomos.

Cromossomo	Número de fêmeas analisadas	Homozigoto % inversão			Homo e Heterozigoto % inversão		
		a	b	c	a	b	c
X	32	75	—	—	25	—	—
2R	29	92	28	8	8	72	92
2L	31	—	16	—	—	84	—
3R	27	37	30	—	63	70	—
3L	30	17	43	—	83	57	—

( $X_1^2 = 5,557$ ;  $P < 0,05$ ). Para as combinações 2Ra x 2Rb (dentro de cada braço cromossômico) e 2Ra x 2Lb (entre os braços de cada cromossomo) o qui-quadrado não foi calculado pois existem freqüências esperadas abaixo de 5. Entretanto, os valores observados e esperados são próximos, tornando evidente que não existem diferenças significativas. Porém em relação a 2Ra x 2Rc os dados não permitem conclusões.

Os testes para combinações intercromossômicas (tabela 7) revelaram que a grande maioria das inversões se distribuem ao acaso, como ocorreu também para as combinações intracromossômicas. De 24 combinações testadas no total, quatro apresentaram valores de qui-quadrado significativo. Para os testes en-

tre os cromossomos X e 2 não ocorreram combinações significativas. Das quatro combinações possíveis entre os cromossomos X e 3, duas apresentaram desvios significativos — Xa x 3Rb ( $X_1^2 = 4,549$ ;  $P < 0,05$ ) e Xa x 3Lb ( $X_1^2 = 4,933$ ;  $P < 0,05$ ). Os testes entre as 16 combinações para os cromossomos 2 e 3 evidenciaram que 2Rc x 3Ra e 2Lb x 3Ra não se distribuem ao acaso e os valores de qui-quadrado foram, respectivamente, 5,135;  $P < 0,05$  e 5,754;  $P < 0,05$ . Pelas mesmas razões já expostas quando da descrição da tabela 6, o qui-quadrado não foi calculado para as combinações Xa x 2Ra, Xa x 2Rc, 2Ra x 3Ra, 2Ra x 3Rb, 2Ra x 3La, 2Ra x 3Lb e 2Rc x 3Lb. Contudo, a observação dos dados possibilita verificar que não existem desvios estatisticamente sig-

**TABELA 4 —** Freqüências dos arranjos na descendência das fêmeas analisadas. P = arranjo padrão; I = arranjo da inversão.

Cromossomo	Inversão	Número de descendentes analisados	Arranjos observados %		
			PP	PI	II
X	Xa	77	75	25	0
2R	2Ra	94	85	5	10
	2Rb	98	37	63	0
	2Rc	105	13	84	3
	2Rd	105	—	24	—
2L	2Lb	118	29	63	8
3R	3Ra	111	49	48	3
	3Rb	89	46	54	0
	3Rc	89	—	18	—
3L	3La	111	39	60	1
	3Lb	100	65	32	3

TABELA 5 — Freqüências observadas e esperadas dos arranjos e as respectivas diferenças e valores de qui-quadrado. P = arranjo padrão; I = arranjo da inversão.

Cromossomo	inversão		Arranjos			$\chi^2$
			PP	PI	II	
X	Xa	obs.	59	19	0	+
		esp.	59,2	16,6	1,2	
		dif.	- 1,2	+ 2,4	- 1,2	
2R	2Ra	obs.	79	5	10	+
		esp.	70,6	21,7	1,7	
		dif.	+ 8,4	- 16,7	+ 8,3	
	2Rb	obs.	36	62	0	20,96***
		esp.	45,8	42,4	9,8	
		dif.	- 9,8	+ 19,6	- 9,8	
	2Rc	obs.	14	88	3	50,76***
		esp.	32,0	51,9	21,1	
		dif.	- 18,0	+ 36,1	- 18,1	
2L	2Lb	obs.	34	75	9	12,86***
		esp.	43,3	56,4	18,3	
		dif.	- 9,3	+ 18,6	- 9,3	
3R	3Ra	obs.	55	53	3	5,60*
		esp.	59,8	43,3	7,9	
		dif.	- 4,8	+ 9,7	- 4,9	
	3Rb	obs.	41	48	0	12,10***
		esp.	47,4	35,1	6,5	
		dif.	- 6,4	+ 12,9	- 6,5	
3L	3La	obs.	44	66	1	17,77***
		esp.	53,5	47,1	10,4	
		dif.	- 9,5	+ 18,9	- 9,4	
	3Lb	obs.	65	32	3	+
		esp.	65,6	30,8	3,6	
		dif.	- 0,6	+ 1,2	- 0,6	

\* =  $P < 0,05$ ; \*\*\* =  $P < 0,005$ ; + = qui-quadrado não calculado.

nificativos para as cinco últimas combinações. O mesmo não se estende às duas primeiras, cujos dados não possibilitam conclusões.

Nas tabelas 8 e 9 são apresentados dados sobre testes de associação envolvendo as três regiões de despareamento. Na primeira são apresentados os resultados sobre as associações entre as regiões de despareamento e as inversões de cada braço cromossômico, e na segunda entre as regiões de despareamento do cromossomo X e 2. Em relação à tabela 8, os homocigotos para o arranjo das inversões também não foram considerados nas combinações, como ocorreu para os dados das tabelas 6 e 7. De cinco combinações possíveis, o qui-quadrado foi calculado para três e não foi sig-

nificativo em nenhuma delas. Para 2Ra e 2Rc, a observação dos dados também mostra que não existem diferenças significativas. Nas combinações entre as regiões de despareamento (tabela 9) também não ocorrem desvios significativos. Embora os valores de qui-quadrado não tenham sido calculados, os observados e os esperados são próximos em todas as combinações.

#### DISCUSSÃO

Populações naturais de *Anopheles* frequentemente apresentam polimorfismo cromossômico de inversões. Estudos intensivos em cromossomos politênicos de glândulas salivares



e de células nutritivas de ovários possibilitaram evidenciar espécies com elevado polimorfismo cromossômico e espécies moderadamente polimórficas. Espécies monomórficas também têm sido detectadas (White, 1974; Kitzmiller, 1976). *Anopheles darlingi*, analisada no presente trabalho, está incluída entre as primeiras e apresenta 10 rearranjos resultantes de nove inversões independentes e duas possivelmente superpostas (Kreutzer *et al.*, 1972). A descrição de duas novas inversões, a partir da análise da população do Km 137, possibilitou elevar para doze o número de rearranjos de *A. darlingi*, corroborando assim os dados existentes na literatura de que a espécie é altamente polimórfica. *Anopheles gambiae* espécie B da África também é considerada espé-

cie de elevado polimorfismo e apresenta doze inversões distintas. *Anopheles messeae* apresenta um número mais elevado de inversões tendo sido descritas 27 diferentes inversões autossômicas em amostras procedentes de três localidades da Bulgária (Kitzmiller, 1976).

As inversões de *Anopheles darlingi* distribuem-se por todos os cromossomos, não havendo, de acordo, com o teste de qui-quadrado que realizamos, ocorrência preferencial em qualquer um dos cromossomos ou mesmo em qualquer um dos braços dos cromossomos. O braço 2R, sendo o mais longo do lote, apresenta o maior número de inversões. O mesmo fenômeno também foi observado para algumas espécies de *Drosophila*, nas quais as inversões distribuem-se entre os cromossomos

**TABELA 6 — Associação de inversões: análise intracromossômica de cada braço (bloco superior) e entre os dois braços de cada cromossomo (bloco inferior). P = homocigoto para o arranjo padrão; I = homocigoto para a inversão; H = heterocigoto.**

Cromossomo	Inversões	Larvas computadas		P x P	P x H	H x P	H x H	$\chi^2$
2R	2Ra x 2Rb	82	obs.	33	45	3	1	+
			esp.	34,24	43,76	1,76	2,24	
	2Ra x 2Rc	83	obs.	9	70	3	1	+
			esp.	11,42	67,58	0,58	3,42	
	2Rb x 2Rc	95	obs.	6	30	5	54	1,463
			esp.	4,17	31,83	6,83	52,17	
3R	3Ra x 3Rb	84	obs.	21	28	19	16	1,066
			esp.	23,33	25,67	16,67	18,33	
3L	3La x 3Lb	95	obs.	32	9	33	21	3,098
			esp.	28,05	12,95	36,95	17,05	
2	2Ra x 2Lb	83	obs.	26	53	2	2	+
			esp.	26,65	52,35	1,35	2,65	
	2Rb x 2Lb	92	obs.	12	24	17	39	0,089
			esp.	11,35	24,65	17,65	38,35	
	2Rc x 2Lb	97	obs.	4	9	30	54	0,122
			esp.	4,56	8,44	29,44	54,56	
3	3Ra x 3La	99	obs.	20	28	24	27	0,290
			esp.	21,33	26,67	22,67	28,33	
	3Ra x 3Lb	91	obs.	28	21	31	11	2,756
			esp.	31,77	17,23	27,23	14,77	
	3Rb x 3La	84	obs.	19	21	24	20	0,418
			esp.	20,48	19,52	22,52	21,48	
	3Rb x 3Lb	84	obs.	30	10	22	22	5,557*
			esp.	24,76	15,24	27,24	16,76	

\* =  $P < 0,05$ ; + = qui-quadrado não calculado.

TABELA 7 — Associação de inversões: análise intercromossômica, considerando os três pares de cromossomos. P = homocigoto para o arranjo padrão; I = homocigoto para a inversão; H = heterocigoto.

Cromossomo	Inversões	Larvas computadas		P x P	P x H	H x P	H x H	$\chi^2_{X_1}$
X x 2	Xa x 2Ra	55	obs.	41	1	10	3	+
			esp.	38,95	3,05	12,05	0,95	
	Xa x 2Rb	65	obs.	22	29	8	6	0,869
			esp.	23,54	27,46	6,46	7,54	
	Xa x 2Rc	66	obs.	4	47	5	10	+
			esp.	6,95	44,05	2,05	12,95	
	Xa x 2Lb	68	obs.	17	35	5	11	0,012
			esp.	16,82	35,18	5,18	10,82	
X x 3	Xa x 3Ra	70	obs.	31	20	10	9	0,380
			esp.	29,87	21,13	11,13	7,87	
	Xa x 3Rb	68	obs.	35	17	6	10	4,549*
			esp.	31,35	20,65	9,65	6,35	
	Xa x 3La	72	obs.	25	28	7	12	0,600
			esp.	23,56	29,44	8,44	10,56	
	Xa x 3Lb	67	obs.	38	12	8	9	4,933*
			esp.	34,33	15,67	11,67	5,33	
2 x 3	2Ra x 3Ra	66	obs.	27	36	2	1	+
			esp.	27,68	35,32	1,32	1,68	
	2Ra x 3Rb	73	obs.	38	30	3	2	+
			esp.	38,19	29,81	2,81	2,19	
	2Ra x 3La	82	obs.	37	40	3	2	+
			esp.	37,56	39,44	2,44	2,56	
	2Ra x 3Lb	79	obs.	55	19	5	0	+
			esp.	56,20	17,80	3,80	1,20	
	2Rb x 3Ra	97	obs.	18	18	35	26	0,497
			esp.	19,67	16,33	33,33	27,67	
	2Rb x 3Rb	85	obs.	17	16	24	28	0,231
			esp.	15,92	17,08	25,08	26,92	
	2Rb x 3La	92	obs.	20	16	24	32	1,413
			esp.	17,22	18,78	26,78	29,22	
	2Rb x 3Lb	90	obs.	29	7	36	18	2,077
			esp.	26,00	10,00	39,00	15,00	
	2Rc x 3Ra	110	obs.	11	3	41	45	5,135*
			esp.	6,62	6,11	45,38	41,89	
	2Rc x 3Rb	79	obs.	5	5	36	33	0,017
			esp.	5,19	4,81	35,81	33,19	
	2Rc x 3La	89	obs.	7	7	37	38	0,002
			esp.	6,92	7,08	37,08	37,92	
	2Rc x 3Lb	91	obs.	9	5	56	21	+
			esp.	10,00	4,00	55,00	22,00	
2Lb x 3Ra	101	obs.	12	21	42	26	5,754*	
		esp.	17,64	15,36	36,36	31,64		
2Lb x 3Rb	85	obs.	10	16	31	28	1,432	
		esp.	12,54	13,46	28,46	30,54		
2Lb x 3La	94	obs.	16	14	26	38	1,339	
		esp.	13,40	16,60	28,60	35,40		
2Lb x 3Lb	94	obs.	23	6	42	23	2,034	
		esp.	20,05	8,95	44,95	20,05		

\* =  $P < 0,05$ ; + = qui-quadrado não calculado.

**TABELA 8** — Análise das associações entre as regiões de despareamento e as inversões de cada braço cromossômico. Des. = regiões de despareamento; homo = homozigoto para as regiões de despareamento. P = homozigoto para o arranjo padrão; H = heterozigoto.

Inversão	Larvas computadas		P x desp	P x homo	H x desp	H x homo	$\chi^2$ $X_1$
Xa	77	obs.	15	43	8	11	1,795
		esp.	17,32	40,68	5,68	13,32	
2Ra	84	obs.	11	68	1	4	+
		esp.	11,28	67,71	0,72	4,29	
2Rb	92	obs.	6	30	7	49	0,311
		esp.	5,09	30,91	7,91	48,09	
2Rc	96	obs.	2	10	8	76	+
		esp.	1,25	10,75	8,75	75,25	
2Lb	108	obs.	11	22	15	60	2,236
		esp.	7,94	25,06	18,06	56,94	

+ = qui-quadrado não calculado.

aproximadamente em proporção ao comprimento (Da Cunha, 1955; Dobzhansky, 1973). No entanto, em *Anopheles gambiae* espécie B as inversões não estão distribuídas ao acaso entre os cromossomos, ocorrendo em maior número no braço 2R (Coluzzi & Kitzmiller, 1975).

A descrição de duas novas inversões para as populações da Amazônia vem reforçar o fato já mencionado por Kreuzer *et al.* (1972) de que a população de *Anopheles darlingi* do norte é mais polimórfica do que a população do sul, em relação aos diferentes tipos de inversões presentes. Alguns arranjos são mais comuns no norte, outros são mais comuns no sul.

Os autores acima citados ressaltaram que a característica mais marcante da população de *Anopheles darlingi* da Amazônia é a alta incidência com que ocorrem inversões no estado heterozigoto. Os autores mencionaram que cerca de 90% dos indivíduos estudados eram heterozigotos para uma ou mais inversões. O mesmo aspecto também foi verificado por nós para a população do Km 137, porém com um grau de heterozigose ainda mais acentuado. De 32 fêmeas estudadas, nenhuma produziu descendentes homozigotos para os três pares de cromossomos simultaneamente. O número de inversões por indivíduos, no estado heterozigoto, variou de um a sete entre os des-

cedentes, sendo a média  $4,13 \pm 0,13$ . Indivíduos com três a cinco inversões foram os mais freqüentes, totalizando 68% da amostra estudada. Indivíduos com uma ou com sete inversões foram os menos freqüentes (4%).

As populações da Amazônia (Manaus e do Km 137) são concordantes quanto ao fato de mostrarem um alto grau de heterozigose. Porém, quando são comparadas as freqüências das inversões das duas localidades, são observadas algumas variações. Para o cromossomo 2, a seqüência padrão do braço 2R foi o arranjo mais freqüente na população de Manaus, enquanto que no Km 137, ocorreram variações em relação às três inversões. Para 2Ra, homozigotos para o arranjo padrão foram os mais freqüentes e para 2Rb e 2Rc foram os heterozigotos. No braço 2L, o arranjo 2Lb foi muito freqüente no Km 137, no estado heterozigoto; no entanto, na população de Manaus, este arranjo foi observado na proporção aproximada de 1:2:1, de heterozigotos e homozigotos.

Quanto ao cromossomo 3, as variações observadas entre as duas localidades estão relacionadas com as freqüências dos heterozigotos e homozigotos para o arranjo padrão. Os homozigotos para o arranjo das inversões são raros em ambas as localidades. Em relação ao braço 3R, a inversão 3Ra, comum na população de Manaus em heterozigose (67%

da amostra analisada), foi verificada na frequência de 48% no Km 137. Resultados opostos foram observados para a inversão 3Rb, que mostrou no Km 137 alta incidência de heterozigotos, enquanto que na população de Manaus foram freqüentes os homozigotos para o arranjo padrão. Também, freqüências diferentes em relação à população de Manaus, foram observadas para as duas inversões do braço 3L. Para 3La, esta inversão ocorre, no estado heterozigoto, em 50% da amostra de Manaus e em 60% do material procedente do Km 137. A inversão 3Lb foi verificada, em heterozigose, em apenas 32% do material do Km 137, enquanto que foi freqüente também em heterozigose em Manaus.

As variações acima mencionadas podem ser interpretadas como respostas seletivas diferentes das variantes genéticas, que não são igualmente adaptativas para os vários nichos ecológicos explorados pela espécie. Variações nas freqüências de arranjos gênicos, ao longo da área de distribuição de uma determinada espécie, têm sido extensivamente observadas em *Drosophila*. Diferenças, quer qualitativas, quer quantitativas, foram verificadas em *D. guaramunu* (Brncic, 1953; Salzano, 1955), *D. pseudoobscura* e *D. persimilis* (Dobzhansky, 1956; Anderson *et al.*, 1975), *D. robusta* (Carson, 1958), *D. athabasca* (Miller & Volker, 1972), *D. prosaltans* (Bicudo, 1973; Bicudo *et al.*, 1978), *D. subobscura* (Krimbas & Loukas, 1980) e outras. No gênero *Anopheles*, diferen-

ças quanto ao polimorfismo cromossômico têm sido utilizadas para caracterização de espécies como, por exemplo, no complexo *A. maculipennis* da Europa, complexo *A. gambiae* da África. Em *A. albitarsis*, Kreutzer *et al.* (1976) identificaram três populações dessa espécie que diferem quanto aos arranjos gênicos.

Além das freqüências das inversões, as duas localidades da Amazônia também mostram diferenciação quanto aos arranjos presentes. As inversões 2Rd e 3Rc não foram detectadas por Kreutzer *et al.* (1972), quando da análise da população de Manaus. Além dos arranjos, também as três regiões de desaparecimento não foram mencionadas por aqueles autores.

O nível de diferenciação torna-se maior quando as populações da Amazônia são comparadas com as populações do sul. Kreutzer *et al.* (1972) verificaram reduzido polimorfismo cromossômico na população do sul e, aparentemente, alguns arranjos foram fixados. Algumas inversões, que foram comuns no estado heterozigoto nas populações do norte, foram observadas apenas na forma homozigota no sul. Também, algumas inversões que foram freqüentes no norte, aparentemente estão ausentes no sul. As inversões 2Rd e 3Rc, descritas neste trabalho, assim como as três regiões de desaparecimento, permitem ampliar ainda mais o nível de diferenciação entre as duas populações.

Os dados acima mencionados estão em acordo com a hipótese de Da Cunha *et al.*

TABELA 9 — Valores observados e esperados nos testes de associação entre as regiões de desaparecimento dos cromossomos X e 2. Desp = regiões de desaparecimento; homo — homozigoto para as regiões de desaparecimento.

Cromossomos	Larvas computadas		desp x desp	desp x homo	homo x desp	homo x homo
X x 2R	77	obs.	2	20	8	47
		esp.	2,86	19,14	7,14	47,86
X x 2L	75	obs.	3	19	10	43
		esp.	3,81	18,19	9,19	43,81
2R x 2L*	105	obs.	7	9	22	67
		esp.	4,42	11,58	24,58	64,42

(1950) e Da Cunha e Dobzhansky (1954) de que a quantidade de polimorfismo cromossômico tende a ser proporcional às variedades de habitats explorados pela espécie, na área de distribuição geográfica. Esses autores evidenciaram que populações de *Drosophila willistoni* da área marginal tendem a ser menos polimórficas do que populações da área central de distribuição, ecologicamente mais diversificada. A população de *Anopheles darlingi* do Amazonas, ocupando uma posição mais central da área de distribuição, apresenta elevado polimorfismo; e a população de Araraquara, estando mais próxima da área marginal, aparentemente fixou determinados arranjos com reduzido polimorfismo.

A observação das freqüências dos arranjos das inversões possibilita verificar a ocorrência de heterozigotos em freqüências superiores a 50% e os números são estatisticamente significativos, na maioria dos casos. Estes resultados são indicativos de que em populações naturais de *Anopheles darlingi*, os heterozigotos apresentam valor adaptativo superior, ocorrendo seleção contra os homozigotos. A seleção natural estabeleceria então uma situação de polimorfismo balanceado. Estudos em populações naturais de *Drosophila* têm proporcionado evidências de que o polimorfismo cromossômico é usualmente balanceado. Dobzhansky & Pavlovsky (1958) estudando populações de *Drosophila willistoni*, *D. paulistorum* e *D. tropicalis* verificaram que em algumas populações dessas espécies da América do Sul, mais da metade dos indivíduos encontrados na natureza são heterozigotos para certas inversões. No presente trabalho, embora os dados apresentados resultem da análise de 118 indivíduos que não foram coletados diretamente da natureza, mas são descendentes  $F_1$  de 32 fêmeas inseminadas na natureza, constituem elementos indicativos de que em populações naturais de *Anopheles darlingi* poderia ocorrer uma estrutura genética semelhante à verificada por Dobzhansky & Pavlovsky para as três espécies de *Drosophila* acima citadas.

A amostra de *Anopheles darlingi* estudada neste trabalho foi obtida no Km 137, em um ponto localizado na margem da rodovia. Os espécimes coletados vinham se alimentar nas

iscas que aí permaneciam e, provavelmente, eram procedentes de diferentes habitats da mata das proximidades, considerando-se que a espécie apresenta um raio de vôo de cerca de 2.000 metros (Deane, 1947). Como as florestas tropicais apresentam grande heterogeneidade ambiental dentro de pequenos territórios, é razoável admitir que nossa amostra seja formada de indivíduos procedentes de habitats diversos. Como ocorrem freqüências elevadas de heterozigotos para a maioria das inversões, os resultados são indicativos de uma adaptabilidade maior dos heterozigotos em relação à heterogeneidade ambiental. Sugerem também que os homozigotos para o arranjo padrão são superiores em relação aos homozigotos para o arranjo das inversões, pois estes ocorrem em freqüências sempre muito baixas.

Os testes para associação de inversões evidenciaram cinco casos em que as inversões não se distribuem ao acaso, sendo uma intracromossômica (tabela 6) e as restantes intercromossômicas (tabela 7). Em relação à primeira, trata-se de uma interação entre inversões localizadas em braços diferentes e que estão separadas por sete regiões cromossômicas (fig. 2). Considerando que este segmento cromossômico seja suficientemente grande para possibilitar permutação entre elas, podemos admitir que as inversões 3Rb e 3Lb estão em associação, pois todas as demais, dentro de cada braço cromossômico, apresentam distâncias menores e se distribuem ao acaso. A divergência favorece os indivíduos heterozigotos para inversões em ambos os braços e indivíduos homozigotos para o arranjo padrão, também para ambos os braços. Nos casos em que foram verificadas associações intercromossômicas, excetuando-se a combinação 2Lb x 3Ra, a divergência também favorece o duplo heterozigoto e o duplo homozigoto para o arranjo padrão. Este fato é indicativo de que provavelmente os mesmos processos seletivos que ocorrem ao nível das interações intracromossômicas, estariam ocorrendo também ao nível das intercromossômicas. Para a combinação 2Lb x 3Ra o fenômeno seria oposto, pois o desvio favorece as combinações homozigotas para o arranjo padrão de 2Lb e heterozigotas para 3Ra e a forma inversa.

Estudos de associação de arranjos gênicos em espécies de *Drosophila* têm mostrado que as inversões em associação (cis) e em repulsão (trans) ocorrem em frequências diferentes, conforme a espécie considerada e a localidade. Em *D. guaramunu* arranjos em associação são favorecidos enquanto que em repulsão são selecionados contra (Levitam & Salzano, 1959). Em *D. robusta* ocorre fenômeno inverso, sendo favorecidos determinados arranjos em repulsão (Levitam, 1958). Bicudo *et al.* (1978) evidenciaram que em duas localidades brasileiras, quatro arranjos de *D. prosaltans* apresentam valores adaptativos semelhantes quando os braços cromossômicos são considerados isoladamente, mas valores adaptativos opostos quando os braços IIL e IIR são considerados simultaneamente. Em uma localidade predominou arranjo em repulsão e na outra em associação. Em *Anopheles darlingi*, os efeitos das interações intra e intercromossômicas são desconhecidos. Contudo, como ocorre em espécies de *Drosophila*, provavelmente tratam-se de interações adaptativas, nas quais a seleção favorece a reunião de arranjos independentes. Uma análise pormenorizada em *A. darlingi* das frequências dos arranjos em associação e em repulsão e inclusive incluindo dados de outras regiões brasileiras, será objeto de um próximo trabalho.

Ainda um ponto a ser destacado em relação às associações intercromossômicas e mesmo intracromossômicas, refere-se à recombinação. Extensivos estudos em espécies de *Drosophila* evidenciaram que as inversões, no estado heterozigoto, estendem seus efeitos sobre a recombinação também às regiões adjacentes ao segmento invertido no mesmo cromossomo e, sob determinadas circunstâncias, apresentam efeitos ainda sobre a recombinação em outros cromossomos (Morgan *et al.*, 1930; Sturtevant & Beadle, 1936; Dobzhansky & Epling, 1948; Schuitz & Redfield, 1951; Carson, 1953; Eugenev, 1970). Os dados apresentados neste trabalho não abrangem esse aspecto. No entanto, considerando que a população estudada apresenta altas frequências de indivíduos no estado heterozigoto (68% da amostra apresentaram de três a cinco inversões), é razoável admitir que estas associações devem ter algum efeito

sobre a recombinação intra e intercromossômica. Neste caso, os efeitos devem ser adaptativos, considerando a alta incidência com que ocorrem indivíduos com inversões no estado heterozigoto.

Um outro aspecto ainda a ser discutido refere-se às três regiões de despareamento. Eugenev (1971), estudando o pareamento cromossômico entre híbridos interespecíficos de *Drosophila virilis*, *D. texana* e *D. littoralis*, verificou que o mesmo não resulta de interação genética específica no híbrido, mas depende das propriedades dos loci dos próprios cromossomos. Segundo o autor, a extensão em que a atração entre os homólogos é diminuída em híbridos interespecíficos, depende, provavelmente, da quantidade de trocas moleculares que ocorreu nos cromossomos das espécies relacionadas. Admitindo-se que as três regiões de despareamento mencionadas representam segmentos onde tenha ocorrido diferenciação genética, essas regiões evidenciam a existência de duas formas cromossômicas na população — a normal e a com diferenciação genética.

Dentre as regiões de despareamento, torna-se particularmente importante, o segmento localizado no cromossomo X, considerando-se que o mesmo pode ser elemento indicativo de um processo de especiação em desenvolvimento. Conforme os dados da literatura, o cromossomo X, durante o processo evolutivo do gênero *Anopheles*, tem sido o mais sensível a rearranjos (Kitzmiller, 1977). As espécies de *Anopheles*, nos diferentes grupos, podem ser identificadas com base no padrão de bandas deste cromossomo que apresenta, na maioria dos casos, seqüência única para cada espécie. Dentre os mecanismos que levariam à fixação de rearranjos neste cromossomo, Kitzmiller (1977) sugeriu que o padrão atual poderia ter resultado de inversões que foram frequentes e que se fixaram durante o processo evolutivo, talvez em período de rápida adaptação para uma variedade de ambiente. As três regiões de despareamento representam a nosso ver, formas alternativas de constituição genética e poderão ter papel no processo de adaptação da população aos diferentes habitats em que a espécie ocorre.

A análise do polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi* proporciona dados relacionados a aspectos evolutivos e também dados que podem ser correlacionados à capacidade vetora da espécie. A ocorrência de doze rearranjos diferentes possibilita um número elevado de combinações cromossômicas que é ampliado ainda mais se forem consideradas também as três regiões de despareamento. Como a frequência de espécimes de *Anopheles darlingi* infectados por *Plasmodium* em populações naturais é muito baixa, este fato sugere que alguns indivíduos podem não ser suscetíveis de infecção. Desta forma, o conhecimento da estrutura citogenética da população, correlacionada ao grau de susceptibilidade à infecções por *Plasmodium*, poderá constituir-se em um parâmetro fundamental para avaliação da capacidade vetora de uma dada população de *Anopheles darlingi*.

#### AGRADECIMENTOS

Somos gratos ao Professor Doutor Warwick E. Kerr pela oportunidade de realização deste trabalho e pelo auxílio nas várias etapas do seu desenvolvimento, quer na análise, quer na leitura do manuscrito. À Professora Doutora Hermione E. M. de C. Bicudo pela leitura do manuscrito e sugestões. Aos Professores Doutores Paulo S. Martins e Woodruff Benson pelas valiosas críticas e contribuições. À Sra. Elcy I. Santos e ao Sr. José M. Correia pelos serviços técnicos.

O primeiro autor é grato ainda ao Professor Kerr por ter proporcionado a oportunidade de continuar os estudos citogenéticos de *Anopheles darlingi*, iniciados por Mohammad G. Rabhani e assim conhecer o valor desse cientista, cuja dedicação e cuidado possibilitou a reconstituição da história iniciada em 22 de janeiro de 1976, quando chegou à Amazônia, no INPA em Manaus.

#### SUMMARY

The chromosomal polymorphism of *Anopheles darlingi*, whose sample was obtained in Highway BR-174 (Manaus/Boa Vista), was here analyzed. Two new independent inversions were described, and the number

of rearrangements was raised to twelve. Three asynapsed regions were also described, being one in chromosome X and two in chromosome 2. There was a high occurrence of inversions at the heterozygote state and the medium number per individual was high ( $4,13 \pm 0,13$ ). The higher and meaningful frequencies of heterozygote indicated their larger adaptability to the environmental heterogeneity. The tests for the association of inversions showed the occurrence of an intrachromosomal association (arms 3R and 3L) and four interchromosomal ones (chromosomes X-3 and 2-3).

The data of the *Anopheles darlingi* chromosomal polymorphism support the hypothesis that the central populations of a geographic area are more polymorphic than the marginal populations. The *A. darlingi* populations of Amazônia are highly polymorphic as compared to the southern ones, where certain arrangements with reduce polymorphism were determined.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, W.; DOBZHANSKY, Th.; PAVLOVSKY, O.; POWELL, J.R. & YARDLEY, D.  
1975 — Genetics of natural populations. XLII. Three decades of genetic change in *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution*, 29: 24-36.
- BICUDO, H.E.M.C.  
1973 — Chromosomal polymorphism in the saltans group of *Drosophila*. I. The saltans subgroup. *Genetica*, 44: 520-552.
- BICUDO, H.E.M.C.; HOSAKI, M.K.; MACHADA, J. & MARQUES, M.C.N.  
1978 — Chromosomal polymorphism in the saltans group of *Drosophila*. II Further study on *D. prosaltans*. *Genetica*, 48: 5-15.
- BRNCIC, D.  
1953 — Chromosomal variation in natural populations of *Drosophila guaramunu*. *Z. induct. Abstamm.-u. Vererblehre*, 85: 1-11.
- CARSON, H.L.  
1953 — The effects of inversions on crossing over in *Drosophila robusta*. *Genetics*, 38: 168-186.  
1958 — The population genetics of *Drosophila robusta*. *Adv. Genet.*, 9: 1-40.
- CARSON, H.L.; CLAYTON, F.E. & STALKER, H.D.  
1967 — Karyotype stability and speciation in Hawaiian *Drosophila*. *Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash)*, 57, 1280.
- COLUZZI, M.; DI DECO, M. & CANCRINI, G.  
1973 — Chromosomal inversions in *Anopheles stephensi*. *Parassitologia*, 15: 129.
- COLUZZI, M. & KITZMILLER, J.B.  
1975 — Anopheline mosquitoes. In: Handbook of Genetics (R.C. King. ed.) vol. 3, Chapter 12, pp. 289-309. New York. Plenum.

- DA CUNHA, A.B.  
1955 — Sobre duas raças de *Drosophila neocardini* Streisinger. *Rev. Brasil. Biol.*, 15: 117-125.
- DA CUNHA, A.B.; BURLA, H. & DOBZHANSKY, Th.  
1950 — Adaptive chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni*. *Evolution*, 4: 212-235.
- DA CUNHA, A.B. & DOBZHANSKY, Th.  
1954 — A further study of chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. *Evolution*, 8: 119-134.
- DEANE, L.M.  
1947 — Observações sobre a malária na Amazônia brasileira. *Rev. Serv. Esp. Saúde Pub.*, 1: 3-60.
- DOBZHANSKY, Th.  
1956 — Genetics of natural populations XXV. Genetic changes in populations of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis* in some localities of California. *Evolution*, 10: 82-92.  
1973 — *Genética do Processo Evolutivo*. São Paulo, EDUSP.
- DOBZHANSKY, Th. & EPLING, C.  
1948 — The suppression of crossing over in inversion heterozygotes of *Drosophila pseudoobscura*. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 34: 137-141.
- DOBZHANSKY, Th. & PAVLOVSKY, O.  
1958 — Interracial hybridization and breakdown of coadapted gene complexes in *Drosophila paulistorum* and *Drosophila willistoni*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 44: 622-629.
- EUGENEV, M.B.  
1970 — The interchromosomal effect of inversions on crossing over in the interspecific *D. virilis* x *D. texana* hybrids. *Genetika (USSR)*, 2: 68-72.  
1971 — The pattern of polytene chromosome conjugation and crossing-over in interspecific hybrids of *Drosophila*. *Theoret. Appl. Genetics*, 41: 249-254.
- FERRARONI, J.J. & HAYES, J.  
1979 — Aspectos epidemiológicos da malária no Amazonas. *Acta Amazonica*, 9: 471-479.
- FERRARONI, J.J.; WAKI, S. & SUZUKY, M.  
1977 — Resistência do *Plasmodium falciparum* às cloroquinas no Estado do Amazonas detectada pelo método in vitro. *Acta Amazonica*, 7: 147-148.
- FERREIRA, E.  
1964 — Distribuição geográfica dos anofelinos no Brasil e sua relação com o estado atual da erradicação da malária. *Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais*, 16: 329-348.
- FORATTINI, O.P.  
1962 — *Entomologia Médica*. 1.º volume. São Paulo, Editora Univ. São Paulo.
- FRENCH, W.L.; BAKER, R.H. & KITZMILLER, J.B.  
1962 — Preparation of mosquito chromosomes. *Mosquito News*, 22: 377-383.
- GUEDES, A.S.; AMORIM, E.M. & SCHRÜBER, G.  
1957 — Análise dos cromossomos salivares em anofelinos brasileiros. *Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais*, 9: 247-250.
- HAYES, J. & CHARLWOOD, D.C.  
1977 — O *Anopheles darlingi* evita o DDT numa área de malária resistente a drogas. *Acta Amazonica*, 7: 289.
- KITZMILLER, J.B.  
1976 — Genetics, cytogenetics and evolution of mosquitoes. *Advances in Genetics*, 18: 315-433.  
1977 — Chromosomal differences among species of *Anopheles* mosquitoes. *Mosquito Systematics*, 9: 112-122.
- KREUTZER, R.D.; KITZMILLER, J.B. & FERREIRA, E.  
1972 — Inversion polymorphism in the salivary gland chromosomes of *Anopheles darlingi* Root. *Mosquito News*, 32: 355-365.
- KREUTZER, R.D.; KITZMILLER, J.B. & RABBANI, M.G.  
1976 — Cytogenetically distinguishable sympatric and allopatric populations of the mosquito *Anopheles albicans*. *Acta Amazonica*, 6 (4): 473-481.
- KRIMBAS, C.B. & LOUKAS, M.  
1980 — The inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. *Evolutionary Biology*, 12: 163-234.
- LEVITAN, M.  
1958 — Non-random associations of inversions. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 23: 251-268.
- LEVITAN, M. & SALZANO, F.M.  
1959 — Studies of linkage in populations. III. An association of linked inversions in *Drosophila guaramunu*. *Heredity*, 13: 243-248.
- MILLER, D.D. & VOLKER, R.A.  
1972 — Salivary gland chromosome variation in the *Drosophila affinis* sub-group. V. The B and E chromosomes of "Western" and "Eastern" *Drosophila athabasca*. *J. Hered.* 63: 2-10.
- MORGAN, T.H.; BRIDGES, C.B. & SCHULTZ, J.  
1930 — The constitution of the germinal material in relation to heredity. *Yearb. Carneg. Inst. Wash.*, 29: 352-359.
- PESSOA, S.B. & MARTINS, A.V.  
1978 — *Parasitologia Médica*. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A.
- RACHOU, R.G.  
1958 — Algumas manifestações de resistência de comportamento de insetos aos inseticidas no Brasil. *Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais*, 10: 277-290.



- SALZANO, F.M.  
1955 — Chromosomal polymorphism in two species of the guarani group of *Drosophila*. **Chromosoma**, 7: 39-50.
- SCHREIBER, G. & GUEDES, A.S.  
1960 — Perspectivas citológicas na sistemática dos anofelinos (S.G. *Nyssorhynchus*). **Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais**, 12: 355-358.  
1961 — Cytological aspects of the taxonomy of anophelinos (subgenus *Nyssorhynchus*). **Bull. WLD. Hlth. Org.**, 24: 657-658.
- SCHULTZ, J. & REDFIELD, H.  
1951 — Interchromosomal effects on crossing over in *Drosophila*. **Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.**, 16: 175-197.
- STURTEVANT, A.H. & BEADLE, G.W.  
1936 — The relations of inversions in the X-chromosome of *Drosophila melanogaster* to crossing over and disjunction. **Genetics**, 21: 554-604.
- WASSERMAN, M.  
1963 — Cytology and phylogeny of *Drosophila*. **Amer. Nat.**, 896: 333.
- WHITE, G.B.  
1974 — Biological effects of intraspecific chromosomal polymorphism in malaria vector populations. **Bull Wld Hlth Org.**, 50: 299-306.

(Aceito para publicação em 05/08/81)