

MICHELE JAQUELINE DENCKER

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE INVERSÕES
CROMOSSÔMICAS HETEROZIGOTAS PARACÊNTRICAS EM
DROSOPHILA CARDINOIDES (DIPTERA, DROSOPHILIDAE)
DO SUL DA ILHA DE SANTA CATARINA - BRASIL**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Ciências Biológicas, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Daniela Cristina De Toni.

2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Dencker, Michele Jaqueline

ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE INVERSÕES CROMOSSÔMICAS
HETEROZIGOTAS PARACÊNTRICAS EM DROSOPHILA CARDINOIDES
(DIPTERA, DROSOPHILIDAE) DO SUL DA ILHA DE SANTA CATARINA
BRASIL / Michele Jaqueline Dencker ; orientadora,
Daniela Cristina De Toni - Florianópolis, SC, 2017.

58 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas. Graduação em Ciências Biológicas.

Inclui referências

1. Ciências Biológicas. 2. Citogenética. 3. Drosophila
cardinoides. 4. Grupo Cardini. 5. Inversões paracêntricas.
I. De Toni, Daniela Cristina. II. Universidade Federal de
Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

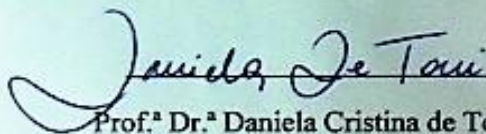
Michele Jaqueline Dencker

**ANÁLISE DE POLIMORFISMOS DE INVERSÕES
CROMOSSÔMICAS HETEROZIGOTAS PARACÊNTRICAS EM
DROSOPHILA CARDINOIDES (DIPTERA, DROSOPHILIDAE)
DO SUL DA ILHA SANTA CATARINA - BRASIL**

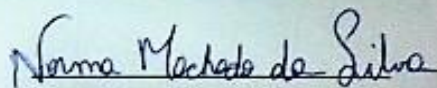
Florianópolis, 9 de fevereiro de 2017.

Prof.º Dr.º Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso

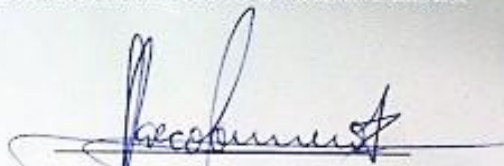
Banca Examinadora:



Prof.ª Dr.ª Daniela Cristina de Toni
Orientadora - Presidente
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.ª Dr.ª Norma Machado da Silva
Membro Titular
Universidade Federal de Santa Catarina



Prof.º M. Marcos Antônio Loureiro
Membro Titular
Universidade Federal de Santa Catarina

Para minha mãe e meus avós, que instigaram minha paixão pela biologia e não mediram esforços para que eu fosse mais longe.

AGRADECIMENTOS

Para as pessoas que estiveram comigo nesse trajeto ou em alguma parte dele, vocês foram essenciais para a realização deste. Agradeço em especial:

- À minha mãe e meus irmãos Bruna e Jorge, vocês são a razão para que eu busque meus sonhos e procure me tornar melhor.

- Ao meu pai, pelo apoio e conselhos no caminho, bem como pelo incentivo.

- Aos meus avós, por serem exemplo de dedicação, força e zelo.

- Aos meus tios, por tudo que me proporcionaram até aqui, especialmente sobre o conhecimento que não é recebido em sala de aula.

- À minha madrinha Marisa, por estar presente nos momentos importantes e me dar lembranças de afabilidade.

- À Dani, que além de orientadora foi amiga, pelas conversas e conselhos.

- Aos amigos e colegas de laboratório Luis, Bruna, Mauro, Leonardo, Daniela, Wilker e Marcos, pela ajuda cotidiana, pelas histórias que renderam boas risadas e por todo apoio.

- Às amigas: Ana Carolina, Sabrina, Camila, Tainá e Marcela, pela amizade, vocês contribuíram mais do que imaginam.

- Aos amigos do ballet e de infância, por me lembrarem de momentos únicos e pelo conforto das lembranças, amo vocês.

- Ao meu companheiro Douglas, pelo cuidado e paciência.

- À família Bittencourt, minha segunda família.

“Mas todo mundo explica
Explica Freud, o padre explica
Krishnamurti tá vendendo a explicação na
livraria, que lhe faz a prestação
Que tem Platão que explica,
Que explica tudo tão bem, vai lá que
Que todo mundo, todo mundo explica
O protestante, o alto-falante, o zen-budismo,
O Brahma e o Skol
Capitalismo oculta um cofre de fá, fá, fé,
finalismo
Hare Krishna dando a dica
Enquanto aquele papagaio curupaca implica
E com o carimbo positivo da ciência
Que aprova e classifica
O que é que a ciência tem?
Tem lápis de calcular
Que é mais que a ciência tem?
Borracha pra depois apagar
Você já foi ao espelho, nego?
Não?
Então vá!”
(Raul Seixas, 1978)

RESUMO

Inserida na Ordem Diptera, a família Drosophilidae é composta de moscas de tamanho pequeno a médio, com ciclo de vida holometábolo, que se distribuem ao longo do globo, ocupando uma variedade enorme de nichos. Drosófilas representam um grupo de grande importância para estudos na área da genética e evolução, principalmente sobre mecanismos de expressão gênica através da hereditariedade e de investigações sobre padrões de evolução. O subgênero *Drosophila* abriga dentro de sua classificação o grupo *Cardini*, e neste encontra-se *Drosophila cardinoides*, espécie mais basal no grupo e foco deste trabalho. Característica da região neotropical, *D. cardinoides* foi coletada em outros trabalhos no sul do Brasil e neles apresentou baixo polimorfismo de inversões paracêntricas em relação à outras espécies de seu grupo. As moscas utilizadas nesta pesquisa foram capturadas com rede sobre iscas de frutas com fermento em bandejas em dois pontos no mesmo local de coleta, na Caieira da Barra do Sul, área remanescente de Mata Atlântica. A partir de fêmeas selvagens foram estabelecidas 11 isolinhagens, mantidas em meio de cultura e temperatura constante de 17° C. A análise citogenética das lâminas feitas a partir das glândulas salivares das larvas de terceiro estágio das drosófilas, revelou um polimorfismo de inversões maior que o esperado para a espécie, com um total de 51 novas inversões descritas. Este resultado aponta para a importância da continuação dos estudos com essa e outras espécies do grupo *Cardini*, demonstrando diferenças nos achados capazes de preencher o conhecimento já obtido sobre esses organismos contribuindo para pesquisas na área da evolução, filogenia e genética.

Palavras-chave: Mata Atlântica secundária; Florianópolis; grupo *Cardini*; citogenética; mapa cromossômico; drosófilas.

ABSTRACT

Inserted in the Order Diptera, the family Drosophilidae is composed of small to medium size flies, with holometabolous life cycle, that are distributed throughout the globe, occupying a large variety of niches. *Drosophila* form a group of great importance for studies in the area of genetics and evolution, mainly on mechanisms of gene expression through heredity and research on patterns of evolution. The subgenus *Drosophila* has within its classification the Cardini group, and in this one is the *Drosophila cardinoides*, species more basal in the group and are the interests in this work. Characteristic of the neotropical region, *D. cardinoides* was collected in other works in the south of Brazil and in them presented low polymorphism of paracentric inversions in relation to other species of its group. The flies used in this research were captured with a net when flying over a tray containing fermented fruits. The trays are distributed in two points at the same collection site, at Caieira da Barra do Sul, a remnant area of the Atlantic Forest. From the wild females, 11 isolines were established, maintained in culture medium and constant temperature of 17° C. Cytogenetic analysis of slides made from the salivary glands of the third instar larvae of the drosophila showed a higher than expected inversion polymorphism for the species, with a total of 51 new inversions described. This result points to the importance of continuing studies with this species and others from Cardini group, showing differences in the findings capable of filling the knowledge already obtained about these organisms and contributes to the research in the area of evolution, phylogeny and genetics.

Keywords: secondary Atlantic Forest; Florianópolis; *Cardini* group; cytogenetic; chromosome map; *Drosophila*.

LISTA DE FIGURAS	
Figura 1- Classificação taxônomica da Família <i>Drosophilidae</i> (Diptera) até espécies do grupo <i>Cardini</i>	20
Figura 2- Espécime de <i>Drosophila cardinoides</i>	22
Figura 3- Imagem microscópica (1.000x) de um núcleo com cromossomos politênicos de <i>Drosophila cardinoides</i>	23
Figura 4- Cromossomos replicados com inversões.....	24
Figura 5- Mapa cromossômico de <i>Drosophila cardinoides</i> , com seus braços cromossômicos nomeados.....	25
Figura 6- Região Sul do Brasil destaque para área de coleta.....	29
Figura 7- Pontos de coleta.....	30
Figura 8- Isolinhas analisadas e respectivas inversões nomeadas para cada cromossomo de <i>Drosophila cardinoides</i>	33
Figura 9- Novas inversões descritas para o cromossomo X.....	34
Figura 10- Novas inversões descritas para o cromossomo 2L.....	34
Figura 11- Novas inversões descritas para o cromossomo 2R.....	35
Figura 12- Novas inversões descritas para o cromossomo 3L.....	35
Figura 13- Novas inversões descritas para o cromossomo 3R.....	36

LISTA DE IMAGENS

Imagem 1- Novas inversões para o cromossomo X, em ordem alfabética e de descoberta.....	36
Imagem 1.1- Novas inversões para o cromossomo X, em ordem alfabética e de descoberta.....	37
Imagem 2- Novas inversões para o cromossomo 2L, em ordem alfabética e de descoberta.....	38
Imagem 2.1- Novas inversões para o cromossomo 2L, em ordem alfabética e de descoberta.....	39
Imagem 3- Novas inversões para o cromossomo 2R, em ordem alfabética e de descoberta.....	40
Imagem 3.1- Novas inversões para o cromossomo 2R, em ordem alfabética e de descoberta.....	41
Imagem 3.2- Novas inversões para o cromossomo 2R, em ordem alfabética e de descoberta.....	42
Imagem 4- Novas inversões para o cromossomo 3L, em ordem alfabética e de descoberta.....	42
Imagem 5- Novas inversões para o cromossomo 3R, em ordem alfabética e de descoberta.....	43
Imagem 5.1- Novas inversões para o cromossomo 3R, em ordem alfabética e de descoberta.....	44

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
1.1 FAMÍLIA DROSOPHILIDAE, SUBGÊNERO <i>DROSOPHILA</i> E DROSOFILÍDEOS NA PESQUISA.....	19
1.2 GRUPO CARDINI E <i>DROSOPHILA CARDINOIDES</i>	20
1.3 ANÁLISE CITOGENÉTICA DE POLIMORFISMO DE INVERSÕES.....	22
2. OBJETIVOS.....	27
2.1 OBJETIVO GERAL.....	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 LOCAL DE COLETA.....	29
3.2 ESTOQUE.....	30
3.3 PREPARO E ANÁLISE CITOGENÉTICA.....	31
4. RESULTADOS.....	33
5. DISCUSSÃO.....	45
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
8. APÊNDICE - Artigo publicado na revista <i>Drosophila Information Service</i>, dezembro de 2016.....	57

1. INTRODUÇÃO

1.1 FAMÍLIA DROSOPHILIDAE, SUBGÊNERO *DROSOPHILA* E DROSOFILÍDEOS NA PESQUISA

Também conhecidas como moscas verdadeiras, as espécies que compõem a Ordem Diptera (Classe Insecta) somam mais de 150.000 em todo o globo, conferindo a esta ordem o título de quarto grupo com maior riqueza de espécies. Comparando essa Ordem com outros grupos de insetos, e considerando os níveis de abundância, diversidade e funções ecológicas em sistemas tropicais, por exemplo, Diptera tem potenciais representantes para análises ecológicas (Yeates e Wiegmann, 2005).

É nesse grande grupo que se encontra a família Drosophilidae, composta por moscas de tamanho pequeno a médio (1 - 8mm), com coloração que varia entre amarelo, marrom e preto (Wheeler, 1981). Com mais de 3.800 espécies (Bächli, 2016) estas moscas habitam diferentes altitudes em ambientes e climas distintos (Throckmorton, 1975 *apud* Gottschalk, 2004), não havendo apenas espécies que habitam originalmente o Ártico (Powell, 1997). É importante citar ainda que a família Drosophilidae engloba o gênero *Drosophila*, também de ecologia muito variada (Martins, 1996) e com uma característica comum de rearranjos cromossômicos, de interesse deste trabalho, as inversões cromossômicas (De Toni, 2002). Este, por sua vez, contém o subgênero *Drosophila*, o mais representativo do gênero citado e com maior abundância na região neotropical (Bächli, 2016). A Figura 1 pode elucidar a divisão taxonômica do grupo, em vermelho, temos a espécie de interesse deste trabalho.

Drosofilídeos se reproduzem em plantas, fungos e frutos - em processo de apodrecimento ou não - em um ciclo de vida holometábolo de no mínimo 10 dias. No geral, sua alimentação provém de leveduras e bactérias que decompõem os materiais citados acima, com pouquíssimas exceções (Carson, 1971; Powell, 1997).

A possibilidade de cultivá-los em laboratório por seu ciclo rápido de reprodução, bem como seu tamanho, torna essas moscas modelo de estudo para evolução, biologia do desenvolvimento, ecologia de populações e genética; ainda que as condições para isso divirjam para diferentes espécies (Powell, 1997; Sepel e Loreto, 2010). Há mais de cem anos a família *Drosophilidae* é utilizada por esses motivos, dando suporte tanto a estudos mais generalistas, quanto mais pontuais e de

certas doenças, como mal de Alzheimer, alcoolismo, envelhecimento, dentre outras aplicações (Sepel e Loreto, 2010).

Figura 1 – Classificação taxônomica da Família *Drosophilidae* (Diptera) até espécies do grupo *Cardini*.

Família	Subgrupo	Primeira descrição
<i>Drosophilidae</i>	<i>cardini</i>	
Gênero	<i>D. bedichecki</i>	Heed e Russel, 1971
<i>Drosophila</i>	<i>D. acutilabella</i>	Stalker, 1953
Subgênero	<i>D. cardini</i>	Sturtevant, 1916
<i>Drosophila</i>	<u><i>D. cardinoides</i></u>	Dobzhansky e Pavan, 1943
Grupo	<i>D. neocardini</i>	Streisinger, 1946
<i>Cardini</i>	<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. antillea</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

Fonte: modificado de Wildemann, 2011.

1.2 GRUPO *CARDINI* E *DROSOPHILA CARDINOIDES*

Moscas do grupo *Cardini* (Sturtevant, 1942) caracterizam-se pelas semelhanças morfológicas - com tamanho entre 2 e 5mm -, pigmentação abdominal e por seu potencial de colonização e exploração de nichos (Rohde *et al.*, 2006). O grupo se divide em dois subgrupos: *cardini* e *dunni*. O primeiro é composto por 9 espécies e o segundo por 7 espécies, sendo que o subgrupo *cardini* tem distribuição do México ao sul do Brasil, norte da Argentina e Chile e o subgrupo *dunni* é restrito às

Antilhas (Heed e Krishnamurthy, 1959; Heed, 1962; Heed e Russell, 1971); a Figura 1 mostra a classificação dos subgrupos e suas espécies.

Heed e Krishnamurthy (1959) realizaram um dos estudos mais interessantes sobre esse grupo nas Índias Ocidentais, citando desde sua distribuição restrita principalmente à região Neotropical, padrões de clinas de pigmentação na distribuição das espécies no arquipélago de ilhas estudado e características citogenéticas. Lembram ainda que populações de ilhas possibilitam o estudo de fenômenos como o isolamento, além da possibilidade de reproduzir análises em laboratório.

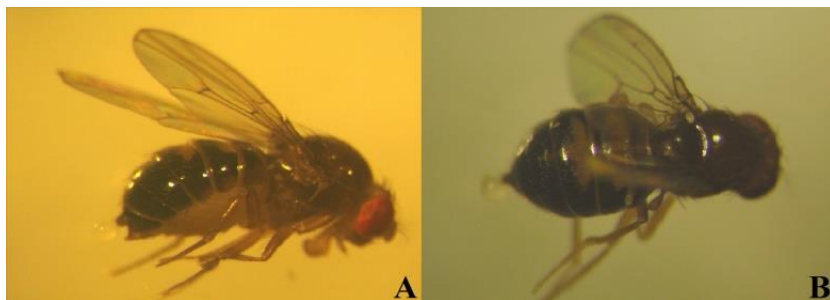
Mesmo sendo um grupo característico da região Neotropical, este ainda apresenta pouca atenção de pesquisadores, tanto ecológica quanto geneticamente, apesar do crescente número de trabalhos dos últimos anos. Dessa forma, estudos envolvendo locais remanescentes de Mata Atlântica e drosofilídeos são oportunos e essenciais para conhecimento da biodiversidade, pelo bioma citado estar sofrendo pressão antrópica, além de ter passado por ciclos de glaciação durante o período Pleistoceno, onde ocorreram importantes eventos de especiação. Além da biodiversidade, dinâmica populacional e similaridade, é possível entender sobre o processo evolutivo, já que populações marginais de espécies polítípicas, como as drosófilas, têm as condições para através de um ancestral comum, formar duas ou mais populações diferentes (De Toni, 2002).

A espécie de escolha deste trabalho é *Drosophila cardinoides*, adicionada ao subgrupo *cardini* em 1942 por Sturtevant e descrita como ancestral no subgrupo *cardini* (Heed e Russell, 1971). Dentro de seu subgrupo, esta espécie tem morfologia externa e de genitália próxima a *Drosophila procardinoides* e *Drosophila parthenogenetica* (Heed, 1962). Com tempo de vida médio de 15 dias (Markow, 2006), a espécie apresenta uma pigmentação mais próxima de marrom escuro - preto (Figura 2). Suas características taxonômicas detalhadas são apresentadas num trabalho de Vilela *et al.*, 2002.

Segundo Sene *et al.* (1980), no Brasil *D. cardinoides* é encontrada em formações xéricas, com preferência por locais de vegetação mais aberta. Porém, neste trabalho ela foi coletada após períodos de chuva, com a umidade relativamente alta e dias quentes. O mesmo foi relatado por De Toni (2002) sobre a coleta desta espécie. Conforme estudos anteriores, *D. cardinoides* não costuma ser abundante nas coletas no sul do Brasil, principalmente comparada à outras espécies do grupo, como *Drosophila polymorpha* (De Toni e Hofmann, 1994; De Toni, 2002; Schmitz *et al.*, 2007). Esta espécie já foi coletada em outros

trabalhos na região sul do Brasil e em Santa Catarina, sem receber atenção exclusiva para seu polimorfismo de inversões no ponto de coleta deste trabalho (De Toni *et al.*, 2001; Schmitz *et al.*, 2007; Cordeiro *et al.*, 2014).

Figura 2 – Espécime de *Drosophila cardinoides*. Em A, vista lateral; em B, vista dorsal.



Fonte: modificado de <www.asmoscas.shutterstock.com>.

1.3 ANÁLISE CITOGENÉTICA DE POLIMORFISMO DE INVERSÕES

Cromossomos politênicos são conhecidos como cromossomos gigantes e foram descritos por Balbiani (1881) como estruturas nucleares em células gigantes das glândulas salivares e dos túbulos de Malpighi de larvas da mosca do gênero *Chironomus*. Foi em 1931 que Alfred Sturtevant publicou a evidência de uma primeira inversão, após inventar o mapeamento genético (Kirkpatrick, 2010). A análise dos cromossomos politênicos com inversões (Figura 3) tornou-se então um sistema muito estudado no grupo *Drosophila*. Tais inversões têm auxiliado em estudos de filogenia, mecanismos meióticos, seleção natural e outras forças evolutivas (Ananina *et al.*, 2004). Inversões fazem parte de uma classe de mutações cromossômicas, caracterizadas pela quebra em dois pontos de um segmento de DNA, o qual é reinserido no mesmo local, mas em ordem invertida (Figura 4).

Inversões fazem parte de uma classe de mutações cromossômicas, caracterizadas pela quebra em dois pontos de um segmento de DNA, o qual é reinserido no mesmo local, mas em ordem invertida (Figura 4). A maioria tem tamanho pequeno (<1KB) e são divididas em dois tipos: pericêntrica e paracêntrica. A primeira inclui

um centrômero e diminui a viabilidade gamética de heterozigotos, a segunda - foco deste trabalho - é mais comum e não engloba a região do centrômero, muito provavelmente por não afetar diretamente o valor adaptativo de uma população. Alguns anos após seu trabalho de 1931, Sturtevant já havia demonstrado que na transmissão genética as inversões quando em heterozigose, suprimiam a recombinação gênica (Kirkpatrick, 2010).

Figura 3 - Imagem microscópica (1000x) de um núcleo com cromossomos politênicos de *Drosophila cardinoides*. Em destaque, uma inversão paracêntrica.

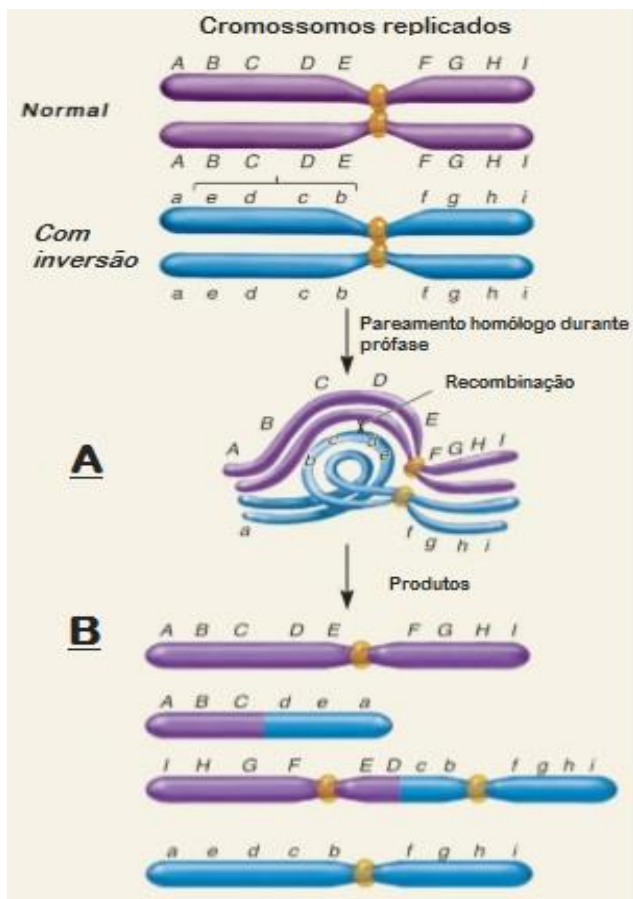


Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Powell (1997) assinalou que inversões paracêntricas não estão em desvantagem seletiva para que ocorram em populações do gênero *Drosophila*, e que sua fixação não é tão incomum. Também citou que inversões relacionadas tendem a estar agrupadas geograficamente, como demonstrado em alguns trabalhos que acharam padrões de clinas relacionados à inversões. Porém, os fatores que envolvem a origem das inversões e permanência destas em heterozigose, podem ser tão diversos

quanto o número de espécies em que ocorrem (Wasserman e Wasserman, 1992).

Figura 4 - Cromossomos replicados. Em A, detalhe de a inversão se comporta para manter o pareamento de bases correto. Em B, os cromossomos produto da inversão.

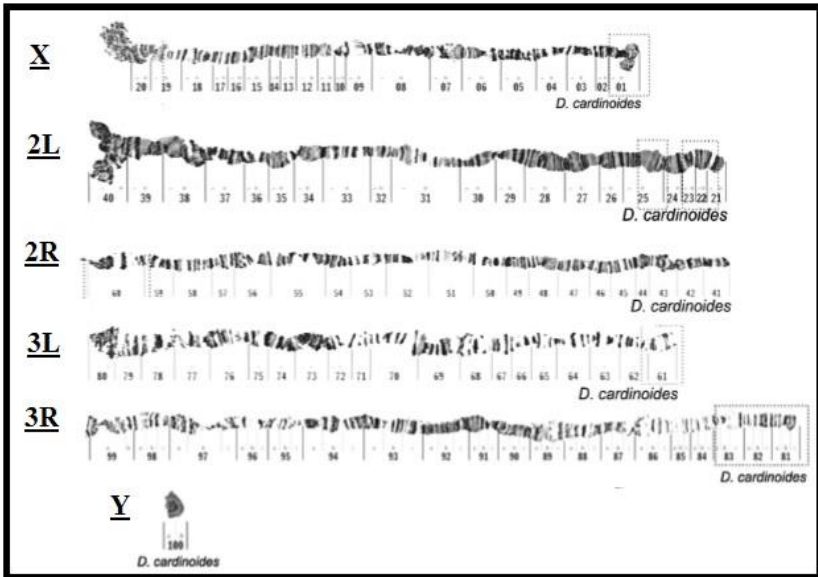


Fonte: modificado de Brooker, 2012.

Citogeneticamente *D. cardinoides* tem cromossomos diploides (2n) igual a 8, com seu núcleo constituído por dois pares de cromossomos submetacêntricos (cromossomos II e III - sendo que cada par tem um braço denominado "R" e outro denominado "L"), um cromossomo pontual (IV), um par sexual acrocêntrico (X) e o

cromossomo Y é heterocromático, não sendo distinguido da região centromérica (Figura 5). Cada um destes braços foi denominado pelas letras A, B, C, D e E por Muller podendo então ser chamados de elementos de Muller (1940).

Figura 5- Mapa cromossômico de *Drosophila cardinoides*, com seus braços cromossômicos nomeados.



Fonte: modificado de Cordeiro *et al.*, 2014.

A ocorrência de recombinações dentro de uma alça de inversão tende a diminuir a frequência de gametas normais e funcionais por gerar produtos meióticos não viáveis (Garcia, 2006). Porém, como há um número considerável 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).

A análise dos polimorfismos de inversões é feita através de padrões de bandas claras e escuras (Figura 5), as quais se apresentam dessa maneira devido a diferentes graus de compactação da cromatina bem como presença de determinadas proteínas. As bandas desses cromossomos podem reorganizar-se em sua espessura, espaçamento e padrão de expressão temporal, formando assim os chamados *puffs*, regiões de alta expressão gênica e que visualmente são maiores que o

resto do cromossomo e que nos permitem identificar cada cromossomo, criando um mapa cromossômico (De Toni *et al.*, 2001).

Trabalhos de genômica comparativa estão revelando que os cromossomos são estruturalmente mais dinâmicos do que Dobzhansky supôs (Kirkpatrick, 2010). Um dos pontos mais importantes e que intrigam na trajetória da pesquisa de cromossomos politênicos em *Drosophila*, é que durante a evolução deste gênero ocorreram várias reordenações cromossômicas, inclusive inversões de segmentos, que se fixaram em cada espécie (De Toni *et al.*, 2001). Tais inversões têm auxiliado em estudos de filogenia, mecanismos meióticos, seleção natural e outras forças evolutivas (Ananina *et al.*, 2004).

Espécies que habitam áreas ricas em diversidade, como o Cerrado e a Mata Atlântica, bioma deste estudo, apresentam um número de inversões maior do que outras áreas (Da Cunha *et al.*, 1953) isto torna o presente trabalho necessário e importante para compreender mais e melhor este fenômeno. Quase um século após a descoberta de Sturtevant, ainda procura-se entender como e porque inversões evoluem (Kirkpatrick, 2010).

1. OBJETIVOS

1.1 OBJETIVO GERAL

- Detectar polimorfismos de inversão paracêntrica em cromossomos politênicos de *Drosophila cardinoides* capturadas na Caieira da Barra do Sul, Ilha de Florianópolis, SC.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Coletar, triar e estabelecer isolinhagens com as fêmeas de *Drosophila cardinoides*;

- Confeccionar lâminas com as glândulas salivares de larvas de terceiro estágio destas isolinhagens;

- Analisar as lâminas e fotografar as inversões cromossômicas, registrando-as;

- Contribuir para atualização do mapa cromossômico da espécie;

- Analisar a relação entre aspectos ecológicos e genéticos destes polimorfismos na natureza.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE COLETA

Foram realizadas coletas em uma área pertencente à porção insular do Parque Estadual da Serra do Tabuleiro. O local situa-se ao sul de Florianópolis, na Caieira da Barra do Sul (Figura 6). Dois pontos de coleta foram utilizados, sendo que um ficava mais no interior da mata e outro mais próximo à borda (Figura 7). O local está em uma região de transição entre Mata Atlântica (com vegetação em estágio secundário de regeneração, denominado capoeirão) e uma área urbana. A grande maioria dos indivíduos da espécie deste estudo foi capturada no ponto mais próximo à borda da vegetação.

Figura 6 - Em A, destaque para a região Sul do Brasil; em B o marcador vermelho representa o local de coleta ao sul da Ilha de Florianópolis (SC) com detalhe para a área continental do Parque Estadual da Serra do Tabuleiro (Coordenadas S 27°48'; O 48° 56').



Fonte: modificado de <www.google.com.br/maps>.

Figura 7 - Em A o ponto localizado no interior da mata; B representa o ponto de coleta na borda da mesma.



Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

3.2 COLETA DAS AMOSTRAS

Drosofilídeos foram capturados através do uso de rede entomológica sobre bandejas apoiadas no chão com bananas picadas, outras frutas e fermento. Após 2 ou 3 dias era passada a rede entomológica e os insetos coletados nesta eram colocados em frascos com papel umedecido e levados até o laboratório.

No laboratório as moscas coletadas foram triadas através de uma breve eterização e suas características morfológicas externas (Freire Maia e Pavan, 1949) foram analisadas num microscópio estereoscópico para selecionarmos a espécie deste estudo. Fêmeas foram separadas e obtivemos 11 isolinhagens, mantidas em vidros com meios de cultura segundo Bizzo *et al.* (2012) com algumas modificações na quantidade dos ingredientes e com o adicional de Nipagin (Tabela 1).

Tabela 1. Ingredientes utilizados para fazer os meios de cultura.

Ingredientes	Quantidade
Flocos de Batata	10g
Água	400ml
Fermento	10g
Melado	15g
Ácido propiônico	4ml
Agar-agar	4g
Nipagin	4g

Esses ingredientes, exceto os flocos de batata, eram misturados e fervidos; após esfriar, eram misturados aos flocos de batata já nos vidros. As linhagens foram mantidas à temperatura constante de 17°C.

3.3 PREPARO E ANÁLISE CITOGENÉTICA

Após o estabelecimento das isolinhagens em meio de cultura, larvas de terceiro estágio foram selecionadas e retiradas do meio de cultura para solução fisiológica. Na solução fisiológica foram dissecadas, para obtenção de suas glândulas salivares. Utilizando como base o preparo citogenético de Ashburner (1967) com algumas modificações, as glândulas passaram por soluções de ácido clorídrico 1N (30 segundos) e ácido acético 45% (2 minutos). Após isso, eram colocadas na lâmina, sob o corante Orceína acética (5 a 7 minutos) e por fim, recebiam uma gota de uma solução contendo ácido acético (9 ml), ácido láctico (6 ml) e água (3 ml). Por fim, a lamínula era colocada para realização do *squash*, técnica de esmagamento e distribuição das células

glandulares, para melhor visualização dos núcleos cromossômicos ao microscópio.

Na análise microscópica, as inversões foram fotografadas e analisadas utilizando o mapa cromossômico proposto por Rohde e Valente (1996) e por Cordeiro *et al.*, (2014, modificado). > Tiro o “modificado”? Deu pra entender?

4. RESULTADOS

De fevereiro a abril e de agosto a outubro de 2015 e 2016 foram coletados aproximadamente 50 indivíduos de *D. cardinoides*. Devido a dificuldade de criação em laboratório, apenas 11 linhagens foram estabelecidas. Nestas, foram registradas 51 novas inversões paracêntricas para a espécie, onde todos os cromossomos da espécie e todas as linhagens apresentaram alguma inversão. Além das novas inversões, foram observadas 3 inversões já registradas para a espécie no cromossomo 3L (Figura 8). As nomeadas A e B descritas por Rohde e Valente (1996) e E por De Toni (2002). As inversões foram nomeadas seguindo a ordem alfabética e por ordem de descoberta.

Figura 8 - Isolinhagens analisadas e respectivas inversões nomeadas para cada cromossomo de *Drosophila cardinoides*. Inversões com (*) já descritas.

Isolinhagens	Braços cromossômicos e respectivas inversões				
	X	2L	2R	3L	3R
L24	-	A D H J I	A H I J K	-	A F H M
L25	F	B D K	N L	B* G H F	
L31	A H	D	C		K J
L36	-	D	B J	H I	-
L54	-	B C D G	A C G H	F	C G H I J K
L60	A C B E D	A C D E F	A B C D E F	A* E* F G	A B C D E F H
L62	E	D	-	-	L
L70	A I	G	D L M	-	-
L71	G	K	C	H	C G H
L80	-	D	-	-	H G
L87	-	D	J	-	-

O braço cromossômico que mais apresentou inversões foi o 2R (14 novas inversões), seguido por 3R (13), 2L (11), X (9) e 3L (4) (Figuras 9 a 13).

Figura 9 - Novas inversões descritas para o cromossomo X com seus respectivos pontos de quebra (Modificado de Cordeiro *et al.*, 2014).

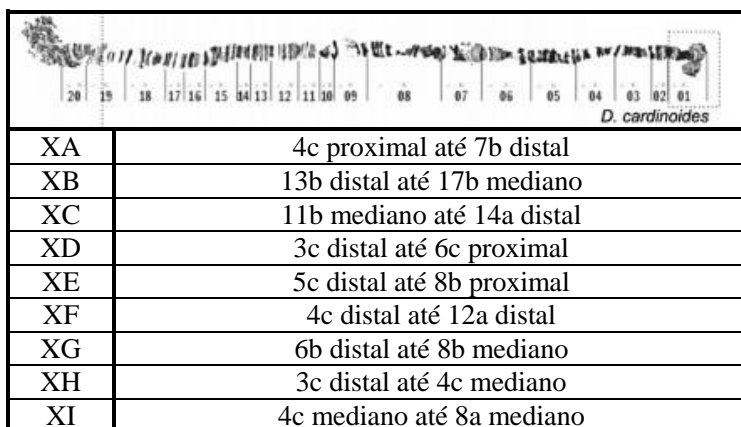


Figura 10 - Novas inversões descritas para o braço cromossômico 2L com seus respectivos pontos de quebra (Modificado de Cordeiro *et al.*, 2014).

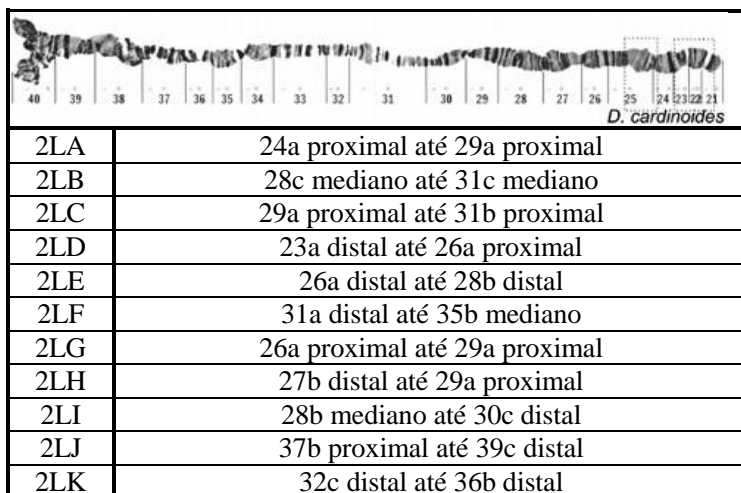
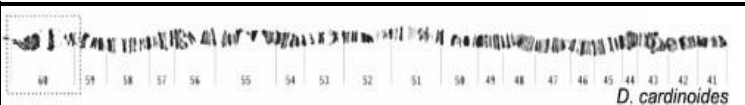
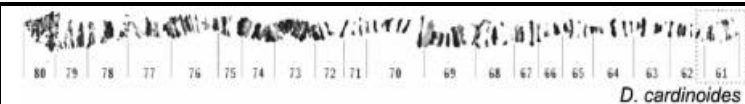


Figura 11 - Novas inversões descritas para o braço cromossômico 2R com seus respectivos pontos de quebra (Modificado de Cordeiro *et al.*, 2014).




2RA	49b distal até 56c distal
2RB	54c distal até 57c distal
2RC	42a distal até 46b distal
2RD	58c distal até 60c distal
2RE	50a proximal até 60c distal
2RF	52c distal até 58a mediano
2RG	50c distal até 58c distal
2RH	57a distal até 59c proximal
2RI	46a proximal até 48b mediano
2RJ	47c distal até 50c proximal
2RK	54c proximal até 56b mediano
2RL	50a mediano até 53c distal
2RM	51a proximal até 53a distal
2RN	52c distal até 58a proximal

Figura 12 - Novas inversões descritas para o braço cromossômico 3L com seus respectivos pontos de quebra (Modificado de Cordeiro *et al.*, 2014).



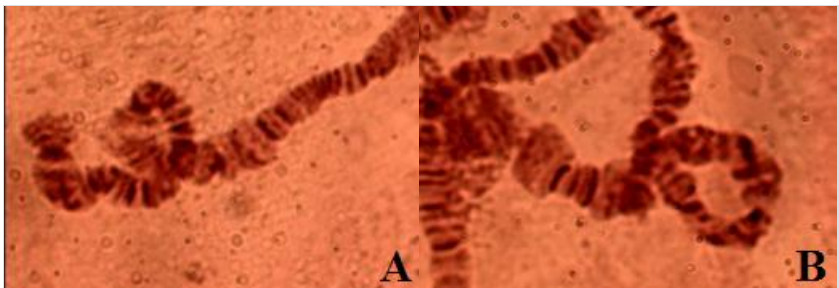
3LF	62a proximal até 67a mediano
3LG	68b mediano até 71b distal
3LH	61a distal até 63b distal
3LI	69b distal até 66b distal

Figura 13 - Novas inversões descritas para o braço cromossômico 3R com seus respectivos pontos de quebra (Modificado de Cordeiro *et al.*, 2014).

 <i>D. cardinoides</i>	
3RA	92a distal até 94c proximal
3RB	93a distal até 97b mediano
3RC	93c proximal até 94a proximal
3RD	91b distal até 93c distal
3RE	89b distal até 94a distal
3RF	82c distal até 84b mediano
3RG	83b distal até 85bdistal
3RH	82a proximal até 87c distal
3RI	92c distal até 93c proximal
3RJ	85c proximal até 87a proximal
3RK	90c mediano até 92b proximal
3RL	82a proximal até 86c distal
3RM	97b até 99a proximal

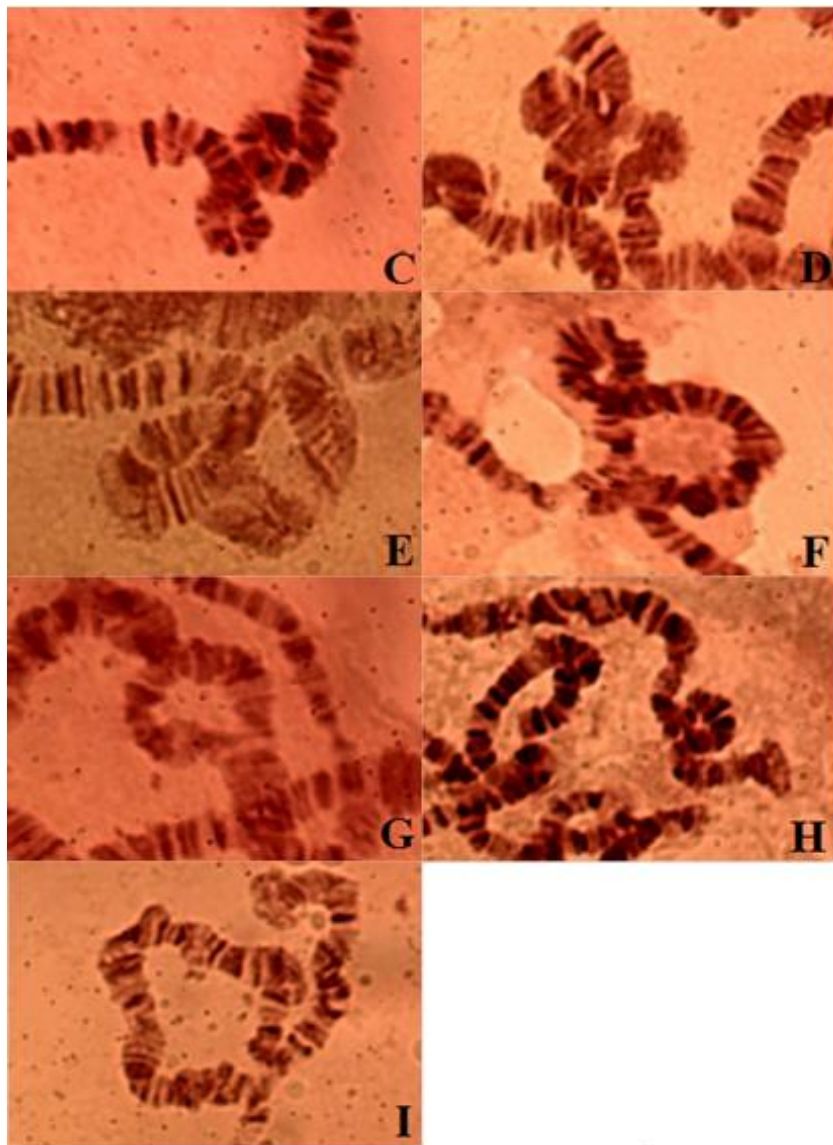
Devido ao grande número de inversões descritas neste trabalho, as imagens a seguir tratam das versões de forma pontual ao invés do núcleo inteiro com todos os braços cromossômicos da espécie.

Imagem 1 - Novas inversões para o cromossomo X, em ordem alfabética e de descoberta.



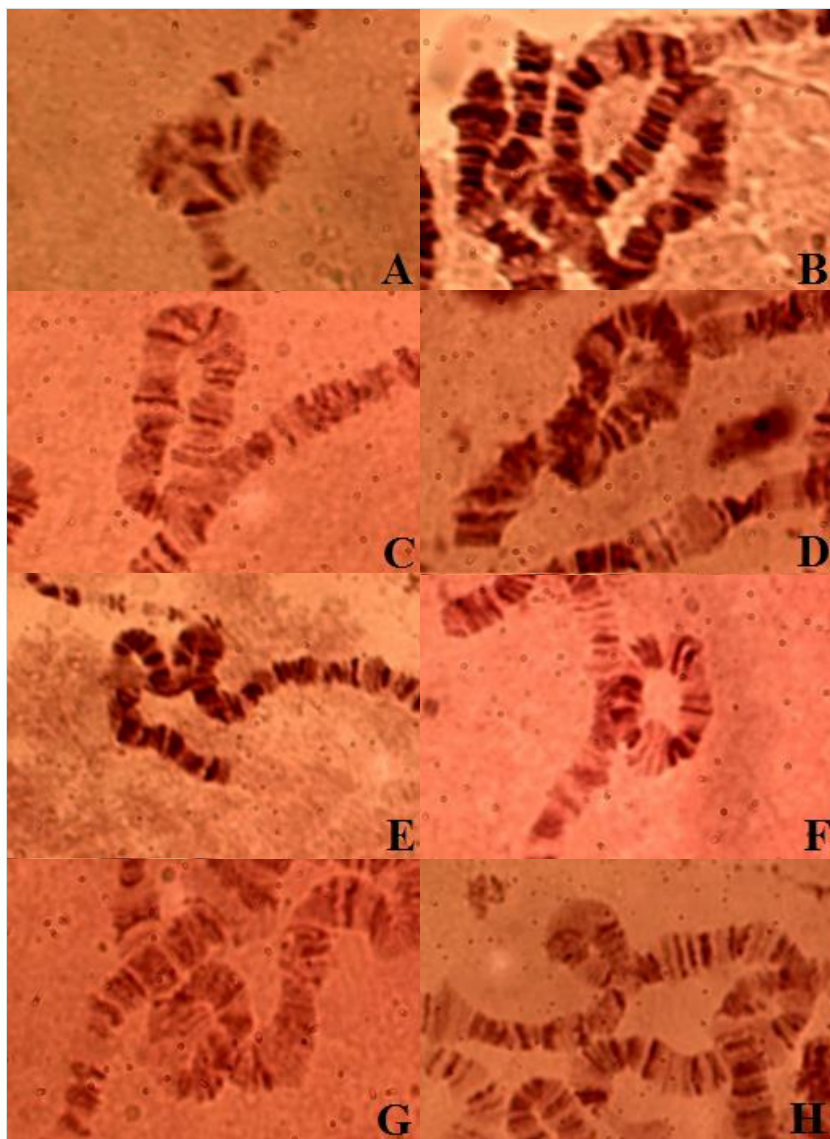
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 1.1 – Novas inversões para o cromossomo X, em ordem alfabética e de descoberta.



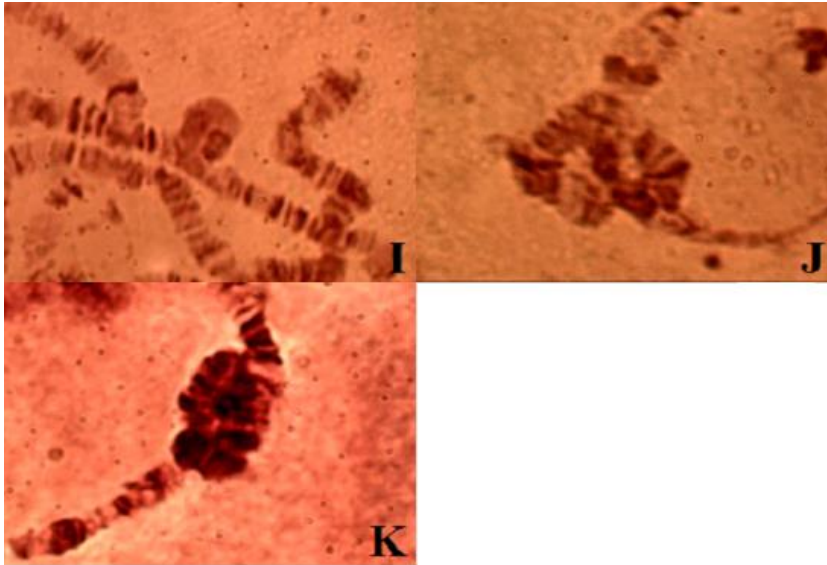
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 2 – Novas inversões para o braço cromossômico 2L, em ordem alfabética e de descoberta.



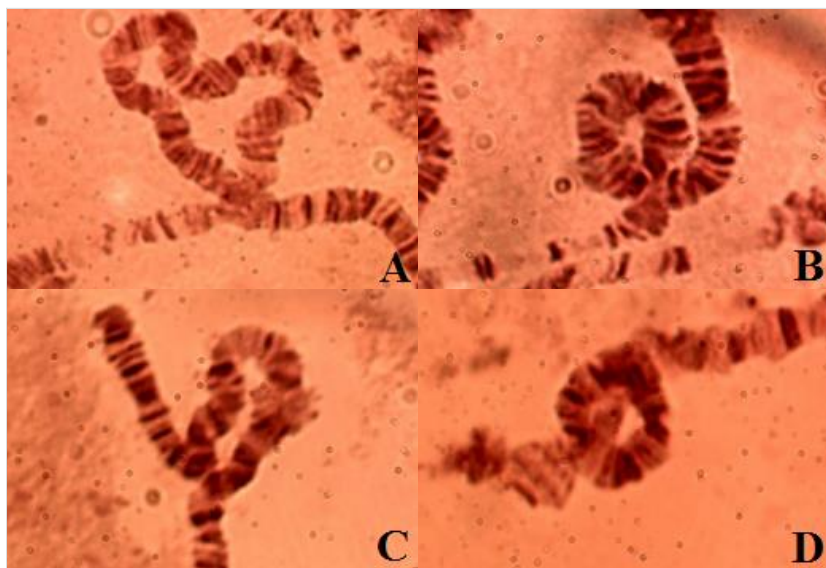
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 2.1 – Novas inversões para o braço cromossômico 2L, em ordem alfabética e de descoberta.



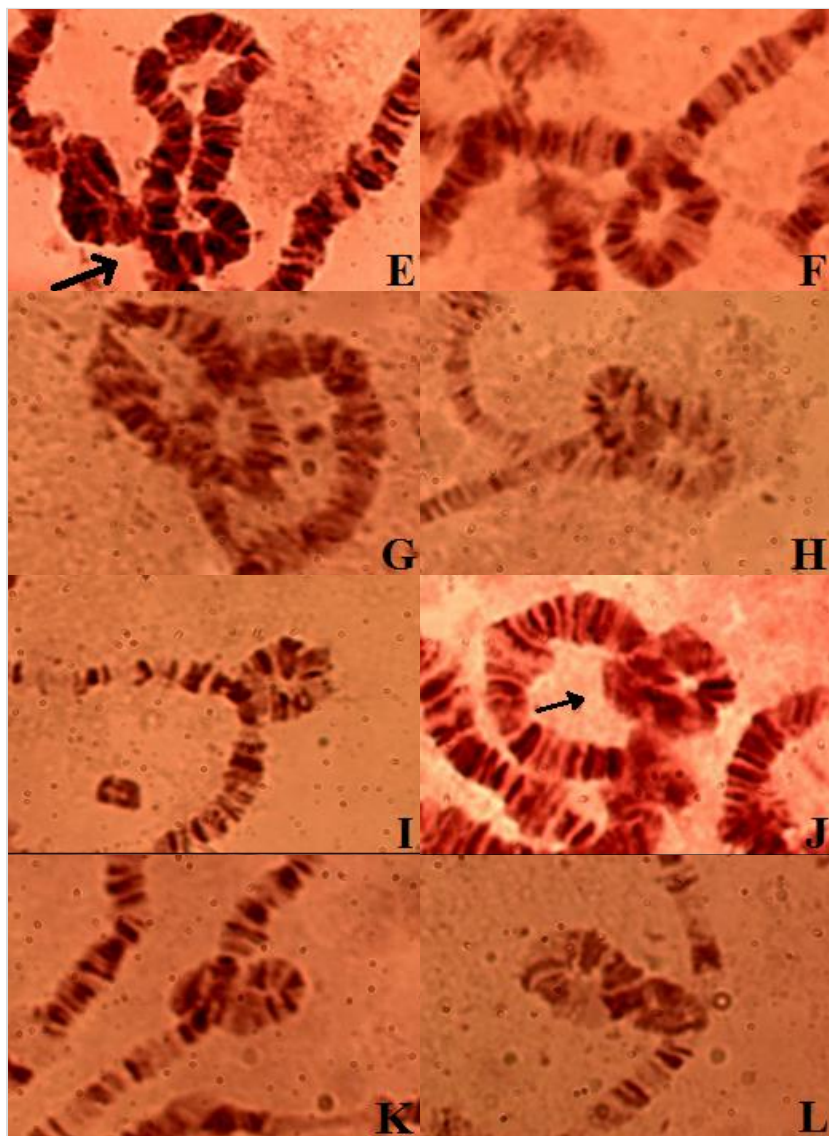
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 3 - Novas inversões para o braço cromossômico 2R, em ordem alfabética e de descoberta.



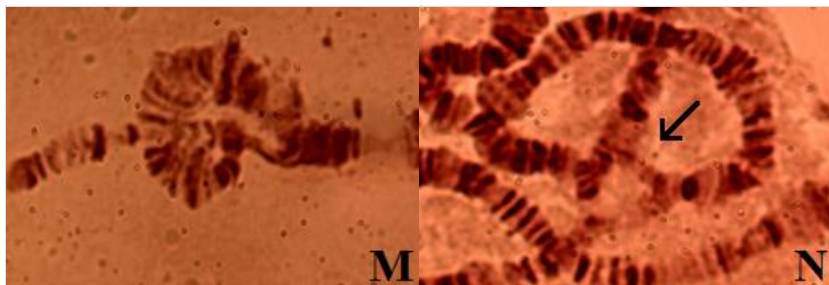
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 3.1 - Novas inversões para o braço cromossômico 2R, em ordem alfabética e de descoberta.



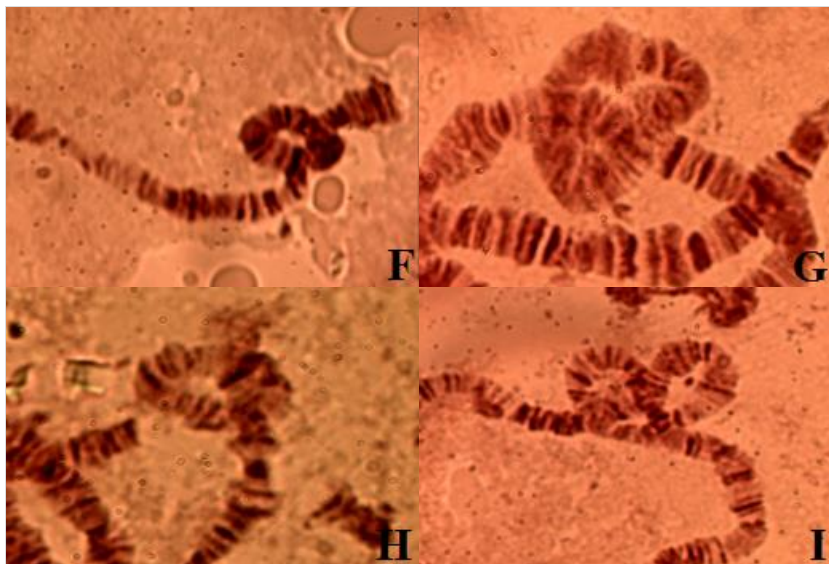
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 3.2 - Novas inversões para o braço cromossômico 2R, em ordem alfabética e de descoberta.



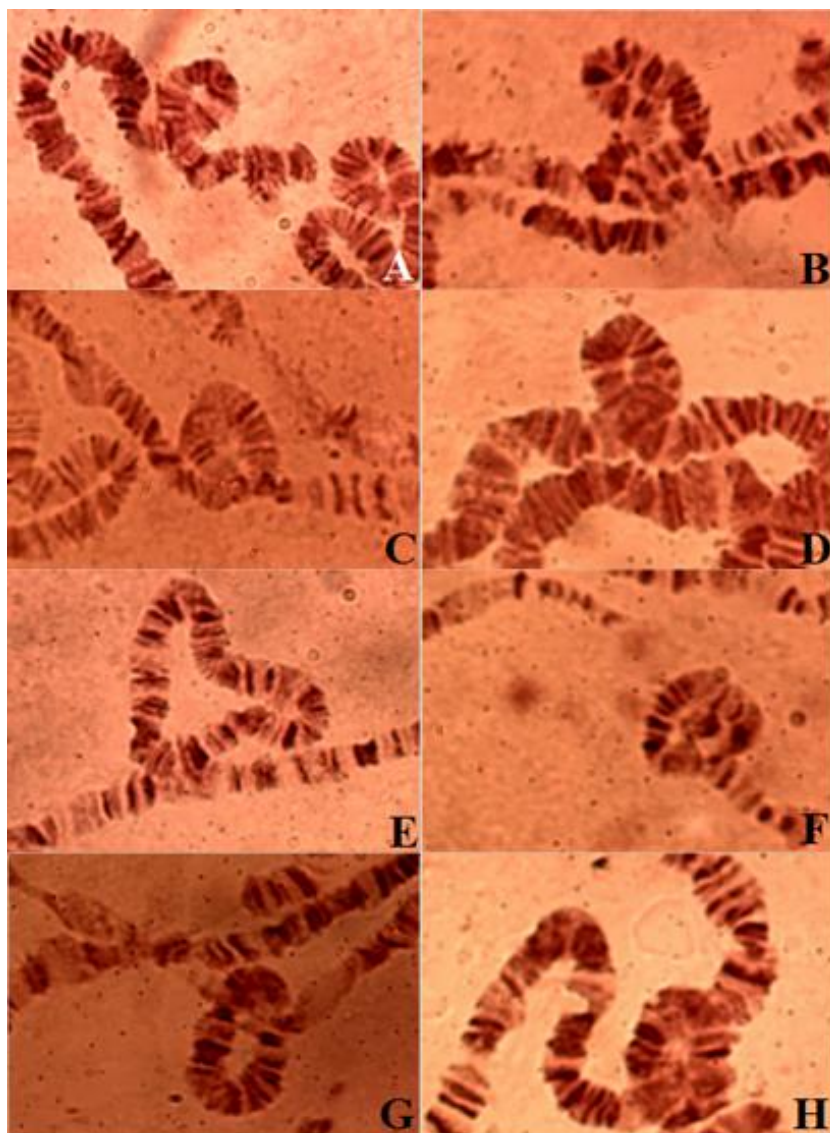
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 4 - Novas inversões para o braço cromossômico 3L, em ordem alfabética e de descoberta.



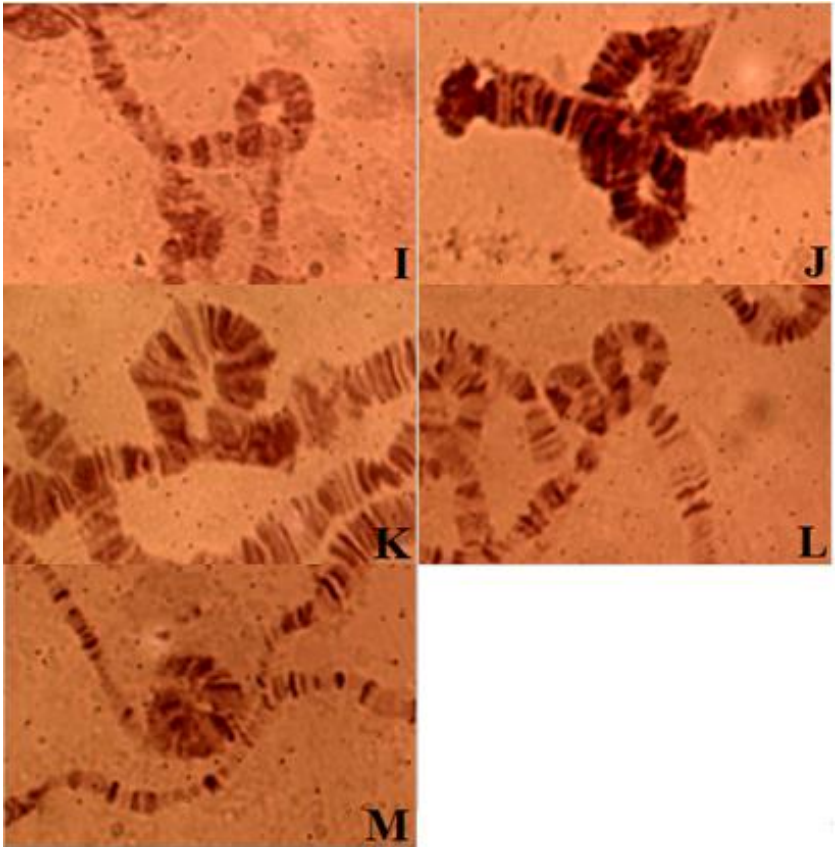
Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 5 - Novas inversões para o braço cromossômico 3R, em ordem alfabética e de descoberta.



Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

Imagem 5.1 - Novas inversões para o braço cromossômico 3R, em ordem alfabética e de descoberta.



Fonte: arquivo da autora do presente trabalho.

O cromossomo Y desta espécie é muito pequeno e totalmente heterocromático (Figura 5) não sendo possível visualizar inversões com a mesma técnica utilizada nos outros cromossomos politenizados.

5. DISCUSSÃO

A partir das isolinhagens utilizadas, com uma amostragem relativamente baixa para as análises realizadas, os resultados apresentados com um número tão alto de polimorfismos de inversão chamam atenção para um grau de polimorfismo nunca encontrado antes, para nenhuma espécie do grupo *Cardini*. Dados tais resultados, algumas das novas inversões foram documentadas em artigo intitulado “New chromosomal paracentric inversions in *Drosophila cardinoides* (Diptera, Drosophilidae) at Santa Catarina Island, South of Brazil.” (Dencker *et al.*, 2016).

Rohde e Valente (1996) descreveram quatro inversões (A,B,C e D) para a espécie, todas elas situadas no braço cromossômico 3L. Mais tarde, De Toni (2002) registrou mais uma inversão neste mesmo braço cromossômico, nomeada 3LE. As populações do primeiro estudo citado acima provinham de Porto Alegre (RS); já do segundo estudo citado, provinham de pontos da Ilha de Santa Catarina e continente (devemos considerar que a amostragem continental deste trabalho foi menor), sem estudos prévios para a Caieira da Barra do Sul. Destes trabalhos realizados podemos considerar alguns pontos comparando com os resultados aqui encontrados. O primeiro é sobre o alto número de inversões nas ilhas: De Toni (2002) verificou que as populações insulares, inclusive de *D. cardinoides*, foram mais polimórficas que as continentais; bem como em estudo anterior (De Toni *et al.*, 2001) onde o mesmo ocorreu para populações insulares de *Drosophila polymorpha*, *Drosophila cardinoides* e *Drosophila cardinoides* (grupo *Cardini*). Essa informação das populações insulares serem mais polimórficas que as continentais fica à contramão do que outros autores haviam encontrado até então para espécies do grupo *Drosophila*, onde populações continentais eram consideradas mais polimórficas que as insulares. Rohde e Valente (1996) corroboram com a ideia das populações insulares citada. Elas trabalharam com *D. polymorpha* e encontraram apenas 1 inversão numa população continental, sendo que De Toni (2002) e De Toni *et al.* (2001) encontraram maior número de inversões paracêntricas heterozigóticas em populações insulares e menor número de inversões em área continental. Isso pode sugerir que talvez, ambientes insulares sejam mais favoráveis para este tipo de polimorfismo. Além disso, a vegetação de Mata Atlântica, com diferentes estágios sucessionais próximos da área de coleta, propicia uma gama muito variada de nichos ecológicos distintos, o que permitiria

o uso de diferentes recursos, os quais eventualmente poderiam estar envolvidos na seleção de cariótipos com distintas inversões. As inversões endêmicas encontradas por De Toni (2002) podem ser explicadas como ajuste das moscas a um ambiente menos homogêneo encontrado na Ilha. Também se concluiu neste último estudo, que as ilhas analisadas ofereciam as condições ideais para *D. cardinoides* e outras do grupo.

Um segundo ponto que devemos considerar é que no trabalho de Rohde e Valente (1996) foram utilizadas populações selvagens e de área urbana. Isso porque a espécie em foco está mais presente na borda das matas e próximo às habitações humanas, tendo sua frequência em regiões conservadas abaixo de 1% (Da Cunha *et al.*, 1953). Um estudo realizado na Caatinga observou que *Drosophila cardinoides* foi coletada apenas fora da área da reserva ambiental estudada, em locais no entorno desta (Oliveira, 2015) o que pode assinalar a preferência destas por áreas de maior estresse ambiental.

Todos os estudos realizados até o momento apontam para o fato de que durante a evolução do gênero *Drosophila*, diversas e numerosas reordenações cromossômicas foram produzidas (dentre elas as inversões) e se fixaram em cada espécie - com poucas exceções que não apresentam esse tipo de rearranjo (Powell, 1997). Em dípteros, tem sido considerado que a natureza das inversões cromossômicas é adaptativa (Dobzhansky, 1943; 1947; 1948; Stalker e Carson, 1948; Krimbas e Powell, 1992; De Toni, 2002).

Considerando então os polimorfismos cromossômicos adaptativos e balanceados, o grau de polimorfismo de uma espécie corresponde ao número e variedade de nichos ecológicos que as populações desta ocupam (De Toni, 2002 *apud* Da Cunha *et al.*, 1950, 1959; Da Cunha e Dobzhansky, 1954). Portanto, quanto maior o número de recursos e biótopos diferentes que uma espécie explorar, maior o número de polimorfismos adaptativos em comparação com espécies de nicho limitado, pois haveria diversificação de seleção sobre as inversões (Powell, 1997; De Toni, 2002). Tendo como bioma de coleta a Mata Atlântica, era esperada a presença de inversões, já que este ambiente, juntamente com o Cerrado, é considerado altamente diversificado e rico (Da Cunha *et al.*, 1953).

Além da natureza das inversões poder ser considerada adaptativa, há uma diferença em sua ocorrência por conta do hábitat e região geográfica. O que mais chama atenção dos pesquisadores é a comparação entre populações marginais e centrais de uma área de

distribuição de determinada espécie. O padrão encontrado em muitos casos é de maior número de inversões heterozigotas nas populações centrais, diminuindo quando em direção às margens de limite da população; a suposição para explicar isso é de que no centro de distribuição de uma espécie, sua ecologia seria ideal, ao contrário do que ocorreria nas margens. Porém, um estudo realizado por Prakash e Levitan (1973, *apud* Powell, 1997), não observou isso; eles encontraram alta taxa de heterozigosidade tanto na margem como no centro e não observaram polimorfismos de inversão para as aloenzimas que pesquisaram. Vale lembrar que esse ponto foi tratado considerando a fixação das inversões nas populações, e cita também que essa teoria do centro de dispersão/margem não foi testada suficientemente. Devemos salientar, contudo, que até hoje, nenhum estudo aprofundado com o cariótipo de *D. cardinoides* foi realizado, levantando os arranjos em populações naturais para que esta hipótese fosse eficientemente testada para esta espécie (Powell, 1997).

Outra questão levantada que vai na direção oposta do que vimos até aqui, é a falta de evidências de que inversões sejam diretamente relacionadas com o ambiente (Powell, 1997). Em estudos sobre polimorfismos em áreas de colonização por drosófilas, o baixo nível deste foi explicado pelo alto índice de homozigose da população dessa área (Fontdevila *et al.*, 1982). Contudo outros autores apontam para a intrínseca relação entre estes arranjos e o ambiente (Ranz *et al.*, 1997).

Considerando a diversidade dos nichos e de habitats citados acima, nosso trabalho aponta para a concordância com a ideia de que o resultado aqui encontrado está ligado a condições favoráveis do ambiente para a espécie utilizada, aumentando seu grau de polimorfismo para inversões paracêntricas (De Toni, 2002). A ocorrência de inversões paracêntricas heterozigotas não significa a fixação destas numa população, e é necessário circunstâncias precisas para sua fixação, o que raramente acontece em populações naturais. Quanto mais recente a inversão for, conforme ela modifique a interação dos alelos nela contida e dependendo de sua frequência na população, maiores as chances dela se estabelecer (talvez a única), caso em heterozigose. Ainda como critério está seu tamanho, quanto maior, maiores as chances de ter alelos favoráveis à aptidão, porém, a supressão de recombinações fica menos eficiente (Powell, 1997). Este fato poderá ser confirmado com a continuação deste estudo, mostrando, eventualmente a fixação de alguns arranjos ou a eliminação destes ao longo do tempo.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Segundo os objetivos do presente trabalho, foram analisadas inversões cromossômicas paracêntricas heterozigóticas para a espécie *D. cardinoides*, em um alto número nunca descrito para esta espécie ou para o grupo *Cardini*.

Esse sistema de rearranjo cromossômico é um dos mais estudados há quase cem anos e revelou até então, potencial para elucidar questões sobre genética de populações, evolução, filogenia e citogenética, tanto de drosofilídeos como de outros organismos.

Ayala e Coluzzi (2005) através desse tipo de rearranjo cromossômico estudaram modelos de especiação de recombinação suprimida comparando cariótipos distintos, como de drosófilas e *Anopheles gambiae*, vetor fatal da malária na África. Na genética e também biologia molecular as inversões que estão sob intensa seleção, aliadas a questões ambientais (como toxinas e mudanças de temperatura) podem ajudar a decifrar questões sobre elementos transponíveis e padrões de *loci*, demonstrando uma forte relação entre estas variáveis (Hofmann e Daborn, 2007).

Rohde e Valente (1996), De Toni (2002), Wildemann (2011; 2014) e Cordeiro (2009) utilizaram espécies do grupo *Cardini* para trabalhos pioneiros com polimorfismos de inversões, no sul do Brasil. Todos os citados realizaram análises citogenéticas das inversões e constituem um importante banco de dados sobre o assunto. Destaca-se o trabalho de Cordeiro (2009) por comparar inversões e padrões de bandas entre espécies analisando assim, a evolução do grupo *Cardini*.

Com o alto número de inversões encontradas neste trabalho, frente ao baixo número de indivíduos coletados e por consequência, isolinhagens estabelecidas, fica evidente a importância da continuação desse tipo de investigação para a espécie e para o grupo. É importante notar que questões ambientais são ligadas ao polimorfismo de inversões, e *D. cardinoides* vive numa área de transição, entre mata e locais de urbanização, demonstrando que essa relação é verdadeira e instigando a uma maior investigação dessa relação para a espécie e para estudos posteriores com outras populações. Além disso, foram acrescentadas cinquenta e uma novas inversões ao mapa cromossômico da espécie, contribuindo para o conhecimento sobre a evolução cariotípica desta espécie e de seu grupo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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*. **Chromosomal**, 27, p. 47-63.

Ayala, F.J.; Coluzzi, M., 2005. Chromosome speciation: humans, *Drosophila*, and mosquitoes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 102, p. 35–42.

Bächli, G. 2016. **Taxodros, the database on taxonomy of Drosophilidae**. Disponível em: <<http://www.taxodros.uzh.ch>>. Acesso em: janeiro de 2017.

Balbiani, E. G., 1881. Sur la structure du noyau des cellules salivares chez les larves de *Chiromonus*. **Zoologischer Anzeiger**, 4, p. 637-641.

Bizzo, L.; Vanderlinde, T.; Wildemann, B.; De Toni, D. C. 2012. Technical adaptations of instant medium for *Drosophila*. **Drosophila Information Service**, 95, p. 121-122.

Brooker, R. J., 2012. **Concepts of genetics**. New York: McGraw-Hill, 700 p.

Carson, H. L. 1971. The ecology of *Drosophila* breeding sites. In: **Harold L. Lyon Arboretum Lecture**, 2, 27 p.

Cordeiro, J. 2009. Elemento de transposição *micropia* e evolução cromossômica do subgrupo *cardini*, grupo *cardini* do gênero *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae). **Tese de Doutorado em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, Brasil, 198 p.

Cordeiro, J.; De Toni, D. C.; Valente, V. L. S., 2014. Chromosomal evolution in the *Drosophila cardini* group (Diptera, Drosophilidae): photomaps and inversion analysis. **Genetics**, 142(5), p. 461-472.

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, p. 193-202.

Da cunha, A. B.; Burla, H.; Dobzhansky, T. 1950. Adaptive chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni*. **Evolution**, 4, p. 212-235.

Da cunha, A. B.; Dobzhansky, T. 1954. A further study of chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. **Evolution**, 8, p. 119-134.

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

Dencker, M. J.; Fischer, L. W.; De Toni, D. C. 2016. New chromosomal paracentric inversions in *Drosophila cardinoides* (Diptera, Drosophilidae) at Santa Catarina Island, South of Brazil. **Drosophila Information Service**, 99, p. 42-43.

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), p. 347-35.

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), p. 329–337.

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

Dobzhansky, T. 1943. Genetics of natural populations. IX. Temporal changes in the composition of populations. **Genetics**, 28, p. 162-186.

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

Dobzhansky, T. 1948. Genetics of natural populations. XVI. Altitudinal and seasonal changes produced by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*. **Genetics**, 33, p. 158-176.

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, p. 843-851.

Freire Maia, N.; Pavan, C. 1949. Introdução do estudo de *Drosophila*. **Cultus**, 5, p. 1-70.

Garcia, A. C. L. 2006. Evolução Cromossômica da Superespécie *Drosophila paulistorum* e ecologia de populações marginais. **Tese de Doutorado em Biologia Animal**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 185p.

Gottschalk, M. S. 2004. Influência da urbanização sobre assembleias *Drosophilidae* na cidade de Florianópolis, SC, Brasil. **Tese de Doutorado em Biologia Animal**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 111p.

Heed, W. B.; Krishnamurthy, N. B., 1959. Genetic studies on the Cardini group of *Drosophila* in the west indies. University of Texas Publications, 5914, p. 155-179.

Heed, W. B. 1962. Genetic characteristics of island populations. University of Texas Publications, **Genetics**, 6205, p. 173-206.

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, p. 91-130.

Hofmann, A. A.; Daborn, P. J. 2007. Towards genetic markers in animal populations as biomonitors for human-induced environmental change. **Ecology Letters**, 10, p. 63-76.

Kirkpatrick, M., 2010. How and why chromosome inversions evolve. **PLoS Biology**, 8 (9). Disponível em: <<http://journals.plos.org/plosbiology/article?id=10.1371/journal.pbio.1000501>> Acessado em: janeiro de 2017.

Krimbas, C. B.; Powell, J. R. 1992. **Drosophila Inversion Polymorphism**. C.R.C. Press. Boca Raton, Florida, p. 2-52.

Markow, T. A.; O'Grady, P. M. 2006. **Drosophila: A guide of Species and Use**. Academic Press, London, cap. 3.

Martins, M. N. 1996. Drosófilas e outros insetos associados a frutos de *Parahanchornia amapa* dispersos sobre o solo da floresta. **Tese de Doutorado em Ecologia**, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 203 p.

Müller, J. H., 1940. Bearings of the *Drosophila* work on systematic, In *New Systematics*, ed Huxley. **Clarendon Press**, Oxford, p.185-284.

Oliveira, G. F.; Garcia, A. C. L.; Montes, A. M.; Jucá, J. C. L. A.; Valente, V. L. S.; Rohde, C. 2015. Are conservation units in the Caatinga biome, Brazil, efficient in the protection of biodiversity? An analysis based on the drosophilid fauna. **Tese de Doutorado em Biologia Animal**, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, cap. 3, p. 46-61

Powell, J. R. 1997. Progress and prospects in evolutionary biology: the *Drosophila* model. **Oxford: Oxford University Press**, caps. 1-3.

Ranz, J. M.; Segarra, C.; Ruiz, A. 1997. Chromosomal homology and molecular organization of Muller's elements D and E in the *Drosophila repleta* species group. **Genetics**, 145 (2), p. 281-95.

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

Rohde, C.; Garcia, A. C. L., Valiati, V. H., Valente, V. L. S. 2006. Chromosomal evolution of sibling species of the *Drosophila willistoni* group. I. Chromosomal arm IIR (Muller's Element B). **Genetica**, 126, p. 77-88.

Schmitz, H. J.; Valente, V. L. S.; Hofmann, 2007. Taxonomic survey of Drosophilidae (Diptera) from Mangrove Forests os Santa Catarina Islands, Southern Brazil. **Neotropical Entomology, Systemathics, Morphology and Physiology**, 36(1), p. 53-64.

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

Sepel, M. N. Lenira; Loreto, L. S. Élgio, 2010. **Genética na Escola**. Disponível em: <<http://geneticanaescola.com.br/>>. Acesso em: dezembro de 2014.

Stalker, H. D.; Carson, H. L. 1948. An altitudinal transect of *Drosophila robusta* Sturtevant. **Evolution**, 2, p. 295-305.

Sturtevant, A. H. 1931. Know and probable inverted sections of the autosomes of *Drosophila melanogaster*. **Publication Drosophila Institution**, 421, p. 1-27.

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

Throckmorton, L. H. 1975. The phylogeny, ecology and geography of *Drosophila*. In: King RC (ed) **Handbook of Genetics** . Plenum Press, New York, 3, p. 421-469.

Vilela, C., Silva, A.; Sene, F., 2002. Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* species within morphoclimatic domains of Brazil. III. The *Cardini* group. **Revista Brasileira de Entomologia**, 46(2), p. 139–148.

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

Wheeler, M. R. 1981. The Drosophilidae: A taxonomic overview. In **The Genetics and Biology of Drosophila** (M. Ashburner, H. L. Carson, and J. N. Thompson, Jr., Eds.). Academic Press, New York, 3, p. 1– 97.

Wildemann, B. 2011. Análise do polimorfismo de inversões cromossômicas em populações de *Drosophila polymorpha* do sul da Ilha de Santa Catarina. **Trabalho de conclusão de curso**, Universidade Federal de Santa Catarina, 38 p.

Wildemann, B. 2014. Análise do desenvolvimento e estudo do polimorfismo de inversão cromossômica de *Drosophila polymorpha* (Diptera, Drosophilidae) e sua relação com genes de choque térmico (HSPs) induzidos por estresse físico/químico. **Tese de mestrado em Biologia celular e do desenvolvimento**, Universidade Federal de Santa Catarina, 110 p.

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, p. 14-44.

8. APÊNDICE

Artigo publicado na revista *Drosophila Information Service*, dezembro de 2016.

42

Research Notes

Dros. Inf. Serv. 99 (2016)

Torres 2003, Ciênc. Agrotec. 27(6): 1264–1267; Schlesener, D.C.H., A.M. Nunes, J. Cordeiro, M.S. Gottschalk, and F.R.M. Garcia 2014, Cultivar HF 12: 6–8; Tochen, S., D.T. Dalton, N.G. Wiman, C. Hamm, P.W. Shearer, and V.M. Walton 2014, Environ. Entomol. 43: 501–510; Turica and Mallo 1961, Idia. Suppl. 6: 145–161; Vlach, J., 2013, <http://www.oregon.gov/oda/shared/documents/publications/ippm/spottdwingdrosophilaidakev.pdf>; Walsh, D.B., M.P. Bolda, R.E. Goodhue, A.J. Dreyes, J. Lee, D.J. Bruck, V.M. Walton, S.D. O'Neal, and F.G. Zalom 2011, J. Integr. Pest Manag. 2: 1–7; Wang, X.G., G. Kaçar, A. Biondi, and K.M. Daane 2016, Biol. Control 96: 64–71; Wertheim, B., R. Allemand, L.E.M. Vet, and M. Dicke 2006, Ecol. Entomol. 31: 216–226; Wiman, N.G., V.M. Walton, D.T. Dalton, G. Anfora, H.J. Burrack, J.C. Chiu, K.M. Daane, A. Grassi, B. Miller, S. Tochen, X. Wang, and C. Ioriati 2014, PLoS One 9: e106909.



New chromosomal paracentric inversions in *Drosophila cardinoides* (Diptera, Drosophilidae) at Santa Catarina Island, South of Brazil.

Dencker, M.J., L.W. Fischer¹, and D.C. De Toni¹

¹Laboratório de Drosofilóides, Departamento de Biologia Celular, Embriologia e Genética – Universidade Federal de Santa Catarina; Pós-Graduação em Biologia Celular e do Desenvolvimento, UFSC, Florianópolis, Brasil; e-mail: michele.dencker@gmail.com; Keywords: *Cardini* group, Forest Atlantic, Inversion polymorphisms, South America, Cytogenetic, Neotropical species.

Introduction

Included in the *Cardini* group, which is characterized by *Drosophila* with polymorphisms of abdominal pigmentation and inhabits neotropical region, *Drosophila cardinoides* is a representative species in southern Brazil that can be collected many times in the island of Santa Catarina, mainly on the border of the forest. This species is characterized by a dark abdominal pigmentation, wings and abdomen with bright appearance, but has the body morphology very similar to *D. procardinoides*, forming a monophyletic group. Thus, they are not taxonomically decisive features. Cytogenetically, the chromosomal inversions of *D. cardinoides* are more fixed, following the pattern of the *Cardini* group. According to previous studies, it was expected that the number of inversions of *D. cardinoides* was not so wide, since it is less polymorphic compared to other species, such as *Drosophila polymorpha*, for example. Even with significant advances on the chromosomal map of *D. cardinoides*, there are many gaps and investigations to be made in order to contribute to evolutionary and phylogenetic studies of this species group.

Material and Methods

In the southern part of the island of Florianópolis, in Caisera da Barra do Sul (Figure 1) there is a conserved Atlantic Forest area remaining at the Serra do Tabuleiro State Park, where *Drosophila* were collected in the years of 2015 and 2016 during summer and spring. For this, an entomological network was used over baits with bananas and yeast. From these collections, eleven isolinesages of *Drosophila cardinoides* were established, maintained in culture media at a constant temperature of 17°C. To obtain the polythenic chromosomes, cytological slides were prepared with third stage larvae using the Ashburner technique (1967) with small modifications and for the chromosomal analysis, the Rohde and Valente (1996) and Cordeiro *et al.* (2014) methods.



Figure 1. Point shows the collecting point at Florianópolis Island (S 27°48'; O 48°56').

Results

In addition, new inversions were detected (Figures 2 and 3) in all *Drosophila cardinoides* chromosome arms. The breaking points of the inversions of Figures 2 and 3 are described in Table 1.

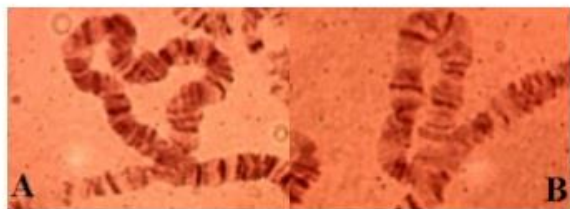


Figure 2. In A we have an IIRA inversion, and in B we have an IILC inversion.

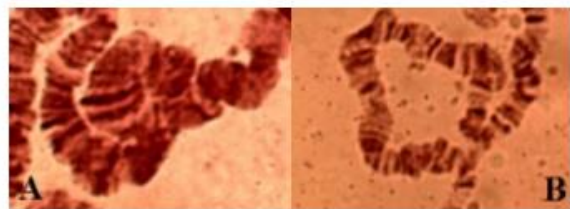


Figure 3. In A we have an IIIRA inversion, and in B we have an XA inversion.

Table 1. Break points inversion.

Chromosome arms	Break points
IIRA	56c distal a 49b distal
IILC	31b proximal a 29a proximal
IIIRA	92a proximal a 94c proximal
XA	4c proximal a 7b distal

Conclusions

Studies to date on paracentric heterozygous chromosome inversions in *Drosophila cardinoides* were essential for assembling the chromosomal map of the species and for elucidating the reason of why such high frequencies of this phenomenon are found in nature. Our analyses pointed for a high level of polymorphism in this species besides *D. polymorpha*, as well as the

necessity and importance of the continuity of investigations in the area, to help elucidate evolutionary, phylogenetic, and ecological issues of the karyotypic evolution of the *cardini* species group.

References: Ashburner, M., 1989. *Drosophila: A Laboratory Handbook*, New York: Cold Spring Harbor Laboratory; Cordeiro, J., D.C. De Toni, G.S. Silva, and V.L.S. Valente 2014, *Genetica* 142(5): 461–472; Rohde, C., and V.L.S. Valente 1996, *Brazilian Journal of Genetics* 19(1): 27–32; Heed, W.B., and J.S. Russell 1971, *University of Texas Publications* 6(7103): 91–130.

*Printed Copies of DIS can now be obtained from
lulu.com*