

# INTRODUÇÃO AO ESTUDO DA DROSÓFILA

NEWTON FREIRE-MAIA E CRODOWALDO PAVAN

Depto. de Biologia Geral da Fac. Filosofia, Ciências e Letras da Univ. de S. Paulo

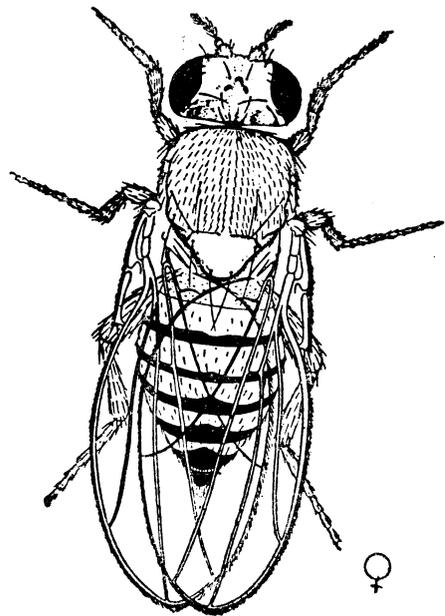
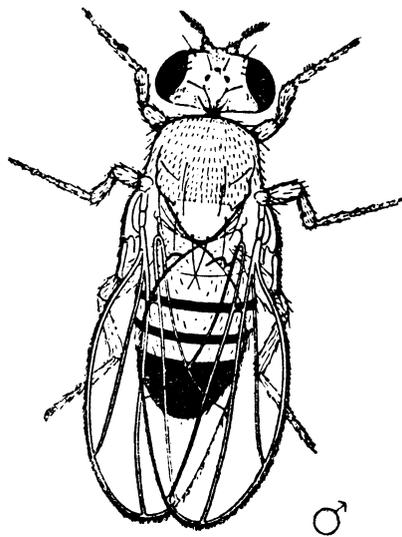
Separata de CULTUS Ano 1 N.o 5 [1949]

1950

# INTRODUÇÃO AO ESTUDO DA DROSÓFILA

NEWTON FREIRE-MAIA E CRODOWALDO PAVAN

Depto. de Biologia Geral da Fac. Filosofia Ciências e Letras da Univ. de S. Paulo



*Drosophila melanogaster*

Em 1943, durante a permanência entre nós, do ilustre geneticista americano Prof. Theodosius Dobzhansky e sob sua direta orientação, o Departamento de Biologia Geral da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo iniciou o estudo intensivo das espécies brasileiras de *Drosophila*. Desde então, inúmeras têm sido as consultas que, oralmente ou por cartas, pessoas interessadas nos dirigem sobre vários problemas relacionados a pesquisas sobre a citologia e a genética desses insetos. Tão grande foi o número de informações solicitadas sobre o assunto, que resolvemos, para maior difusão entre pesquisadores, professores e estudantes, publicar esta **Introdução ao Estudo de *Drosophila***, na qual abordaremos, em linhas gerais, alguns dos métodos e técnicas que o drosophilista usa em seu trabalho de campo ou como rotina diária em seu laboratório.

Esperamos que este pequeno manual seja, na realidade, um guia para os primeiros passos dos estudiosos interessados nos múltiplos problemas para os quais o gênero *Drosophila* tem se mostrado como material de escolha.

Agradecemos a cooperação valiosa que nos pres-

tou o Prof. André Dreyfus. O ambiente ideal para a pesquisa científica por ele criado no Departamento de Biologia Geral, constitue o fator principal da realização deste nosso manual. Sem o seu auxílio direto, fora do clima propício à investigação aqui existente, desprovidos do material e das facilidades técnicas que sua capacidade organizadora nos forneceu e caso nos faltasse a biblioteca por ele organizada, certamente que teria sido impossível a realização deste trabalho.

Ao Prof. Th. Dobzhansky, cujas aulas e palestras muito nos informaram sobre muito do que aqui se encontra e cujo convívio, orientando e sugerindo, durante longos meses, foi para nós um salutar exemplo de estudo e de trabalho, extendemos o nosso preito de profunda gratidão.

Aos colegas de laboratório que nos forneceram informações ainda não publicadas; a D. Marta Erps Breuer, pela parte fotográfica; a D. Anita Burla e srta. Ursula Bormann, por grande parte do trabalho datilográfico e pela realização de quasi todos os desenhos aqui insertos, os nossos agradecimentos.

# INTRODUÇÃO

As drosófilas são pequenos dípteros comumente encontrados sobre frutas fermentadas. Abundantes nos climas tropicais, podem ser, com facilidade, capturadas em nossos quintais e cozinhas. Sendo simples e pouco dispendiosos os métodos para sua criação com finalidade experimental, elas oferecem, ainda, a vantagem de terem um ciclo reprodutivo muito rápido a que se associa a sua alta capacidade prolífica, o que é de grande importância para a Genética. Em termos precisos, isto significa que um casal de *Drosophila melanogaster*, por exemplo, poderá produzir, em menos de um mês, à temperatura de 25°C, uma prole de várias centenas de indivíduos no espaço restrito de meia dúzia de garrafas de um quarto de litro, com uma despesa inferior a Cr\$ 5,00. A estas vantagens, acrescente-se a facilidade de captura, manipulação, transporte e alimentação, sem esquecer que a criação de *Drosophila*, não requerendo biotérios, pode ser feita na própria sala de trabalho do geneticista, não existindo inconvenientes de ordem higiênica que requeiram a manutenção de seus stocks em pontos dela afastados.

Todas estas vantagens de várias ordens seriam, porém, completamente anuladas se *Drosophila* não fosse, como é, o material mais adequado para o estudo de Citologia, Genética e Evolução.

Os estudos citológicos realizados em espécies deste gênero requerem apenas a técnica simples e rápida do esmagamento do cérebro ou das glândulas salivares de larvas, em orceina acética. Todos os passos requeridos na preparação de lâminas pelos métodos comuns (inclusão, corte, fixação, etc.), dispendiosos e lentos, são, aqui, substituídos por operações altamente vantajosas em todos os sentidos. Analisando os neurocitos, encontramos, com facilidade, as fases da mitose. Examinando as células das glândulas salivares deparamo-nos com os gigantescos cromosomas politênicos, característicos de alguns dípteros, nos quais podemos ver a dis-

continuidade do material hereditário expressa em discos de diferentes aspectos.

A genética de *Drosophila*, dentro da qual Morgan, Bridges, Sturtevant, Muller, Dobzhansky e tantos outros lançaram as bases gerais da ciência Genética, iniciada há quarenta anos atrás, vem oferecendo, cada vez mais, contribuições de ordem geral capazes de elucidar os mecanismos de transmissão hereditária em toda a sorte de animais e plantas. E' realmente inestimável, neste ponto, a contribuição que a genética de *Drosophila* trouxe principalmente para a análise e solução de inúmeros problemas humanos, não só em relação à descoberta de fatos capazes de elucidar seus aspectos teóricos, como também no terreno das aplicações práticas (medicina, agricultura, zootecnia, etc.). Sabendo-se que os fatores hereditários são transportados pelos cromosomas e sendo estes, elementos comuns a todas as células animais e vegetais, nas quais se comportam praticamente de modo idêntico, pode-se traçar um paralelismo entre os tipos de transmissão nos vários seres vivos. Assim é que só se elucidou o mecanismo de transmissão da hemofilia, depois que Morgan e seus colaboradores descobriram a herança da mutação white (olhos brancos) em *Drosophila melanogaster*. O albinismo na espécie humana é herdado da mesma forma que todas as mutações recessivas autosômicas de qualquer animal. A mutação ebony (corpo preto) em *D. melanogaster*, por exemplo, possui um mecanismo de transmissão igual ao do albinismo. A eritroblastose fetal, motivada pelo fator Rh, pode ser incluída no mesmo esquema e, para irmos mais longe, a herança desse fator segue a mesma lei descoberta por Mendel, em 1865, quando de seus cruzamentos com ervilhas. Os grupos sanguíneos A, B, AB e O obedecem, na sua transmissão hereditária, aos mesmos princípios verificados em relação à série de múltiplos alelos "white" em *Drosophila*.

Em relação à agricultura, lembremos o pro-

blema da heterose, que vem tendo vasta aplicação na produção do milho híbrido; a criação de novas variedades de plantas adaptadas às mais diversas regiões, como se faz atualmente entre nós em relação ao trigo, café, etc. Nesse trabalho, a contribuição indireta da genética de *Drosophila* só pode ser claramente avaliada pelos técnicos que o realizam e que, tendo aprendido Genética a partir de *Drosophila*, constantemente recebem, do estudo deste gênero, novos fatos que muito os auxiliam na análise dos problemas a que se dedicam.

O estudo da evolução orgânica em *Drosophila*, cujo desenvolvimento recente tem trazido tantas informações capazes de generalização, tornou-se, da

m sma forma, um campo promissor para pesquisas. A análise da variação cromossômica (condicionadora de valores adaptativos diversos) em várias épocas do ano e em várias localidades na mesma época, o exame do comportamento dos rearranjos cromossômicos e das várias formas de uma espécie polimorfa em caixas e garrafas de população (estudos experimentais de seleção natural), a averiguação de isolamento sexual incipiente entre linhagens de habitats diferentes, a análise da frequência de gens recessivos em populações naturais, o descobrimento de espécies crípticas, etc., constituem alguns ângulos sob os quais o problema da evolução vem sendo atacado, com ótimos resultados, nessas moscas.

## Métodos de Coleta

*Drosophila* existe praticamente em qualquer lugar onde haja frutas fermentadas. As espécies brasileiras suportam bem temperaturas variando aproximadamente de 15° a 30°C. A menos de quinze graus, em geral, as moscas sentem dificuldade de voar e ficam a maior parte do tempo no solo, sem poder levantar vôo.

Não permanecem comumente pousadas sobre as frutas quando estas estão sob a luz direta do sol. Normalmente, localizam-se em partes sombrias. Quando uma fruta fermentada é oca, com muita frequência as moscas ficam em seu interior.

As coletas podem ser feitas na cosinha de nossa casa, no nosso quintal ou em campos e matas. De um modo geral, há muito mais moscas nas matas que nos campos; isso, provavelmente porque, nas primeiras, a humidade do ar é mais alta e há mais fermentação, portanto mais alimento.

É interessante notar que as moscas que colhemos em nossa cosinha ou quintal são, em geral, de espécies diferentes das que coletamos longe de habitações. Devido aos hábitos diferentes de certas espécies, umas preferindo o campo e a mata e outras, os quintais e cosinhas, Patterson e Wagner (1943) propuseram as designações "espécies selvagens" e "espécies domésticas". "Selvagens" são as que vivem principalmente em ambientes naturais, afastados de povoações ou da ação do homem; "domésticas", as encontradas mais comumente em habitats aos quais o homem se encontra associado (poumões, depósitos de frutas e de lixo, etc.)

Os autores acima usam ainda a designação imprópria de "nativa" para toda e qualquer espécie "doméstica" ou "selvagem" que esteja estabelecida numa determinada região. Fazem a ressalva de que, "sensu strictu", esse termo deveria ser empregado apenas para as espécies que se originaram numa determinada área. No entanto, como pouco se sabe sobre a origem de muitas espécies, empregam o termo para designar espécies estabelecidas

em certa região, mesmo quando esta não corresponde a seu centro de origem.

Uma outra divisão possível seria quanto à distribuição das várias espécies. Dentre as "domésticas", algumas existem em quasi todos os lugares habitados pelo homem civilizado; a essas, podemos chamar de **cosmopolitas**. Pertencem a este grupo: *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. immigrans*, *D. busckii*, *D. ananassae*, *D. repleta*, *D. hydei*, etc. Outras espécies têm, no entanto, áreas de distribuição muito restrita. Uma espécie "doméstica" em uma região pode ser "selvagem" em outra. *D. mercatorum*, por exemplo, tipicamente "doméstica" nos Estados Unidos, é "selvagem" no México (Patterson e Wagner, 1943).

Quanto à origem de certos grupos de espécies, pouco sabemos, uma vez que possuímos conhecimentos bastante restritos sobre a distribuição das espécies de *Drosophila* na maior parte do Globo. Admite-se, porém, que o grupo **melanogaster** tenha se originado na Ásia e que o grupo **willistoni**, na parte neotropical da América.

As drosófilas mais interessantes para estudo são as "selvagens" e, sobre elas, o nosso Departamento está interessado em fazer um inventário para todo o Brasil. Como veremos adiante, as primeiras coletas que fizemos de material brasileiro forneceram dados tão interessantes que nos deram bastante estímulo para continuar esse estudo tão promissor. Sendo assim, interessamo-nos mais por drosófilas que tenham campos ou matos como "habitats" naturais.

A parte essencial de qualquer um dos métodos usados para a coleta de drosófilas é o modo de atrair as moscas para determinados lugares por nós escolhidos (cevas). Para isso, usamos como isca, banana laranja, melancia ou qualquer outra fruta fermentada. O cheiro da fruta em fermentação atrai muitas moscas (naturalmente, apenas aquelas que costumam alimentar-se de fermento). Por este processo, não se consegue atrair as que se ali-

mentam de fungos, as que vivem em flores, etc. Estes dois últimos tipos devem ser procurados nas fontes naturais de alimentação.

Muito comumente, no mato, encontramos, sob árvores frutíferas, frutas fermentadas sobre as quais esvoaçam milhares de insetos. Elas constituem ótima isca para *Drosophila*, pois muito poucos outros organismos são ali atraídos. Estes constam, em geral, de algumas moscas de outros gêneros e famílias, de alguns himenópteros alados, pequenos coleópteros e, às vezes, certos lepidópteros. Todos esses insetos juntos não perfazem, em geral, mais do que 10% do total apanhado.

Para o preparo da isca, devemos usar uma vasilha grande que nunca deve ficar completamente cheia, para evitar o transbordamento da fruta em fermentação. Banana esmagada dá bom resultado, mas seu tempo de duração em bom estado é menor que o da banana cortada em pequenos pedaços. Auxilia-se a fermentação com alguns tabletes de fermento Fleischmann dissolvidos em água que se espalha sobre a banana. Esta, quando bem madura, já tem, em geral, o grau de fermentação necessário para atrair drosófilas, mas a adição do fermento melhora a isca, que fica ótima algumas horas depois.

Com meia lata de banana picada e em fermentação, poderemos, então, preparar as cevas. Devem estas ser dispostas nas margens de caminhos, ao longo de picadas abertas no mato, etc. Quando a banana fica exposta ao sol, muito poucas moscas são atraídas. Deve-se, portanto, evitar a luz direta do sol. A isca pode ser espalhada no chão, amontoada em lugar limpo ou colocada em um vasilhame qualquer: copos de papel encerados, latas, etc. No caso de usar-se uma lata grande, é conveniente cobri-la com uma tampa movel (Fig. 1), que deve ser retirada no momento de capturar as moscas.

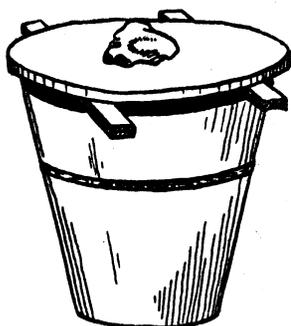


Fig. 1 — Lata para a deposição da banana fermentada.

As moscas atraídas podem ser capturadas: a) por intermédio de uma rêde de filó adaptada a um arco com cabo (Fig 2); b) por meio de um funil de bico curto (quando as cevas forem preparadas em pequenas latas cilíndricas ou copos de papel, segundo a Fig. 3).

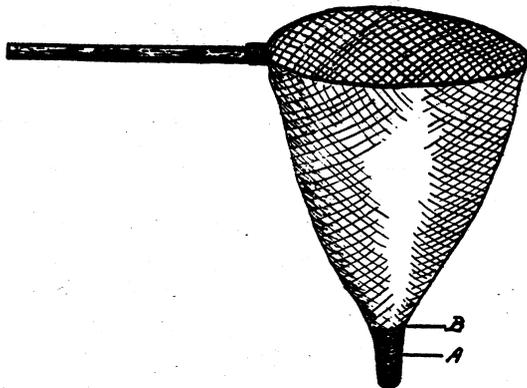


Fig. 2 — Rêde para captura de moscas.

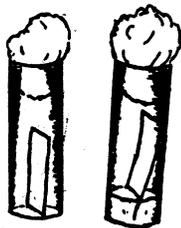


Fig. 3 — Copo com funil para a isca.

A captura das moscas por intermédio da rêde faz-se por movimentos rápidos de vae-e-vem sobre a isca. Estes movimentos devem ser praticados de tal modo que a boca da rêde fique sempre na posição de receber moscas. Com os movimentos de vae-e-vem, muitas moscas em geral ficam presas e são lançadas no fundo do saco A (cf. fig. 2). Durante o movimento, deve-se evitar que essa extremidade A bata em algum galho ou anteparo qualquer, porque isso ocasionaria o esmagamento da maioria das moscas aí aprisionadas.

Uma vez as moscas dentro da rêde, deverão ser transferidas para os tubos de transporte (Fig. 4). Para isto, basta fechar, com a ponta de todos os dedos, a rêde na região B, de modo que a ponta A fique alojada no interior da mão semi-fechada. Isso feito, vira-se o restante da rêde pelo avesso e adapta-se a boca do tubo no orifício que fica entre os

dedos, afrouxando-se os mesmos para que as moscas passem para o tubo.



Figs 4-5 — Tubos de transporte e de excursão

O tubo de transporte é um pequeno tubo de vidro de base circular (2 ou 3 cm de diâmetro por 10 de altura), fechado com uma rolha de algodão, tendo no seu interior, um pedaço de mata-borrão ou papel de filtro (Fig. 4). O mata-borrão serve para absorver o excesso de humidade que resultaria da evacuação e transpiração das moscas. Deve ser colocado no sentido indicado na fig. 4, para impedir a formação de ângulos fechados entre o mata-borrão e o vidro, porquê em geral as moscas entram nesses ângulos e aí morrem, podendo também ficar presas à parede do tubo

Um vidro desse tamanho e nessas condições pode conter, em ótimo estado, durante duas ou três horas, até uma centena de moscas. No caso de ser necessário manter as moscas mais tempo no tubo, é aconselhável colocar aí um pedaço de fruta que servirá como alimento, ao mesmo tempo que manterá um grau de humidade necessário à sobrevivência dos insetos. O alimento não deve ficar solto

dentro do vidro porquê, nesse caso, haverá possibilidade de esmagamento de muitos deles. Deve-se prendê-lo ou sob o mata-borrão ou com o algodão da própria rolha.

Dos tubos de transporte, as moscas devem passar para os de excursão. São tubos iguais aos acima mencionados, tendo, no fundo, meio de cultura com 1 ou 2 cms. de altura e o mata-borrão na mesma posição do vidro acima mencionado (Fig. 5). Os tubos de excursão devem ser previamente esterilizados.

Para passar as moscas do tubo de transporte para o de excursão, convem fazer primeiro uma seleção do material, a olho nú ou com auxílio de um microscópio entomológico (lupa). As moscas podem ser previamente eterizadas no próprio vidro de transporte, adaptando-se algodão embebido em éter na boca do tubo (aí prendendo-o com a mão) ou fechando-o com uma rolha de cortiça tendo a ela adaptado um pedaço de algodão com éter (v. eterizador, pag. 11). Deve-se deixar o tubo na posição horizontal e com o fundo voltado para a luz. Com êle em sentido vertical, há perigo do éter escorrer sobre as moscas ou mesmo do algodão cair sobre elas. Em menos de um minuto, já estando eterizados os insetos, retira-se o algodão e espalham-se os mesmos sobre uma folha de papel branco (exame a olho nú) ou sobre a platina da lupa, onde se pode facilmente fazer a seleção.

No rótulo do vidro em que se colocam as moscas já selecionadas, deve-se anotar: lugar da captura, dia e hora, isca usada e método de coleta.

## Manutenção de Stocks

As drosófilas são facilmente mantidas em laboratório, em vidros com a capacidade de 1/4 de litro (Fig. 6). O meio de cultura pode ser de vários tipos. Damos, abaixo, as fórmulas de três dêles, dos quais o primeiro (meio de banana e agar) é mais usado:

	1.o	2.o	3.o
Agua . . . . .	48.5 c.c.	73.0 c.c.	74.0c.c.
Agar . . . . .	1.5 grs.	1.5 grs.	1.5 grs.
Banana . . . . .	48.5 grs.	3.8 grs.	—
Melado . . . . .	—	12.0 c.c.	13.5 c.c.
Fubá ou farinha de milho . . . . .	—	9.0 grs.	—
Sol. alcoólica a 10% de Moldex ou Nipagin	1.5 c.c.	0.7 c.c.	1.0c.c



Figs. 6-7 — Garrafa de 1/4 de litro e eterizador.

Para se preparar o meio de banana-agar, aquece-se primeiramente a água com o agar. Quando a mistura estiver gomosa, lança-se a banana (depois de passada em u'a máquina de moer carne), mexendo-se com uma concha ou espumadeira. Em seguida, adiciona-se a solução alcoólica de Moldex ou Nipagin (anti-fungo), continuando-se a mexer durante mais alguns minutos.

Para se preparar a sol. de Moldex, convém usar alcool a 95°.

No preparo dos meios de farinha, deve-se dissolver esta em um pouco de água fria antes de ser adicionada à água em ebulição.

O meio é lançado, ainda aquecido, dentro do vidro até formar uma camada de aproximadamente 1-2 cents. A rolha mais prática é feita com um chumaço de algodão envolvido em gaze. Arrolhado, o vidro irá para o autoclave onde ficará até 120°. Atingida esta temperatura, deixa-se que o autoclave se esfrie lentamente. Caso não se disponha de um autoclave, a simples fervura do vidro antes de receber o meio é, em geral, suficiente para esterilizá-lo. Neste caso, é aconselhável colocar a rolha de algodão em um forno comum bem quente durante trinta minutos, afim de se evitar o desenvolvimento de fungos.

Lança-se um pouco de fermento sobre o meio e introduz-se, neste, uma fita de papel de filtro dobrada para que absorva o excesso de humidade e possa servir de pouso para as moscas. (Fig. 6). Para se evitar o aparecimento de fungos, o papel de filtro deve ser humedecido em uma solução alcoólica (95°) a 1% de Moldex e, depois, posto a secar em uma estufa.

Afim de se passarem moscas de um vidro para outro, coloca-se o primeiro sobre o segundo, prendendo-os nesta posição com a mão esquerda e batendo-se, com a direita, no vidro de cima ou no fundo do inferior.

Nos vidros, colam-se etiquetas onde ficam anotados os dados necessários para cada caso (espécie procedência, data, etc.).

Para o exame microscópico das moscas, deve-se eterizá-las primeiramente. O eterizador (Fig. 7) nada mais é que um frasco cilíndrico (borel) com uma rolha de cortiça. Por meio de um parafuso, prende-se à rolha, um chumaço de algodão envolvido em gase e amarrado com barbante fino.

Este chumaço deve ser humedecido diretamente na boca do vidro de éter.

Uma precaução a ser tomada é evitar a morte das moscas por eterização prolongada. A morte é evidenciada pela distensão dos membros e pela abertura total das asas.

A separação ou mudança de posição das moscas sobre a platina, assim como a sua passagem da platina para um vidro, devem ser feitas com pinça de pontas finas.

Caso a eterização inicial não baste para permitir o exame completo das moscas, devemos usar um segundo tipo de eterizador (reeterizador). Consta êste de uma tampa de borel em cujo interior se adapta um pedaço de mata-borrão. Humedecido este diretamente na boca do vidro de éter, é imediatamente colocado sobre as moscas que se encontram na platina.

Quando devemos lançar moscas eterizadas em um vidro novo, convém tomar a precaução de colocá-las entre as duas partes da fita de papel de filtro e nunca diretamente sobre o meio de cultura.

Iniciada uma cultura, as fêmeas maduras logo começam a depositar ovos sobre a superfície do meio. Depois de alguns dias, os ovos desenvolvem-se em larvas que começam a se locomover. Após um tempo certo para cada espécie, elas atingem o seu período máximo de desenvolvimento e se imobilizam com frequência entre as fibras do papel de filtro. Aos poucos vão se tornando amareladas ou amarelo-avermelhadas, transformando-se, então, em pupas. Formado o imago dentro destas, ele sai pelo polo anterior (eclosão).

Ao nascer, as drosófilas são muito pouco pigmentadas e têm as asas completamente encolhidas.

## SISTEMÁTICA

## 1.a parte

## Análise dos Caractéres

Nesta primeira parte, seguiremos a orientação de Sturtevant (1942). Começaremos analisando, em particular, cada um dos caractéres mais usados em sistemática de *Drosophila*, para que o leitor possa se familiarizar com os elementos mais citados nas descrições.

## Caractéres externos

**ARISTA** — Apêndice em forma de uma enorme cerda ramificada implantada na parte dorsal do terceiro segmento de cada antena (Figs. 8 e 9). O número de ramos é pouco variável dentro de cada espécie. Em algumas descrições, é frequente a separação do número de ramos existentes no lado superior e inferior. Como o eixo principal é frequentemente bifurcado, tal contagem torna-se am-

penas os ramos mais grossos e colocados em lados opostos. Não levamos em consideração os pequenos e finos, voltados para a frente e em plano diferente dos acima citados.

O número de ramos varia de 6 (*D. inca*) a 15 (*D. mediopunctata*). As variações apresentadas são pequenas como, por exemplo, em *D. inca* (de 6 a 8, sendo 7 o mais comumente encontrado).

**ANTENAS** — Têm três segmentos articulados e estão situados na região frontal da face, de cada lado da carina (Figs. 8 e 9). Costuma-se levar em conta, em geral, apenas as características do terceiro segmento, que é maior e geralmente coberto de finos pêlos. Duda (1925) considera também a relação entre a largura e o comprimento desse segmento.

**FRONTE** — Corresponde à região fronto-dor-

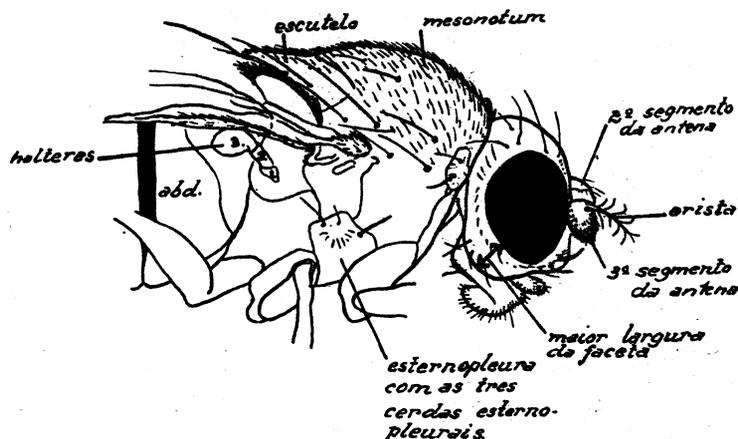


Fig. 8 — Torax e cabeça de *Drosophila* (Copiado com modificação de Bridges, 1935)

bígia; daí, ser preferível contar o número total de ramos incluindo os dois terminais que resultem da possível bifurcação do eixo principal. Contam-se

sal da cabeça (Fig. 10). Limitada lateralmente pelos olhos, atrás pelas cerdas verticais e post-verticais e, na frente, pelas bases das antenas e parti-

superior da carina. Pode apresentar coloração e desenho diferentes nas várias espécies.

**CERDAS ORBITAIS** — Situadas na fronte (Fig. 10), próximas à linha de limite do olho, no espaço compreendido entre as bases das antenas e o ângulo pósterio-superior da fronte (local onde estão implantadas as duas cerdas verticais). São três: duas reclinadas (média e posterior) e uma proclinada (anterior). É interessante notar a posição e tamanho relativos das três. A mediana (reclinada) é sempre menor. Pode estar implantada entre as duas outras (*D. polymorpha*), ao mesmo ní-

vel ou na frente da orbital anterior (grupo annulimana).

**CERDAS ORAIS** — Constituem uma fileira de cerdas situadas no bordo ântero-inferior de cada faceta (Fig. 12). A primeira dessas cerdas, também chamada vibrissa, é sempre proeminente. A ela, seguem-se outras que vão diminuindo gradativamente de tamanho, ou, então uma carreira de pequenas outras cerdas muito menores que a primeira. A segunda oral pode às vezes chegar a atingir o tamanho da primeira. A terceira e as seguintes são sempre menores que ela.

**CARINA** — É uma elevação no meio da face (Fig. 13). Seu limite superior está entre a base das antenas e o inferior, em geral, pouco antes do limite inferior da face. Têm importância seu tamanho relativo e forma. Pode ser lisa ou sulcada, achatada ou proeminente. Em algumas espécies do grupo saltans, encontramos pêlos na região logo abaixo da carina.

**FACE** — Limitada na parte superior, pela fronte (limite em forma semicircular), lateralmente pelos olhos e, na parte inferior, pelo começo da tromba (proboscis) (Fig. 12).

**FACETA** — (cheek) — Corresponde à região que acompanha o bordo inferior de cada olho. Sua maior largura é a distância compreendida entre sua parte ínfero-posterior e o olho (Figs. 9 e 11). Levam-se em conta sua cor, revestimento e largura.

**PÊLOS ACROSTICAIS** — São pêlos em filas longitudinais no mesonotum (região superior do tórax) (Fig. 8). Essas filas são em número variável numa mesma mosca se as contarmos na parte anterior, mediana ou posterior do mesonotum. Daí con-

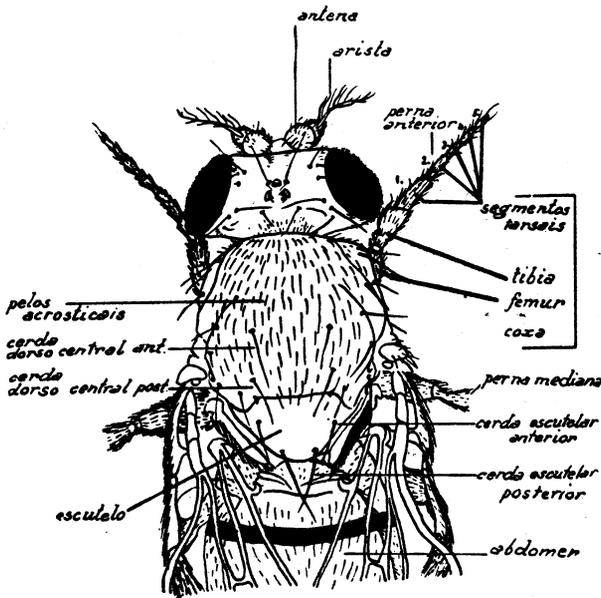


Fig. 9 — Torax e cabeça de *Drosophila*. (Copiado, com modificações, de Bridges, 1935 a).

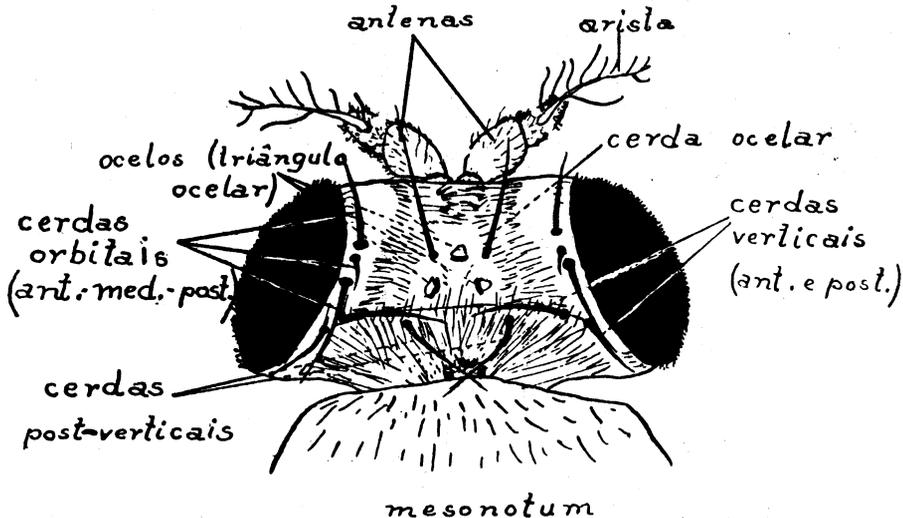


Fig. 10 — Fronte de *Drosophila*.

siderarmos apenas o número de filas que existem entre as duas cerdas dorso-centrais anteriores (descrição destas mais adiante). Na parte posterior do mesonotum, próximo ao escutelo, encontramos, em algumas espécies, pêlos maiores que os demais. Variam em número: quatro ou mais na maioria das espécies do grupo repleta, apenas dois em *D. annulimana* e *D. mirim*, etc. Quando bastante proeminentes, são denominados cerdas prescutelares. Duda (1925) usou-as como caráter sub-genérico, criando o subgênero *Paradrosophila*. Esse caráter parece falho para delimitar um subgênero, uma vez que associa espécies tão diferentes como *D. annulimana* e *D. mirim*, mencionadas acima. Sturtevant (1942) usa esse caráter como um dos que diferenciam o subgênero *Pholadoris* (ver pag. 20).

Dentre as dorsocentrais, pode destacar-se às vezes, na parte anterior à sutura (Fig. 8), uma longa cerda denominada presutural. Esse tipo de cerda caracteriza algumas espécies do grupo testacea e não foi ainda encontrado por nós em nenhuma das espécies brasileiras.

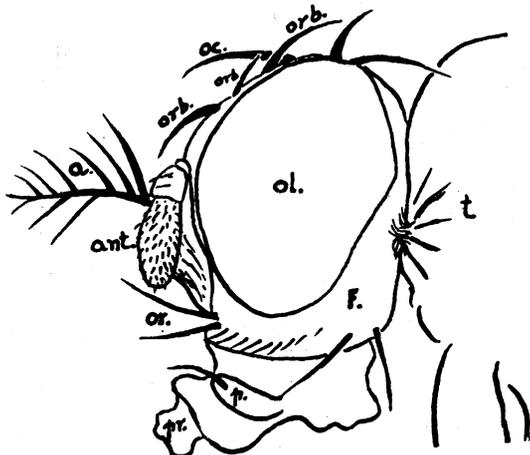


Fig. 11 — Cabeça de *D. polymorpha*: a. arista, ant. antena, F. faceta, oc. cerda ocelar esquerda, ol. olho, or. orais, orb. cerdas orbitais, p. palpus, pr. proboscis.

Embora, às vezes, se usem nas chaves, como condições alternativas, os pêlos acrosticais em 6 ou 8 filas, é sempre mais prudente seguir os dois caminhos quando estivermos classificando uma espécie que apresenta qualquer irregularidade na ordem das filas.

**TORAX** — A cor do torax em associação com a da cabeça define se a espécie pertence ao grupo amarelado ou escuro. É muito importante o tipo de revestimento que tem o torax (liso ou polinoso brilhante ou opaco). Em alguns grupos de espécies, encontramos desenhos característicos

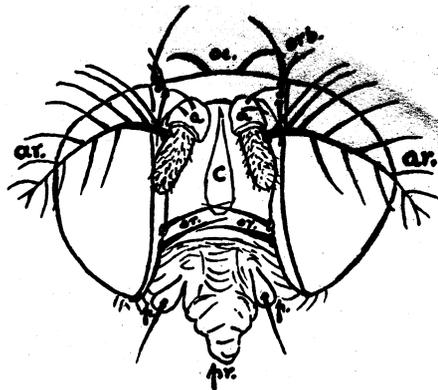


Fig. 12 — Cabeça de *D. fumipennis*: a. antena, ar. arista, c. carina, oc. cerdas ocelares, or. cerdas orais, orb. cerdas orbitais, p. palpus e pr. proboscis.

como, por exemplo, no grupo repleta, onde cada pêlo ou cerda nasce no meio de uma mancha castanha ou cinzenta escura. *D. busckii* caracteriza-se por um mesonotum amarelado com uma estria escura mediana que se bifurca posteriormente.

**CERDAS DORSOCENTRAIS** — Em geral, são representadas por dois pares, um anterior e outro posterior, ambos colocados no mesonotum posteriormente à sutura (Fig. 8). Até hoje, não encontramos moscas desse tipo entre as espécies brasileiras. Em *D. imigrans*, os indivíduos colhidos na natureza às vezes apresentam três cerdas de um lado e duas de outro; é uma anomalia sem significação sistemática.

Duda (1925) leva em conta as distâncias relativas entre os lados do quadrilátero formado pelas implantações dessas quatro cerdas.

**ESCUTELO** — Segmento triangular situado posteriormente ao mesonotum (Figs. 8 e 9), tendo 4 cerdas implantadas em seu bordo livre, sendo duas anteriores e duas posteriores. Levam-se em conta sua côr e desenhos como também a orientação das cerdas escutelares anteriores (convergentes paralelas ou divergentes).

**CERDAS ESTERNOPLEURAI** — São em número de três de cada lado inseridas em pontos diferentes da esternopleura (Fig. 9). Kikkawa e Peng (1938) criaram o índice esternal que corresponde ao comprimento da cerda esternopleural anterior dividido pelo da posterior. Em geral, a cerda anterior é menor que a posterior. Por isto, esse índice é frequentemente inferior a 1. A esternopleural mediana é bem menor que as outras duas.

**ORNAMENTOS TARSAIS (\*)** — Nos machos

\* Sobre pentes tarsais em todo gênero, cf. Freire-Maia, 1949 b.

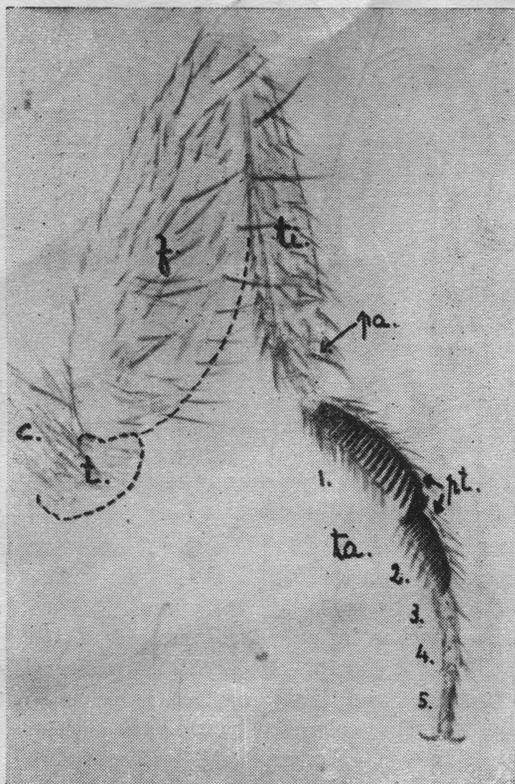


Fig. 13 — Pata anterior de macho de *D. montium*: c. coxa, t. trocanter, f. femur, ti. tibia, ta. tarso, com seus cinco segmentos, pa. cerda preapical, pt. pentes tarsais. Cerda apical oculta. (Freire-Maia, 1949 b modif.).

de algumas espécies, encontramos nas patas anteriores ornamentos tarsais representados por pentes também denominados “pentas sexuais”. *D. melanogaster* e *D. simulans* apresentam um pente no primeiro segmento tarsal da pata anterior. As moscas do grupo *obscura* possuem um pente no primeiro e outro menor no segundo segmento do tarso da primeira pata. *D. montium* apresenta dois grandes pentes que tomam respectivamente todo o comprimento do primeiro e do segundo segmento tarsais, sendo o primeiro maior que o segundo. (Fig. 13).

**ABDOMEN** — A cor e os desenhos dos tergitos (segmentos superiores) são em geral constantes para uma espécie, podendo o macho diferir da fêmea (dimorfismo sexual). Conhecemos duas espécies encontradas no Brasil com polimorfismo do desenho dos tergitos abdominais: *D. polymorpha* (Cunha, 1947 e 1949) e *D. montium* (Freire-Maia, 1949). No primeiro caso, o polimorfismo é bem vi-

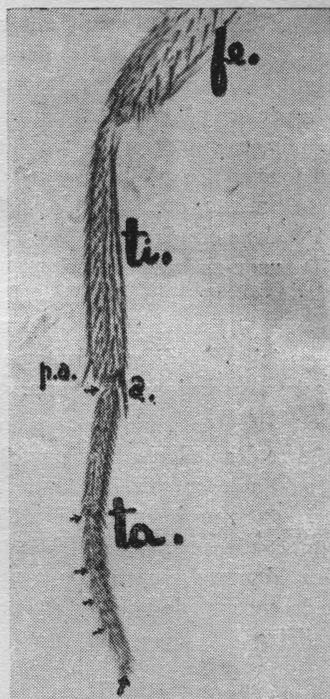


Fig. 14 — Pata de *D. pararepleta* mostrando as cerdasdas apical (a) e preapical (p. a.). (Seg. R. de Barros, não publicado).

sível no macho e na fêmea. No segundo, é pouco evidente no macho porque abrange apenas os 2 últimos tergitos.

Em algumas espécies do grupo *saltans*, encontramos áreas foscas ou rugosas em certos tergitos. Em *D. sturtevanti*, há uma área fosca semi-circular em cada lado do sexto tergitto da fêmea. Em *D. prosaltans*, a fêmea também possui uma região fosca na parte póstero-mediana do sexto tergitto. Temos em mão uma espécie ainda não descrita, relacionada de *D. emarginata*, pertencente ao grupo *saltans*, que apresenta uma área rugosa em forma de meia elipse na parte póstero-mediana do sexto tergitto da fêmea.

**AZA** — Tonalidade da pigmentação, transparência, cor e forma das veias, localização de desenhos ou manchas com relação às veias, cerdas da costal e ponto dessa veia até onde chegam as cerdas fortes que existem ao longo de seu bordo. Essas cerdas atingem a um determinado ponto da terceira seção costal. O fim da primeira seção costal (local da 2a. quebra) é, em geral, protegido por uma ou duas cerdas fortes. (Cf. Fig. 15).

**INDICES DA AZA** — a) Índice costal corresponde ao comprimento da segunda seção costal

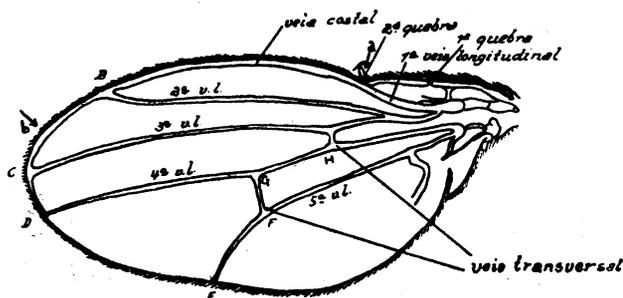


Fig. 15 — Asa de *Drosophila*: a. fim da primeira secção costal com duas cerdas fortes, b. limite dos pêlos mais fortes da costal. Para as outras, v. "Índices da asa", no texto. (Adp. de Bridges, 1935a).

(AB) dividido pelo comprimento da terceira secção (BC) da mesma veia (Fig. 15).

$$\text{Índice costal} = \frac{AB}{BC}$$

b) Índice da quarta veia: comprimento da secção distal dessa veia (DG) dividido pelo comprimento de sua terceira secção (GH).

$$\text{Índice da quarta veia} = \frac{DG}{GH}$$

c) Índice 5 x: comprimento da secção distal da quinta veia (EF) dividido pelo comprimento da veia transversal posterior (FG).

$$\text{Índice } 5x = \frac{EF}{FG}$$

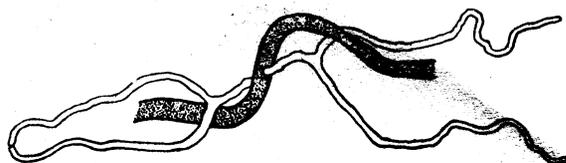


Fig. 16 — Tubos de Malpighi de *D. guaramunu*. Anteriores com extremidades livres; posteriores com extremidades apostas (sem formar lumen contínuo). Intestino pontilhado.

Caractéres internos

TUBOS DE MALPIGHI — Na parte posterior do intestino, encontramos dois divertículos, cada um dos quais se biparte a uma curta distância de sua base (Fig. 16). Dois dos tubos bipartidos de um ramo dirigem-se para a parte anterior do intestino, enquanto os dois outros para a posterior. Foram denominados "tubos de Malpighi" (dois anteriores e dois posteriores). Os anteriores têm em geral suas extremidades esbranquiçadas e livres. Os posteriores podem tê-las livres apostas ou ainda fundidas, formando um lumen contínuo. Em *D. polymorpha*, os Malpighi anteriores têm um tronco comum no primeiro terço.

TESTÍCULOS — Apresentam grande variação na forma, cor e número de espiras internas e externas. (Cf. fig. 17). O número total dessas espiras está em geral, em relação com o número de voltas e com o comprimento do receptáculo ventral da fêmea. *D. pararepleta* tem testículos com 2 1/2 espiras e receptáculo ventral com 7 a 9 voltas. *D. hydei*: testículo 15 voltas; receptáculo ventral, cerca de 250.

BOMBA ESPERMÁTICA — É um órgão situado na parte final do ducto ejaculador (Fig. 17). É, em geral, bilobado, apresentando algumas vezes

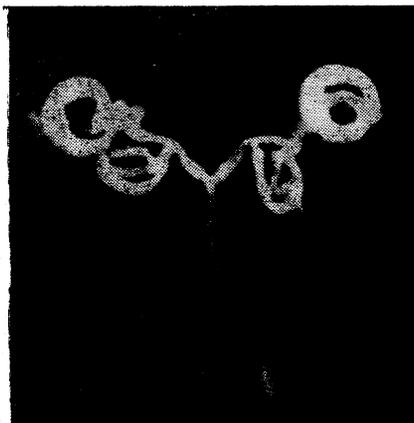
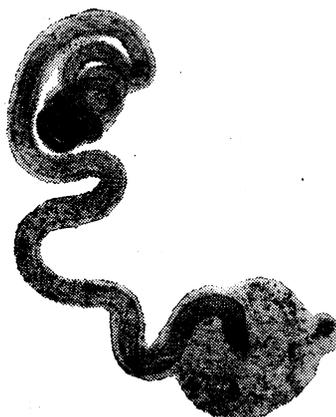
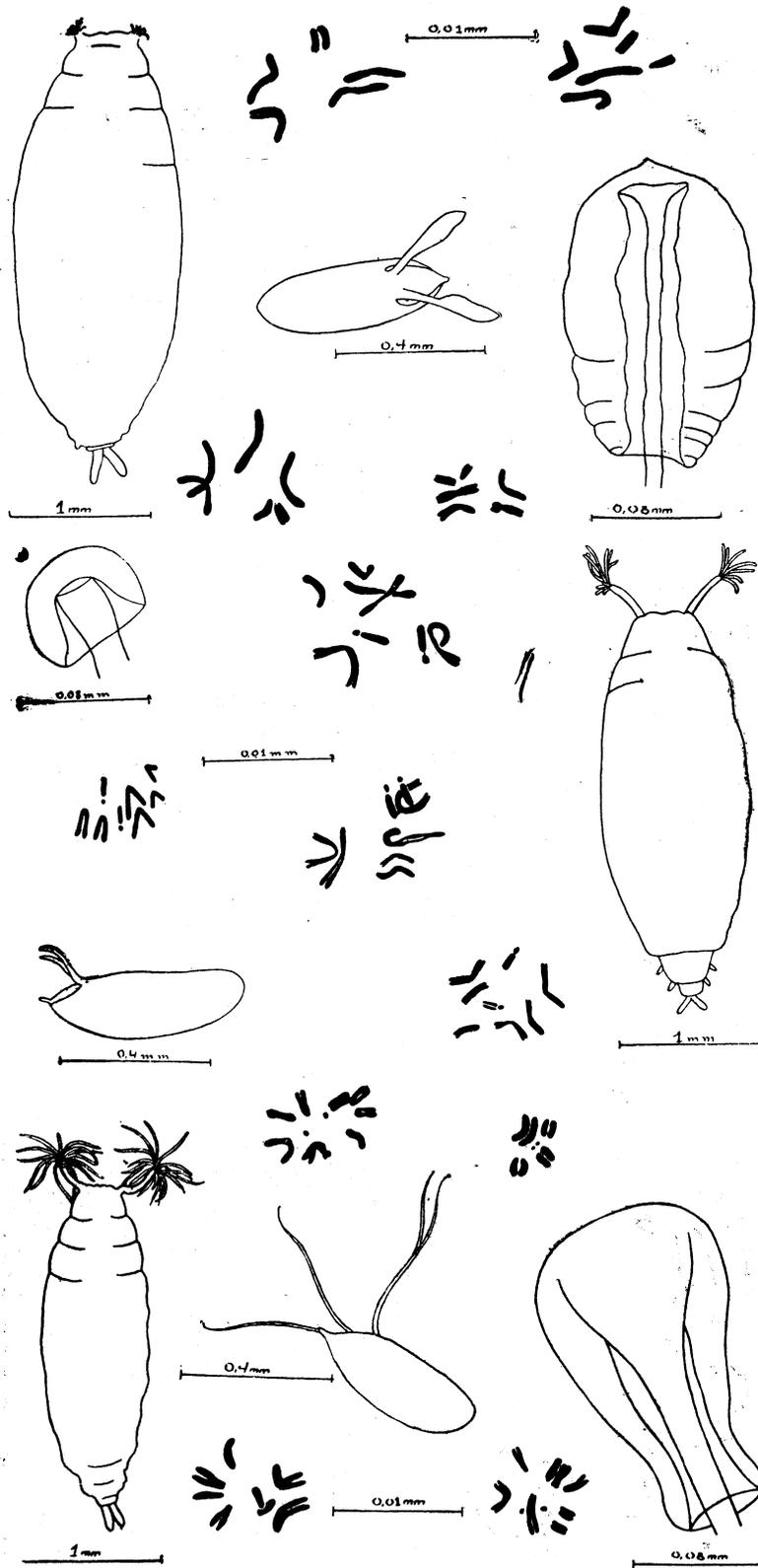


Fig. 17 — Receptáculo ventral e testículo de *D. pararepleta*. (Rosina de Barros, não publ.).



Figs. 18, 19 e 20 — Ovos, pupas, espermatecas e *D. pulla* (Pavan e Brito da Cunha, 1947).

divertículos que podem ser curtos ou tão longos como os tubos de Malpighi (*D. canalinea*). Esses divertículos podem também ser ramificados (*D. tuchaua*).

**RECEPTÁCULO VENTRAL** — E', em geral, representado por um tubo cuja luz se abre na parte superior da vagina, entre as duas espermatecas (fig. 17). Tem as mais variadas formas nas diversas espécies de *Drosophila* (espiral regular em todo ou em parte de seu comprimento, tipo enovelado um tubo reto, etc.).

**ESPERMATECA** — Apresenta-se com vários tamanhos e formas (Cf. Figs. 18, 19, 20).

#### Outros caracteres

**OVO** — Em geral, têm todos uma mesma forma. Variam o número, o local de implantação e a forma dos filamentos (Cf. figs. 18, 19 e 20).

**LARVA** — Poucos são os caracteres das larvas de *Drosophila* usados em sistemática. As de *D. busckii* apresentam certos processos dorsais não existentes em nenhuma outra espécie do gênero. As do grupo *cardini* e *saltans* dão saltos.

**PUPA** — Levam-se em consideração a côr, o tamanho, o número de ramos do espiráculo posterior e o comprimento dos cornos anteriores. (Cf. figs. 18, 19 e 20). Por cornos anteriores, entendemos os espiráculos e sua base. Para calcular o índice dos cornos, dividimos seu comprimento pelo do corpo da pupa.

**CROMOSOMAS** — Conhece-se hoje a constituição cromosômica de mais de 200 espécies de *Drosophila*. (Cf. figs. 18, 19, 20, 26, 27, 32, etc.) Todas elas possuem de 6 a 12. Sturtevant (1921) acha que o gênero *Drosophila* tinha originariamente 12 cromosomas ou 6 pares de "elementos", como êle os chamou, sendo 5 de bastonetes e um de grânulos (como existe em *D. virilis*, *D. repleta*, *D. brunnei-palpa*, etc.) Por fusões, translocações, inversões, etc., teriam derivado todos os outros tipos. Este problema será discutido mais adiante.

**HÁBITOS DE ACASALAMENTO** — Sturtevant (1921) observou os hábitos de mais de 20 espécies de drosófilas e encontrou as mais variadas reações entre machos e fêmeas (diferentes tipos de

fazer a côrte, movimentos pré-copulatórios, etc.). O tempo de cópula varia de alguns segundos (*D. polychaeta*) até cerca de uma hora (*D. immigrans*). Spieth (1949) estudou o comportamento e hábitos de cópula de várias espécies do grupo *willistoni*. Wallace (1946) observou que *D. obscura* não cópula no escuro enquanto que outras espécies muito próximas a ela o fazem perfeitamente. Merrel (1949), analisando os hábitos de acasalamento de duas linhagens geograficamente afastadas (*D. melanogaster*), verificou que a duração da côrte depende da fêmea enquanto a duração da cópula, do macho.

Em muitas espécies, a fêmea sofre uma "inflamação" vaginal depois da primeira cópula, inflamação esta que dura horas ou dias (Patterson 1947). No grupo repleta, esta reação da inseminação foi observada entre cópulas intra e inter-específicas (R. de Barros, não publicado).

**HÁBITOS ALIMENTARES** — A parte essencial da alimentação de *Drosophila* consta principalmente de fermentos, fungos e bactérias. Um grupo parece se isolar, alimentando-se apenas de polen de flores (*D. lutzii*, *D. alfavi*, *D. floricola* e *D. tristum*). Dentre as espécies que se alimentam de bactérias, fungos e fermentos, algumas vão procurá-los em vegetais apodrecendo, carne deteriorada, frutas fermentadas, cascas de árvores ou em cogumelos. Parece que, em geral, as espécies têm uma alimentação mista que consta de fermentos e bactérias fermentos e fungos ou bactérias e fungos, além de outras substâncias. Wagner (1945) mostrou que *D. mulleri* e *D. aldrichii*, que vivem em cactus fermentados, não se desenvolvem normalmente se lhes dermos apenas um tipo de fermento ou bactéria, mas o fazem perfeitamente bem se lhes fornecermos uma mistura desses dois alimentos.

Em nosso laboratório, sentimos a necessidade de conhecer melhor os hábitos alimentares de *Drosophila* pois, com muita frequência, trazemos, de nossas excursões, exemplares pertencentes a espécies provavelmente não descritas mas que, por deficiência de alimentação adequada, deixam de se desenvolver em vidros de cultura.

## SISTEMÁTICA

## 2a. parte

## Análise do gênero, sub-gêneros e grupos de espécies

Abaixo transcrevemos a posição sistemática de *Drosophila*, as características do gênero descrito por Fallen (1823) e dos vários subgêneros assim como a descrição de uma espécie como modelo:

Classe — Insecta

Subclasse — Pterygota

Ordem — Diptera

Subordem — Cyclorrapha

Família — Drosophilidae

Gênero — *Drosophila*

GÊNERO *DROSOPHILA* FALLÉN, 1823

Arista plumosa; vibrissa e ocellares presentes; três orbitais, a mais inferior proclínada, as duas superiores reclinadas, a mediana menor que as outras duas (a segunda está inserida um pouco abaixo da terceira em *D. alabamensis*); post-verticais grandes; uma ou mais humerais; uma presutural; duas notopleurais; duas supra-alares; duas post-alares; uma a três esternopleurais; mesopleura nua sem ornamentos; duas dorsocentrais (três no grupo polychaeta); prescutelares frequentemente ausentes (presentes em *D. sigmoide*, *D. florae* e espécies semelhantes a elas) — essas cerdas são representadas por pêlos maiores que os demais em *D. replata* e outras formas; dois pares de escutelares, as posteriores sendo cruzadas; discos do escutelo nús sem ornamentos; costal quebrada duas vezes, atinge o ápice da quarta veia; duas pequenas cerdas pouco antes da quebra distal da costal; cela discal e segunda basal confluentes; cela anal presente, mas frequentemente incompleta; préapicais evidentes pelo menos na terceira tibia; pêlos acrosticais em seis ou mais filas defronte à sutura transversal, quatro ou mais entre as dorsocentrais anteriores. (Descrição traduzida de Patterson, 1943, pg. 46).

Conhecem-se hoje, do gênero *Drosophila*, cerca de 620 espécies\*. Um gênero como este que comporta tão grande número de espécies dá margem a divisões em subgêneros. Sturtevant (1942) faz um apanhado geral do gênero e descreve novos subgêneros, além dos já descritos por Duda (1925). Reproduziremos a seguir as características dos subgêneros de *Drosophila* segundo Sturtevant, com algumas modificações para a inclusão de algumas espécies brasileiras.

Subg. *Hirtodrosophila* Duda. Tipo: *D. longicrinita* Duda (Formosa). (Sinônimo: *Dasydrosophila* Duda).

Terceiro segmento da antena, grande, coberto por pêlos muito longos. Carina estreita, curta e praticamente ausente na parte inferior da face. Arista em geral com um ramo na parte inferior, em adição à bifurcação. Índice esternal 0,5 ou menor. As espécies conhecidas alimentam-se de fungos.

Duda associou a esse subgênero várias formas orientais e neotropicais e Sturtevant incluiu nele, *D. duncani* da parte oriental dos Estados Unidos.

Subg. *Pholadoris* Sturtevant. Tipo: *Drosophila victoria* Sturtevant.

Espécies escuras brilhantes com prescutelates; uma área brilhante, contendo cerdas em forma de V, sobre a frente; ovos com 6 a 8 filamentos; tubos de Malpighi posteriores com as extremidades apostas; testículos curtos não espiralados; receptáculo ventral curto, não espiralado ou enovelado; as larvas saltam.

Subg. *Dorsilopha* Sturtevant. Tipo: *Drosophila buskii* Coquillett

Espécies amareladas; mesonotum com estrias longitudinais; préapicais da primeira e segunda tibia não muito evidentes; larvas com processos dorsais; ovos com 4 filamentos; tubos de Malpighi

\* Cf. Patterson e Wheeler (1949).

posteriores com extremidades fundidas; receptáculo ventral não enovelado; índice esternal cerca de 0.3. *D. buskii* é a única espécie conhecida deste subgênero.

Subg. *Phloridosa* Sturtevant. Tipo: *Drosophila floricola* Sturtevant.

Espécies pretas ou acastanhadas, brilhantes; cerdas e ramos da arista curtos; índice esternal 0.3 ou menos; tubos de Malpighi anteriores ausentes; os posteriores, com extremidades fundidas dando uma volta ao redor do intestino; testículos longos, enrolados em espiral; ovos sem filamentos e sem vestígios de células foliculares; alimentam-se em flores. Inclue *D. lutzii*, *D. alfari* e *D. tristani*, descritas por Sturtevant. Este autor acha que *D. mauiensis* Grimshaw, de Hawaii, pertence a este subgênero.

Subg. *Sophophora* Sturtevant. Tipo: *Drosophila melanogaster* Meigen.

Ovos com dois filamentos espatulados nas extremidades; receptáculo ventral não enrolado; tubos de Malpighi posteriores com extremidades livres; índice esternal 0.6 ou menor; corno da pupa não superior a 1/5 do comprimento desta; segundo ao quinto tergito abdominal com bandas posteriores que nunca são interrompidas ou estreitadas na linha mediana; facetas relativamente estreitas.

Nêste subgênero, podemos encontrar quatro grupos de espécies:

1. **Grupo saltans.** Espécies escuras; receptáculo ventral longo e fino; testículos longos e espiralados; uma ou duas áreas foscas fortemente quinizadas no sexto tergito da fêmea; larvas saltam; não apresentam pentes sexuais; ovos com filamentos mais espancidos na parte distal; índice esternal 0.3 a 0.4; cerdas escutelaes anteriores divergentes; espécies da América tropical.

Sturtevant propõe a divisão desse grupo de espécies em dois subgrupos:

- a) marcas acinzentadas no torax e pequenos pêlos abaixo da carina;
- b) torax sem marcas acinzentadas e sem pêlos abaixo da carina.

Como temos em mãos uma espécie não descrita desse grupo que não tem marca no torax mas possui pêlos abaixo da carina, esta última subdivisão de Sturtevant deixa de ter valor.

2. **Grupo willistoni.** Espécies amareladas; receptáculo ventral fino e longo; testículos em espiral, medianamente longos; não têm áreas foscas nos tergitos abdominais; larvas não saltam; sem pentes sexuais; índice esternal 0.3; filamentos do ovo mais espancidos no ápice; escutelaes anteriores divergentes; espécies da América tropical.

É' interessante notar que, em oito espécies que conhecemos desse grupo (*D. willistoni* Sturtevant, *D. fumipennis* Duda, *D. paulistorum* Dobzhansky e Pavan, *D. capricorni* Dobzhansky e Pavan, *D. tropicalis* Burla e Brito da Cunha, *D. bocainensis* Pavan e Brito da Cunha, *D. equinoxialis* Dobzhansky e *D. nebulosa* Sturtevant), tôdas têm apenas três pares de cromosomas: dois pares de alças e um de bastonetes (cf. fig. 26). Dêste grupo, *D. willistoni* e *D. paulistorum* são encontradas em tôdas as regiões do Brasil, sendo as mais comuns na maioria delas (Dobzhansky e Pavan; não publicado).

3. **Grupo melanogaster.** Espécies amareladas; receptáculo ventral relativamente longo; testículos espiralados medianamente longos; não têm áreas foscas nos tergitos; larvas não saltam; pentes sexuais presentes nos machos; índice esternal 0.5 a 0.6; escutelaes anteriores convergentes; aparentemente nativas das regiões tropicais e sub-tropicais do Velho Mundo mas algumas delas hoje largamente distribuídas.

Inclue: *D. melanogaster* Meigen, *D. montium* de Meijere, *D. bipectinata* Duda, *D. simulans* Sturtevant, *D. ananassae* Doleschall e muitas outras.

4. **Grupo obscura:** Espécies escuras; sem áreas foscas nos tergitos abdominais; larvas não saltam; pentes sexuais presentes; préapicais na primeira tibia, muito longas; índice esternal cerca de 0.6; escutelaes anteriores convergentes; segunda oral pequena; orbital mediana grande; espécies da parte norte da zona temperada.

Sturtevant subdivide o grupo em dois subgrupos:

a) com muitos dentes no pente sexual distal; acrosticais em 8 fileiras; receptáculo ventral curto; testículos elípticos; carina larga e chata. Inclue: *D. pseudoobscura* Frolowa, *D. miranda* Dobzhansky, *D. obscura* Fallen, etc;

b) apenas um dente no pente distal; acrosticais em 6 fileiras; receptáculo ventral quasi tão longo quanto o dos indivíduos do grupo melanogaster; testículos curtos, mesmo assim enrolados em espirais; carina estreita não achatada. Inclue várias espécies americanas: *D. affinis* Sturtevant *D. algonquin* Sturtevant e Dobzhansky, *D. athasca* Sturtevant e Dobzhansky, etc.

**Subgênero Drosophila** Fallen. Tipo: *Musca funebris* Fabricius.

Ovos com três ou quatro filamentos (em *D. melanica*, apenas dois), tendo pelo menos os anteriores afilados nas extremidades; receptáculo ventral fino, longo e geralmente enrolado; testículos longos e espiralados; tubos de Malpighi posteriores dando uma volta bem fechada ao redor do intestino, com suas extremidades algumas vezes apenas

apostas, mas frequentemente fundidas, formando um lumen contínuo; bandas posteriores do abdômem frequentemente estreitadas ou interrompidas na linha mediana; índice external frequentemente 0.5 ou mais; facetas geralmente largas; cornos da pupa em geral com mais de um quinto do comprimento desta.

Este subgênero é o maior e mais complexo. É mesmo difícil separar as espécies em grupos relacionados. Sturtevant acha que muitas espécies pertencem seguramente a este subgênero, mas várias outras ainda não estão bem estudadas para que sejam incluídas nele de modo satisfatório. Menciona, como espécies de colocação duvidosa *D. melanderi* Sturtevant *D. macroptera* Patterson e Wheeler, *D. bizonata* Kikkawa e Peng, etc.

Reconhece os seguintes grupos de espécies:

1) **grupo quinaria.** Espécies amareladas, brilhantes; ovos com três filamentos; veias transversais esfumagadas; banda escura dos tergitos frequentemente fragmentadas em pintas; arista com 9 a 11 ramos.

2) **grupo guttifera.** Espécies amareladas com estrias no mesonotum; ovos com 3 filamentos; asas com numerosas pintas pretas; segunda oral longa; terceiro segmento da antena recoberto por longos pêlos; índice costal cerca de 2.2; índice esternal cerca de 0.4; alimentam-se de fungos.

3) **grupo pinicola.** Receptáculo ventral espiralado, porém não enovelado; espécies castanho-acinzentadas; carina estreita; orbital mediana 1/4 das outras duas; cornos da pupa tendo sómente 1/10 do comprimento desta última; índice external cerca 0.5. Inclue apenas *D. pinicola* Sturtevant.

4) **grupo virilis.** Espécies escuras; escutelas anteriores divergentes; veias transversais esfumagadas; índice external 0.8 a 0.9. Inclue *D. virilis* e quatro ou cinco outras espécies e sub-espécies norte-americanas.

5) **grupo testacea.** (sub-gênero *Acrodrosophila* Duda). Espécies amareladas ou acastanhadas; um par de cerdas pré-suturais; receptáculo ventral sem espirais numerosas; alimentam-se de fungos. Inclue *D. testacea* von Roser e *D. putrida* Sturtevant.

6) **grupo tripunctata.** Espécies amareladas; pinta preta na região mediana do terceiro ao quinto tergito abdominal; arista com cerca de 12 ramos; índice costal cerca de 4.3. Inclue *D. tripunctata* Loew e possivelmente *D. histrio* Meigen. A esse grupo indubitavelmente pertencem várias espécies brasileiras, das quais três estão descritas, a saber *D. mediopunctata* Dobzhansky e Pavan, *D. mediostriata* Duda e *D. mediosignata* Dobzhansky e Pavan.

Com as três espécies brasileiras incluídas no grupo, devemos eliminar o caráter "pinta no terceiro, quarto e quinto tergitos", uma vez que tais espécies apresentam apenas uma pinta na região do sexto tergito.

7) **Grupo funebris.** Espécies castanho-avermelhadas; índice external aproximadamente 0.7; corno cerca de 1/5 do comprimento da pupa; arista com 10 a 11 ramos; abdômem do macho quase completamente negro brilhante. Inclue *D. funebris* Fabricius e algumas outras espécies norte-americanas muito relacionadas a ela.

8) **Grupo repleta.** Torax acinzentado, cada pêlo e cerda inseridos no meio de uma pinta preta ou castanho-escura; arista com 6 a 9 ramos; corno com cerca de 1/4 do comprimento da pupa; índice costal de 2.5 a 3.5. Inclue *D. repleta* Wollaston e um grande número de espécies morfológicamente muito semelhantes. Considerando-se apenas a forma da espermateca e o número de voltas do receptáculo ventral, é fácil separar algumas espécies desse grupo em vários subgrupos:

a) **sub-grupo repleta:** espermateca em forma de ponta de dedo; receptáculo ventral com cerca de 70 a 100 voltas. *D. repleta*, *D. brunneipalpa* Dobzhansky e Pavan, *D. canapalpa* Patterson e Wheeler, etc.

b) **sub-grupo mercatorum:** espermateca rudimentar alongada; receptáculo ventral com poucas voltas (6 a 25). *D. mercatorum* Patterson e Wheeler, *D. mercatorum pararepleta* Dobzhansky e Pavan, *D. paranaensis* Barros e outras.

c) **sub-grupo hydei:** espermateca muito pequena em forma de capuz sobre uma longa haste; receptáculo ventral muito longo com cerca de 250 giros definidos ou tendo até 20 giros. *D. mulleri*

d) **sub-grupo mulleri:** espermateca rudimentar em forma de dedal; receptáculo ventral sem giros definido ou tendo até 20 giros. *D. mulleri* Sturtevant, *D. aldrichi* Patterson e Crow, *D. buzzatii* Patterson e Wheeler, etc.

9) **grupo robusta.** Espécies grandes e escuras; tubos de Malpighi apostos sem formar um lumen contínuo; índice costal cerca de 4.0; arista com 9 ramos; corno com cerca de 2/5 do comprimento da pupa. Inclue *D. robusta* Sturtevant e provavelmente *D. colorata* Walker e *D. sordidula* Kikkawa e Peng.

10) **grupo melanica.** Espécies negras; ovos com dois filamentos; estes são compridos como o ovo; índice esternal 0.7 a 0.8; segunda oral menor do que a metade da primeira; arista com 7 a 8 ramos. Inclue *D. melanica* Sturtevant e algumas outras

espécies norte-americanas e asiáticas muito próximas a ela.

11) **grupo polychaeta.** Espécies grandes castanho-avermelhadas; três pares de dorso-centrais; índice costal cerca de 2.0; índice da quarta veia 1.8 a 2.2. Inclue *D. polychaeta* Patterson e Wheeler e provavelmente *D. illota* Williston e *D. grandis* Kikkawa e Peng.

12) **grupo carbonaria.** Espécies muito escuras; orbital mediana quasi tão longa quanto a anterior; pupa com uma superfície áspera. *D. carbonaria* Patterson e Wheeler.

13) **grupo cardini.** Espécies avermelhadas ou castanho-amareladas, brilhantes; as larvas saltam; tubos de Malpighi anteriores com tronco comum até 1/3 de seu comprimento; facetas estreitas; índice esternal cerca de 0.5; índice costal cerca de 3.9. Inclue *D. cardini* Sturtevant, *D. polymorpha* Dobzhansky e Pavan e *D. neocardini* Streisinger. *D. cardinoides* Dobzhansky e Pavan provavelmente é sinônimo de *D. cardini*, embora, na descrição original dessa última, a configuração cromossômica seja diferente da descrita para *D. cardinoides*.

14) **grupo immigrans** (subgênero *Spinulophila* Duda igual a *Acanthophila* Duda). Espécies amareladas sem brilho; uma fila de cerdas fortes e curtas na parte interna da tibia da primeira pata; índice costal acima de 3.0; cornos com cerca de 1/2 do comprimento da pupa. Inclue *D. immigrans* Sturtevant e *D. spinofemora* Patterson e Wheeler. A fila de cerdas curtas do femur não é característica desse grupo, uma vez que é também encontrada em *D. mediotriata* Duda, que pertence certamente a outro grupo, como vimos atrás.

15) **grupo annulimana.** Espécies grandes, muito escuras (quasi negras); torax em parte semelhante ao do grupo **repleta**; orbital mediana inserida externa e anteriormente à inserção da orbital anterior. Inclue *D. annulimana* Duda, *D. gibberosa* Patterson e Mainland, *D. ararama* Pavan e Brito da Cunha e outras espécies brasileiras muito relacionadas.

16) **grupo guarani.** Espécies cinzento-acastanhadas ou escuras; mesonotum e pleura polinosos; índice costal acima de 3.9; arista com 11 a 13 ramos; veias transversais esfumaçadas. Inclue cinco espécies brasileiras e uma mexicana: *D. guarani* Dobzhansky e Pavan, *D. guaru* Dobzhansky e Pavan, *D. grizeolineata* Duda, *D. guaramunu* Dobzhansky e Pavan, *D. guarajá*, King (= *D. pulla* Pavan e Cunha) e *D. subbadia* Patterson e Mainland.

17) **grupo calloptera.** Espécies de asas escuras com grandes manchas brancas, formando complicados desenhos. No Brasil, Burla (não pu-

blicado) determinou quatro espécies desse grupo, sendo, uma delas, *D. calloptera* Schiner.

Para modelo daremos a seguir a descrição de *D. bocainensis* Pavan e Brito da Cunha (1947).

Arista com 10-12 ramos. Antenas amarelas acastanhadas; 3.º segmento mais escuro e densamente piloso; 2.º segmento mais claro nos bordos. Fronte uniformemente castanha amarelada; espaço entre as ocelas mais escuros; pequenas cerdas curvadas para dentro, no encontro das linhas frontais; uma série de pequenas cerdas indo desde a orbital média até o nível da antena, acompanhando o bordo dos olhos. Orbital anterior ligeiramente mais curta do que a posterior, mediana com 3/7 da posterior; duas orais proeminentes iguais. Face amarela acastanhada, clara. Carina pouco proeminente, arredondada, não sulcada. Facetas amarelas acastanhadas, claras, medindo 1/7 do maior diâmetro ocular, na sua região mais larga. Palpos da mesma cor da face, ligeiramente mais escuros na base, com uma cerda proeminente no ápice. Olho vermelho vivo, com pilosidade preta.

Acrosticais em 8 séries irregulares. Escutulares anteriores divergentes. Não há preescutulares. Torax opaco, castanho claro, pleuras da mesma cor. Esternopleural anterior 1/2 da posterior e mais fina, mediana com aproximadamente 1/4 do comprimento da posterior e muitíssimo mais fina. Pernas amarelas acastanhadas claras; cerda apical nítida só na 2.ª tibia, preapical nas 3.

♂ e ♀ - Abdomen: 1.º tergito amarelo acinzentado. 2.º, 3.º e 4.º com bandas marginais posteriores pretas, expandidas no centro e nos lados, alcançando o bordo anterior; banda marginal anterior amarela acastanhada interrompida no centro; os tergitos restantes são inteiramente pretos.

Azas levemente enfumaçadas, veia transversal posterior sombreada, fortemente em alguns indivíduos; 2 cerdas proeminentes no ápice da 1.ª seção costal; índice costal 2,9-3,4; índice da 4.ª veia 1,5-1,8; índice 5 x 1,2-1,6.

Comprimento do corpo 2,6-3,5mm; comprimento das azas 2,7-3,0mm.

Tubos de Malpighi anteriores e posteriores livres.

Testículos amarelo-pálidos, com 5-6 voltas. Espermateca elipsoidal bem quitinizada com pequena eminência no ápice.

Receptáculo ventral fino e enrolado em novelo.

Ovos com 2 filamentos medindo metade do comprimento do ovo e alargados na metade distal.

Pupa castanho amarelada; corpos rudimentares com cerca de 7 filamentos.

Cromosomas: 2 pares de V's iguais e 1 par de bastonetes mais ou menos do mesmo tamanho que os braços dos V's.

Distribuição: Serra da Bocaina, fevereiro de 1944; Mogi das Cruzes, março de 1944; Iporanga,

junho de 1944; Itanhaen, Dezembro de 1946; Lamberdor (Paraná), janeiro de 1947.

Relações: Pertencé ao grupo *willistoni* do subgênero *Sophephora*. Muito relacionada com *D. fumipennis* e *D. nebulosa*.

## Métodos de preparação de lâminas de cromosomas

O método mais prático de se observarem cromosomas mitóticos de *Drosophila* consiste em usar cérebros (gânglios nervosos, fig. 21) de larvas relativamente jovens, fixados e corados emorceina acética\*, que deve ser preparada da seguinte forma:

Orceina . . . . .	2 grs. **
Ácido acético . . . . .	60 c.c.
Água distilada . . . . .	40 c.c.

Aquece-se o ácido acético em banho maria e junta-se a orceina. Em seguida, adiciona-se a água. Filtra-se depois de esfriar.

Ótimas agulhas para dissecação podem ser feitas com um pequeno bastão de madeira resistente

(12 cm. de comprimento) em cuja ponta se adapta uma agulha de costura de grossura média (Fig. 22).

Para a dissecação, devemos proceder segundo a fig. 21. Com a agulha da mão esquerda em posição quasi horizontal, segura-se a larva aproximadamente pelo meio ou um pouco mais para a frente. Com a da mão direita, prende-se a cabeça e puxa-se na direção da seta. Assim, extraímos vários órgãos da larva, entre os quais separamos o cérebro. Convém "limpa-lo" de todo material estranho a ele associado, afim de se obter uma boa preparação. A dissecação pode ser feita diretamente em uma gota de orceina acética forte (como a fórmula acima), fraca (com uma menor porção de orceina, 40 c.c. de ácido acético e 60 c.c. de água) ou

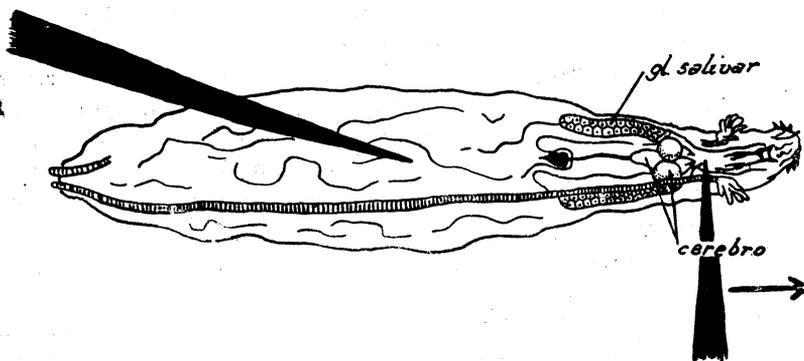


Fig. 21 — Larva mostrando cérebro, glândulas salivares e posição das agulhas para a dissecação.

— Explicações no texto. —

\* Carmim acético (sol. saturada em 45% de ácido acético) também dá bons resultados.

\*\* A quantidade de orceina varia conforme a marca. Em alguns casos, 1 gr. basta para se obter um bom corante.

em solução fisiológica.

Numa mesma gota, podemos dissecar várias larvas e separar seus cérebros. Feito isto, êles são passados, na ponta da agulha, para a lâmina onde já se encontra uma gota do fixador-corante. Aí, devem permanecer alguns minutos até que tomem

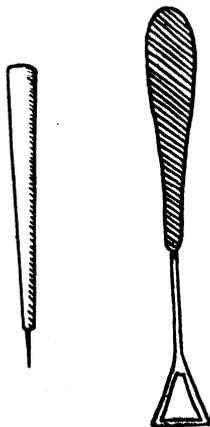


Fig. 22 e 24 — Agulha de dissecação e triângulo de lutagem.

uma cor escura em contraste com o vermelho daorceina. Para se facilitar o exame ao microscópio, deve-se dar, aos cérebros, uma distribuição simétrica na lâmina, de tal modo que possam ser individualizados depois. Assim dispostos, coloca-se sobre êles uma lamínula e, com o polegar, comprime-se fortemente sobre uma superfície plana e entre as duas partes de um mata-borrão dobrado ao meio (Fig. 23).

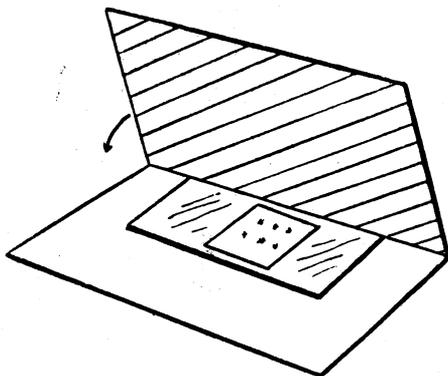


Fig. 23 — Posição em que deve ficar a lâmina no mata-borrão ao se proceder o esmagamento.

Para se evitar a evaporação do corante-fixador e conseqüente perda do material, deve-se enlutar a lâmina. Pode-se usar parafina, cera ou luto (mistura de cera e breu) aquecidos. Esta operação é feita com o triângulo de lutagem (Fig. 24) ou mesmo com um arame recurvado na ponta.

Para se obterem preparados de cromosômas salivares o método é o mesmo acima descrito. De-

ve-se usar, porém, larvas bem alimentadas e pouco antes de sua transformação em pupas — isto é, quando elas já começam a se imobilizar.

Para a extração das glândulas salivares, convém tomar um cuidado especial no preparo das larvas. Os vidros devem ter poucas larvas e abundância de fermento. Convém que este seja adicionado ao meio em forma de solução forte.

As lâminas preparadas pelo processo acima são de curta duração. Podemos, porém, transformá-las em permanentes. Se a lâmina está enlutada, a primeira operação a ser feita é a retirada do luto. Pode-se usar, para isto, uma lâmina de barbear ou a própria agulha de dissecação. Esta operação deve ser feita com muito cuidado, afim de que a lamínula não se desloque, o que causaria o enrugamento e conseqüente perda do preparado.

Em seguida, passa-se a lâmina durante um minuto, em xilol para que complete a remoção do luto, finda a qual o preparado é posto em álcool absoluto. É conveniente usar uma placa de Petri em cujo fundo se colocam dois pequenos bastões (palitos de fósforos, por ex.) que sustentarão a lâmina completamente imersa e com a lamínula voltada para baixo. O álcool, infiltrando-se entre lâmina e lamínula, fará com que, em poucos minutos, esta se desprenda e caia no fundo da placa. A lamínula poderá ser removida, também, por meio de uma lâmina de barbear, mas esta operação requer uma grande prática. Se antes do esmagamento tivermos passado um pouco de albumina de ovo sobre a lâmina, o material prender-se-á melhor nesta, o que facilitará a retirada da lamínula sem afetar o preparado.

Solta a lamínula, passa-se o preparado em xilol puro e xilol fenicado. Coloca-se uma gota de bálsamo do Canadá ou Euparol sobre o material e cobre-se com uma lamínula nova. Deixa-se secar ao ar livre ou em estufa.

Pode-se transformar a lâmina temporaria em permanente sem a remoção da lamínula (Hsu, 1948). Coloca-se a primeira em uma mistura de xilol e álcool absoluto em partes iguais, a que se adicionaram algumas gotas de ácido acético glacial. Depois aplica-se bálsamo muito diluído ao redor da lamínula e deixa-se que se infiltre no preparado.

Caso todo ou parte do preparado fique aderido à lamínula, dá-se a esta o mesmo tratamento acima referido, adaptando-a a uma nova lâmina.

## Cromosomas Mitóticos\*

O número de cromosomas no gênero *Drosophila* varia, como dissemos, entre seis (grupo *willistoni*) e doze (*D. virilis*, *D. repleta*, etc.)\*\*. A fig. 26 mostra os tipos mais comuns de configurações cromossômicas. O tipo considerado como básico (Sturtevant e Novitski, 1941) corresponde ao de *D. virilis* (Fig. 26-1): cinco pares de cromosomas acrocêntricos (em forma de bastonete) e um par de grânulos. Todos os outros tipos podem ser derivados desse. Assim, a fusão de dois bastonetes dá um grande V (cromosoma metacêntrico). Uma inversão pericêntrica (v. pag. 31) transforma um bastonete em um pequeno V. Translocações (isto é, passagem de um segmento de um cromosoma para outro não homólogo) poderão fazer de um grânulo, um bastonete.

A configuração cromossômica de *D. melanogaster* (Fig. 26-c, fêmea) seria a resultante da fusão de quatro bastonetes originais, dois a dois, permanecendo o grânulo (IV) e um dos bastonetes (X) sem alterações desse tipo. Uma translocação da base heterocromática do X para o grânulo pode fazer com que este se transforme em um cromosoma maior (Exemplo: cromosoma IV de *D. ananassae*, fig. 26-d, que é um pequeno V homólogo ao grânulo de *D. melanogaster*). Uma inversão pericêntrica em um dos elementos fez, de um bas-

tonete, uma pequena alça (cromosoma II de *D. montana*, fig. 26-i). A fig. 27 é um esquema da evolução de duas espécies do grupo *virilis* e exemplifica algumas dessas modificações sofridas pelos cromosomas.

Quando falamos em cromosomas em forma de bastonete (acrocêntrico), somos levados a supor que

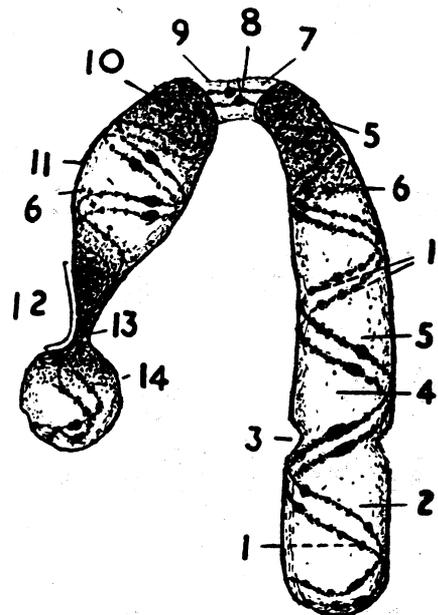


Fig. 25 — Estrutura geral de um cromossoma metacêntrico: 1, cromômeros; 2 e 4, eucromatina; 3, constrição secundária; 5, braço maior do cromossoma; 6, matriz; 7 e 9, constrição primária com centrômero; 8, cromômero centromérico; 10, heterocromatina; 11, braço menor do cromossoma; 12, região organizadora do nucléolo; 13, constrição secundária; 14, satélite.

(\*) A figura 25 representa um cromossoma esquemático ideal, em que estão indicadas as suas várias partes a que nos referiremos no decorrer do presente capítulo.

\*\* Ward (1949) encontrou, porém, uma linhagem de *D. trispina* com 14 cromosomas: 5 pares de bastonetes, 1 par de grânulos grandes e 1 par de grânulos pequenos.

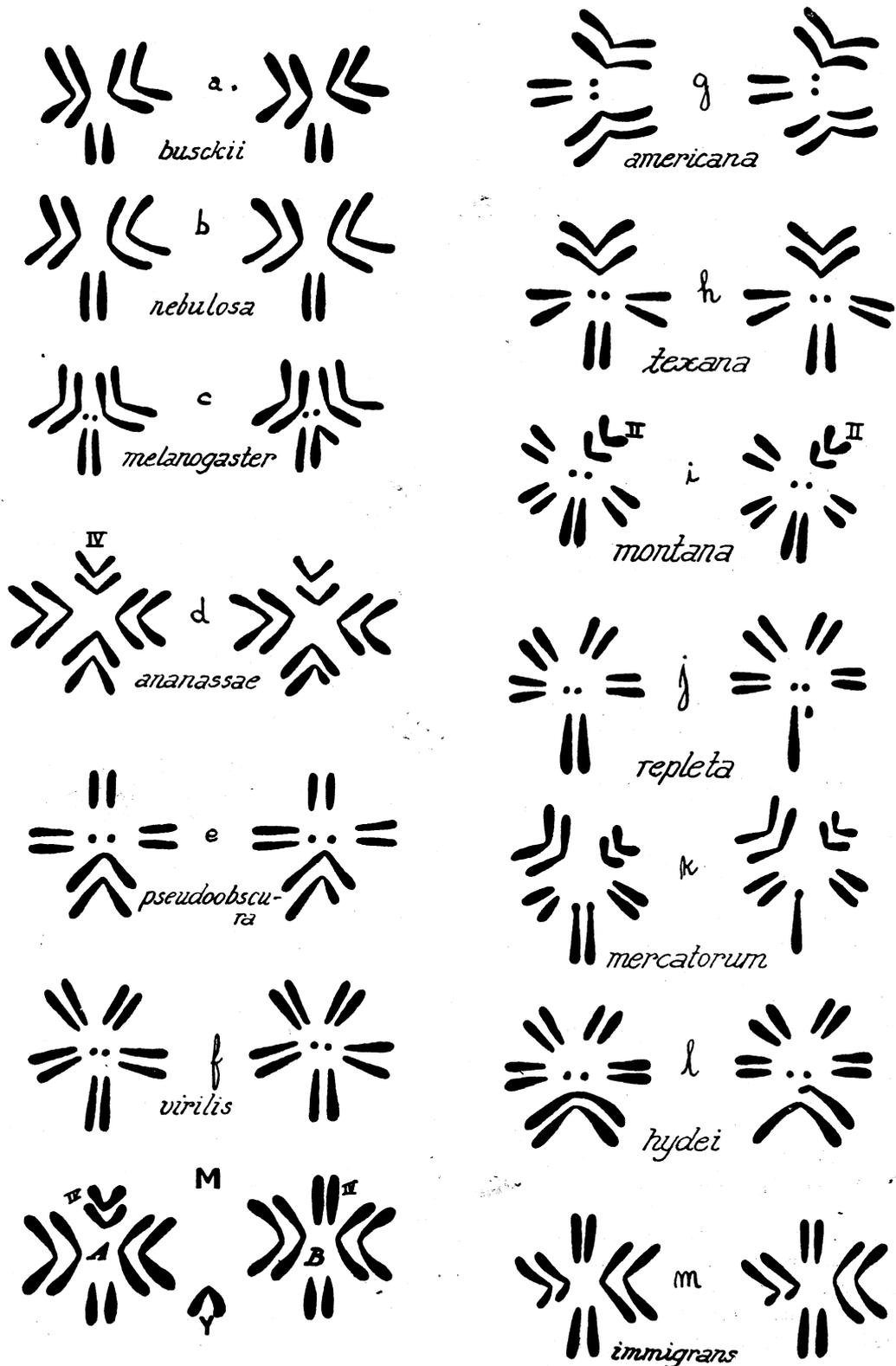


Fig. 26 — Configurações cromosômicas de várias espécies de *Drosophila*. (Seg. Wharton, 1943, modif.) Para detalhes, v. texto. M: *D. montium* ("raças" A e B).

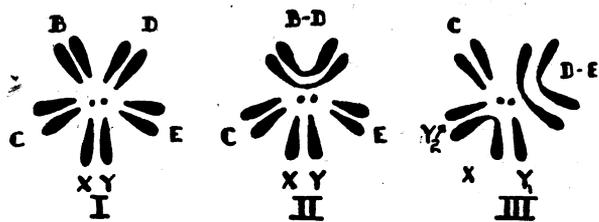


Fig. 27 — Cromosomas de I. *Drosophila virilis*, II. *D. americana texana* e III. *D. a. americana*. Em D. texana, os elementos B e D encontram-se fundidos formando um só cromosoma. Em D. a. americana, a fusão ocorreu entre D e E e entre o X e o B. O macho desta sub-espécie é, pois, XY:Y.

são dotados apenas de um braço com centrômero \*\* terminal. Esta, porém, não é a verdade. Todos os cromosomas acrocêntricos bem estudados demonstraram possuir centrômero sub-terminal, isto é: tanto quanto a análise citológica nos permite generalizar, todo cromosoma tem dois braços (cf. 28-a, c, d, i). Até o pequeno grânulo de *D. melanogaster* não constitue exceção, uma vez que também se mostrou constituído de dois braços, sendo um deles, o esquerdo, menor que o outro. (Fig. 28-h).

Fizemos referências, há pouco, ao cromosoma IV de *D. ananassae* e ao II de *D. montana*. Aproveitamos a ocasião para dizer que cada cromosoma de um genoma deve ter uma designação afim de que possa ser citado de modo claro. A maioria dos citologistas usa a designação por números, dando o número I ao cromosoma X. Assim, em *D. melanogaster* (fig. 29), o cromosoma X é I, as duas alças são II e III e o grânulo é o IV. Em *D. virilis* (fig. 27-5), o cromosoma X é I e o grânulo, VI.

Para a individualização dos braços de um cromosoma damos-lhes as designações arbitrárias de "esquerdo" e "direito". Caracterizamos-os pelo comprimento, caráter heteropienótico ou não, presença ou ausência de constricções secundárias ou satélites, etc. (cf. fig. 25). Um determinado bra-

ço de um cromosoma pode ser expresso, com esta nomenclatura, de um modo rápido e claro: IIE significa "braço esquerdo do cromosoma II"; IIID, "braço direito do cromosoma III", etc.

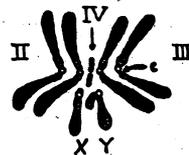


Fig. 29 — Distribuição da eu- e da heterocromatina (em pontilhado) em *D. melanogaster*. (Copiado, com modificações, de White, 1937).

Em cada espécie, há sempre um par de cromosomas (geralmente cromosomas sexuais) portador da "região organizadora do nucléolo", comumente associada a uma constricção secundária, (cf. fig. 25) *D. ananassae* é a única exceção conhecida, já que o macho possui três cromosomas encarregados de formar o nucléolo: o par IV e o Y. (Fig. 30).



Fig. 30 — Profase de *D. ananassae*, vendo-se três cromosomas (Y e o par IV) associados ao nucléolo (Kaufmann, 1937).

Enquanto, em qualquer profase no gênero *Drosophila*, vemos sempre 2 cromosomas associados ao nucléolo, nos machos de *D. ananassae* verificamos a presença de três (Kaufmann, 1937). Este fato (passagem da região formadora do nucléolo do X para o IV) é uma prova indireta de que houve uma translocação do primeiro para o segundo.

Durante a profase, nem todos os cromosomas assim como nem todo um determinado cromosoma

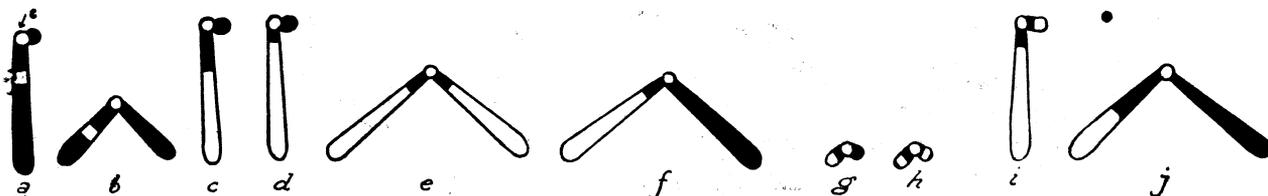


Fig. 28 — Distribuição da eu- e da heterocromatina (em preto) em vários tipos de cromosomas.

\*\* Sobre centrômero, v. a revisão de Lima-de-Faria (1949).

se individualizam ao mesmo tempo. As regiões ou cromosomas heterocromáticos apresentam uma precocidade de nucleinização (carregamento de ácido nucleico, em relação à eucromatina). Este fenômeno chama-se heteropienose. A distinção entre êsses dois constituintes cromosômicos (eu- e heterocromatina), problema altamente complexo, não se prende apenas ao aspecto citológico, mas também ao conteúdo gênico. Até há pouco tempo, a heterocromatina era considerada como geneticamente inerte. Hoje, admite-se que ela também contém gens cujo comportamento difere dos da eucromatina (Mather, 1947).

Numa profase de macho de *D. melanogaster* verifica-se que são heteropienóticas as regiões vizinhas aos centrômeros de todos os autosomas e o cromosoma Y (cf. a distribuição da heterocromatina nesta espécie: fig. 29). Estas regiões e este cromosoma mostram-se, em geral, heteropienóticos em todo o gênero *Drosophila*. A fig. 31 apresenta várias profases em *D. montium*. Pode-se ver que além do Y, há um par de cromosomas heteropienóticos (cromosoma IV provavelmente homólogo ao grânulo de *D. melanogaster*; Freire-Maia, 1947). Em *D. ananassae*, o cromosoma IV também é heteropienótico (Kikkawa, 1957).

A forma de um determinado cromosoma é

constante dentro da espécie, raramente havendo casos de variação. Esta, excepcionalmente, só tem sido encontrada em cromosomas total ou quase totalmente heterocromáticos. Em *D. pseudoobscura*, v.g., há vários tipos de cromosoma Y (cf. Dobzhansky, 1937). Em *D. ananassae*, o Y também apresenta sensíveis variações (Kaufmann, 1937). Em *D. montium*, não foi notada variação no Y\*. Esta espécie apresenta, porém o que Kikkawa (1936) imprópriamente chamou de "raças cromosômicas". A "raça A" possui o cromosoma IV em forma de V (metacêntrico), ao passo que este mesmo cromosoma é em forma de

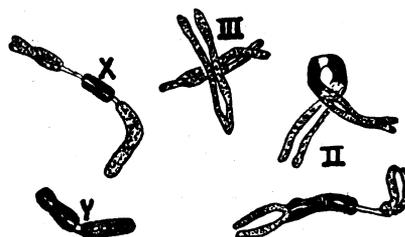


Fig. 32 — Profase em macho de *D. nebulosa*: Y inteiramente heteropienótico, X e II com heterocromatina nas imediações do centrômero e III praticamente sem diferenciação heteropienótica. — (Pavan, 1946, modif.). —

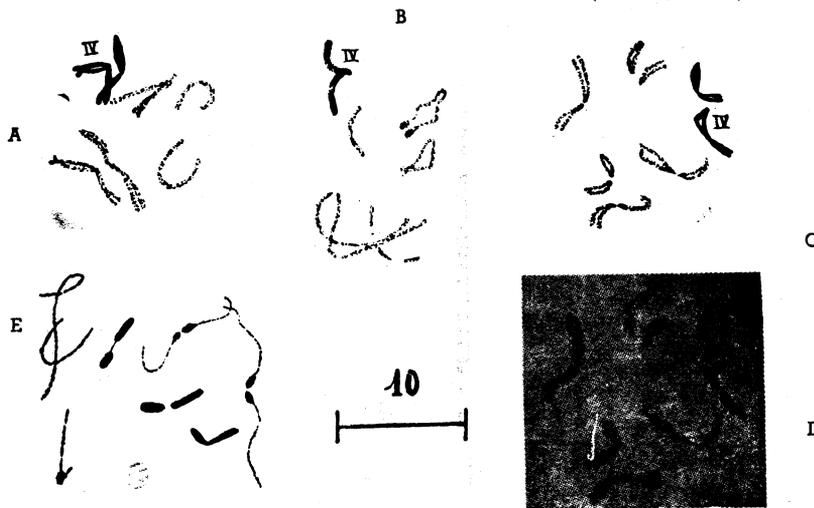


Fig. 31 — Profases em *D. montium*, vendo-se um par de cromosomas heteropienóticos nas fêmeas (A, B, C e D) e, nos machos (E), três cromosomas heteropienóticos, sendo o Y um dêles; F — Distribuição aproximada da heterocromatina (em preto) — em *D. montium* (Freire-Maia, 1947). —

\* Ward (1949) encontrou variação nesse cromosoma (bastonete).

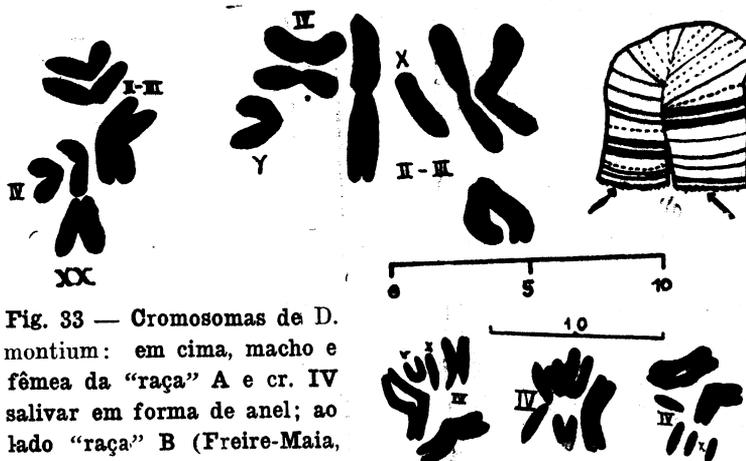


Fig. 33 — Cromosomas de *D. montium*: em cima, macho e fêmea da “raça” A e cr. IV salivar em forma de anel; ao lado “raça” B (Freire-Maia, 47).

bastonete (acrocentrico) na “raça B” (v. fig. 32). Essas duas “raças” cruzam muito bem na natureza e no laboratório (Tan e Hsu, 1944) e não há diferenças morfológicas entre elas (Tan e Hsu, 1944; Freire-Maia, 1947 e 1949 b). Uma inversão pericêntrica talvez seja a causa do heteromorfismo do IV de *D. montium* (Tan, 1942). Em *D. mer-*

*catorum pararepleta* (Rosina de Barros, com. pessoal), existe também variação no tamanho do cromosoma V.

Em *Drosophila*, há o fenômeno da “atração secundária” pelo qual os cromosomas homólogos se atraem e pareiam durante a mitose (pareamento somático).

## Cromosomas Salivares

É muito conhecido nos insetos o fenômeno da endomitose (divisão dos cromosomas sem divisão celular). Consequência da endomitose é a endopoliploidia. Os cromosomas politênicos das glândulas salivares das larvas dos dípteros (por abreviação, "cromosomas salivares" ou simplesmente "salivares") são um exemplo de endopoliploidia. (Fig. 36).

Constituem o material mais notável para o estudo da cito-genética pelos seguintes motivos:

1. São aproximadamente 100 vezes mais longos que os cromosomas mitóticos (**Maior facilidade de exame**).

2. Quando corados, apresentam uma diferenciação longitudinal expressa por regiões escuras (faixas) e claras (inter-faixas). (**Permitem o estudo e reconhecimento de pontos determinados e verificação de alterações por pequenas que sejam**).

3. Os homólogos encontram-se no mais íntimo pareamento. (**Qualquer variação em apenas um dos cromosomas provoca uma alteração no seu pareamento, tornando-a evidente**).

A fig. 34 mostra-nos um esquema dos salivares de *D. montium* e de *D. melanogaster*: u'a massa central de aparência amorfa, de onde irradiam cinco longos braços e a que se prende um pequeno cromosoma em forma de anel. A massa central (cromocentro) é formada pela reunião das partes heterocromáticas dos cromosomas isto é, das regiões que apresentam precocidade de nucleinização na profase. Os braços são as regiões eucromáticas. O cromosoma em anel corresponde ao IV mitótico (a pequena alça da "raça A" ou o maior bastonete da "B" de *D. montium* — cf. fig. 33 — e ao cromosoma em forma de grânulo em *D. melanogaster*. (cf. Fig. 29).

Se compararmos, porém, os cromosomas mitóticos com os salivares, teremos, à primeira vista, certa dificuldade em relacioná-los. U'a manobra fácil solucionará o problema: na preparação da lâmina, comprimindo bastante a lamínula, veremos que o cromocentro se rompe e os braços se separam. Este rompimento e esta separação (fig. 35) dão-se da seguinte maneira: quatro braços separam-se, mas permanecem unidos dois a dois por uma porção do cromocentro; um dos braços fica sózinho com uma parte da heterocromatina e o pequeno cromosoma também se isola. Separados assim os braços, ficará fácil relacioná-los aos cromosomas mitóticos, se levarmos em consideração que cada cromosoma individualizado pela maior compressão da lamínula constitui-se, na realidade, de dois cromosomas homólogos em íntimo pareamento. Assim, os grupos de dois braços são os cromosomas II e III (alças), o braço isolado é o X (bastonete) e o pequeno cromosoma é o IV.

Nas células de fêmeas, o X tem o mesmo grau de coloração que os outros cromosomas, uma vez que também é duplo. Nos machos, há apenas um X e, por isto, esse cromosoma salivar é bem mais pálido que os outros (Fig. 37). O cromosoma Y sendo heterocromático, fica totalmente unido ao cromocentro, confundindo-se com êle. Por métodos especiais, usando-se, por exemplo, uma translocação, pode-se evidenciá-lo facilmente. A fig. 38 apresenta parte do cromocentro por um braço do cromosoma II que com êle estava associado por translocação (Pavan, 1946).

Pela simples análise dos cromosomas mitóticos de uma mosca, não poderemos concluir como se apresentarão os seus salivares. Tomemos, v.g. o

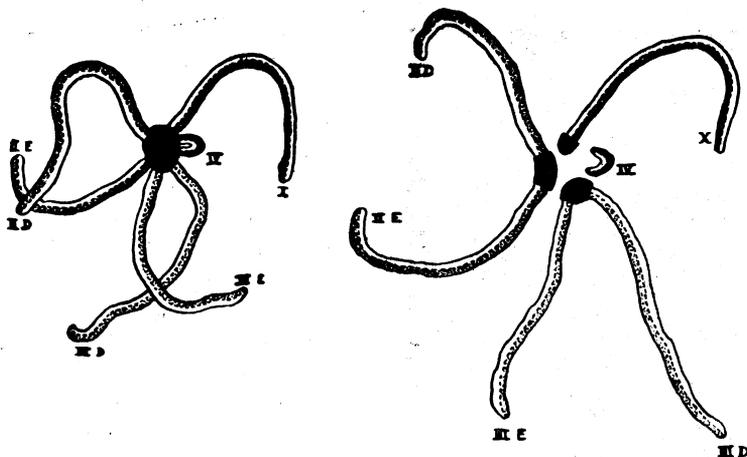


Fig. 34 — Esquema dos cromosomas salivares de *D. melanogaster* e *D. montium*. D e E indicam os braços direito e esquerdo dos cr. II e III. Cromocentro em preto. —

Fig. 35 — Esquema de cromosomas salivares dissociados (comparar com os da fig. 34). Os dois braços de II e III mantêm-se unidos pelo bloco de heterocromatina que lhes pertence. —

caso de *D. montium* (fig. 33). Se os seus cromosomas possuíssem heterocromatina apenas nas imediações dos centrômeros, deveríamos observar, nas salivares, sete braços irradiando do cromocentro ("raça A"). No entanto, só encontramos cinco, que se separam conforme a fig. 35, e um pequeno cromosoma preso ao cromocentro pelas duas extremidades. Isto significa que este pequeno anel eucromático possui heterocromatina nas duas extremidades. A constituição do cromosoma IV de *D. montium* deve ser provavelmente como está esquematizado na fig. 28-a-b. (Cf. Tan, 1942). Toda a heterocromatina vai para o cromocentro e o pequeno segmento eucromático a êle se prende, então, pelos dois lados, formando um arco (Fig. 33).

O problema da distribuição da heterocromatina é muito interessante e além do seu aspecto puramente citológico, oferece oportunidades relativamente amplas no campo da evolução, quando focalizado em várias espécies bastante relacionadas.

Analisando cromosomas salivares, devemos a notar os braços que se separam associados e os que se separam isoladamente, assim como as quantidades da heterocromatina do cromocentro que permanecem em cada um deles. A comparação desta análise com o aspecto dos cromosomas mitóticos (metáfase) e com a heteropienose dos cromosomas em profase fornece dados que, em cotejo com

os obtidos em outras espécies, pode, como dissemos, oferecer sugestões sobre os possíveis caminhos da evolução nas formas estudadas (cf., por exemplo, Wharton, 1943).

Por êsse método comparativo, verifica-se se há cromosomas ou braços inteiramente heteropienóticos e se estamos diante de vários "tipos" de heterocromatina.

Os três estudos que resumiremos a seguir, realizados com material brasileiro, mostram alguns tipos de distribuição da heterocromatina:

1. *D. nebulosa* possui dois pares de V (X e I) e um par de bastonetes (III). (Cf. fig. 26-b.) O cromosoma X apresenta uma larga região heteropienótica de cada lado do centrômero, II é dotado de uma porção menor e III mostra apenas uma pequena região heterocromática (Fig. 32). Nos salivares, se a heterocromatina desses três cromosomas tivesse um mesmo comportamento, deveríamos observar o X com a maior porção do cromocentro, o II com um pouco menos e o III apenas com uma pequena fração. Não é isto, porém, que acontece, pois o II fica com quase todo o cromocentro, deixando o X e o III com muito pouco heterocromatina. Há, como se vê, um contraste entre a heteropienose das profases e a ruptura do cromocentro nas salivares. O contraste é ainda maior em relação ao Y que, apesar de ser inteiramente heterocromático, apresenta-se, nas salivares,

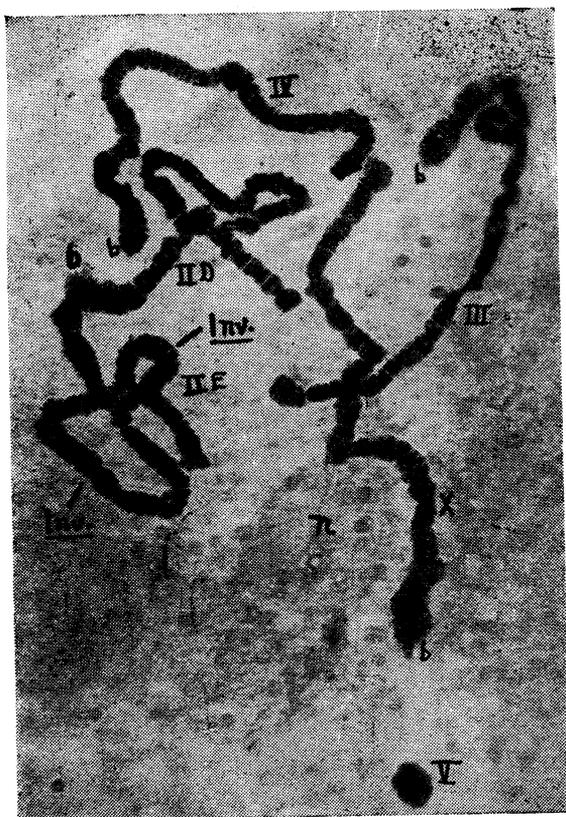


Fig. 36 — Cromosomas salivares de *D. paranaensis* fêmea. N-nucléolo, Inv.-inversão, b-bases, D-braço direito, E-braço esquerdo (R. de Barros, não publ.). como um agrupamento de poucos heterocromômeros (cf. fig. 38). Há, pois, pelo menos dois tipos de heterocromatina em *D. nebulosa*: uma que pouco se reduz e outra que é muito reduzida nos salivares, em relação à eucromatina. A heterocromatina dos cromosomas II e III pertence à primeira classe; a do X e Y, à segunda (Pavan, 1946);

2. Em *D. montium* (cf. pag. 30), o autosoma que se mostra completamente heteropienótico nas profases (cromosoma IV; v. fig. 31) é o que menos tem heterocromatina nas salivares (cf. fig. 33). Os outros, que possuem apenas pequenas regiões heteropienóticas, ficam com quasi todo o cromocentro. (Freire-Maia, 1947). Trata-se, como se vê, de uma situação semelhante à de *D. nebulosa*.

3. Em *D. pallidipennis*, o cromosoma X apresenta-se, nas profases dos neurocitos, heteropienótico em mais da metade de sua extensão, enquanto os outros praticamente não mostram heteropienose. Nas salivares, o cromocentro distribue-se perfeitamente de acôrdo com êstes dados (Dobzhansky,

1944), isto é, em *D. pallidipennis*, ao contrário do que acontece em *D. nebulosa* e *D. montium*, não há diferença de redução de heterocromatina nas salivares.

Além da análise da distribuição da heterocromatina, um estudo sôbre cromosomas salivares (principalmente se incluir o desenho de todos êles — “mapas cromosômicos”, cf. prancha I), contém, ainda, a verificação da distribuição da eucromatina. Em outros termos isto significa que deve ser calculado o comprimento relativo de cada cromosoma em relação à soma do comprimento de todos êles. Assim, considerando-se como 100 o comprimento global dos cromosomas de *D. montium*, os seus vários cromosomas valerão: X - 18.82. II — 36.10 (IIE — 18.87 e IIID - 17.23), III - 43.19 (IIIE - 24.18 e IIID - 19.01) e IV - 1.89 (Freire-Maia, 1947). Com êstes dados é que se divide cada cromosoma em um número de regiões proporcional ao seu comprimento relativo. *D. nebulosa*, por exemplo, tem seus cromosomas divididos da seguinte forma (cf. Pavan, 1946):

X (alça): 1 a 17 (braço esquerdo) e 18

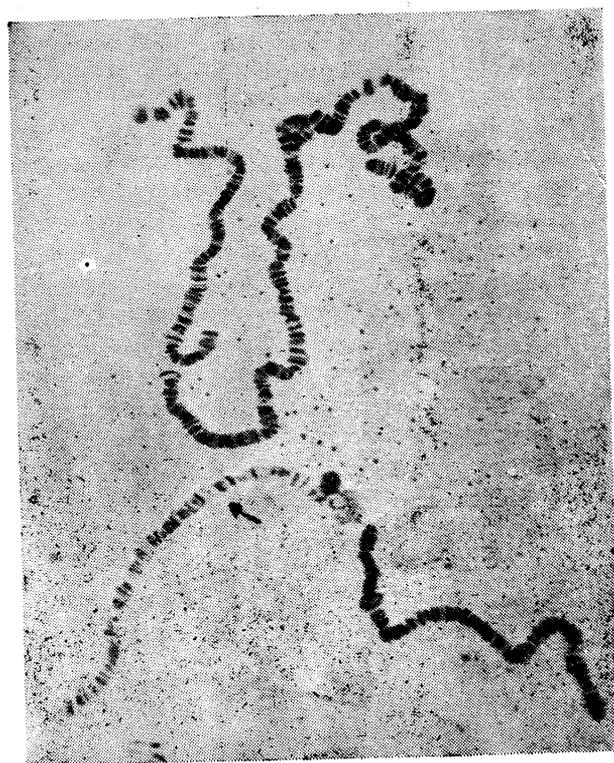


Fig. 37 — Cromosomas salivares de macho de *D. pararepleta*, vendo-se o X mais pálido por ser haplóide — (R. de Barros, 1949). —

a 35 (direito).

II<sub>1</sub> (alça): 36 a 54' (braço esquerdo) e  
55 a 75 (direito).

III (bastonete): 76 a 100.

Para *D. pallidipennis*, temos os seguintes dados: X -  $18.36 \pm 0.47$ , A -  $25.60 \pm 0.64$ , B -  $19.04 \pm 0.34$ , C -  $21.20 \pm 0.65$  e D -  $15.76 \pm 0.43$  (Dobzhansky, 1947). Valendo, pois, o cromossoma D - 15.76%, o mapa deste elemento (fig. 39) foi dividido em 16 secções (cf. Freire-Maia e Engel, 1949).

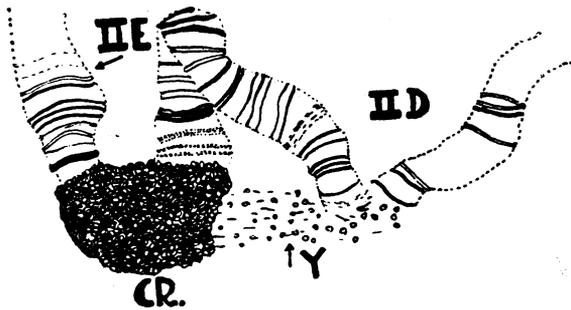


Fig. 38 — Cromossoma Y salivar de *D. nebulosa* evidenciado por uma translocação com o II — (Pavan, 1946). —

Em *D. montium*, reconhecemos, nas salivares, os cromossomas X e IV (o primeiro, por ter apenas um braço que se apresenta mais pálido nos machos; o segundo, por ser o menor), mas ainda não sabemos quais das duas “alças” salivares correspondem ao II e ao III mitóticos, isto é desconhecemos a correlação mitótico-salivar de II e III. Além disto, é puramente arbitrária a designação II-III para os salivares (Freire-Maia, 1947), já que não sabemos se II salivar corresponde a II genético (a designação para este foi dada em primeiro lugar; cf. Osima, 1940). Em *D. nebulosa*, no entanto, como só há dois pares de autosomas (II e III) e como estes têm formas diferentes (alça e bastonete), fica fácil relacionar os cromossomas mitóticos com os seus correspondentes salivares (cf. Pavan, 1946 b). Nos casos bem estabelecidos (*D. melanogaster*, v.g.), relacionamos não só os cromossomas mas também seus respectivos braços porque, nêles, existem gens mutantes suficientes para que, por meio de translocações e deficiências, a correlação pudesse ser realizada.

Quando dois cromossomas homólogos têm os seus gens na mesma ordem, o pareamento se dá como mostra a fig. 40-1. Quando, porém, o arranjo gênico de um difere do outro por uma inversão,

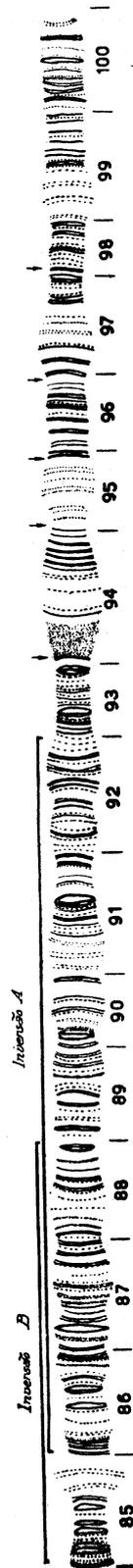


Fig. 39 — Mapa do cromossoma D de *D. pallidipennis*, com a indicação das inversões imbricadas da fig. 42. As setas indicam “pontos fracos”, isto é, regiões em que o cromossoma se apresenta fragmentado em várias preparações. (Freire-Maia e Engel, 1949).

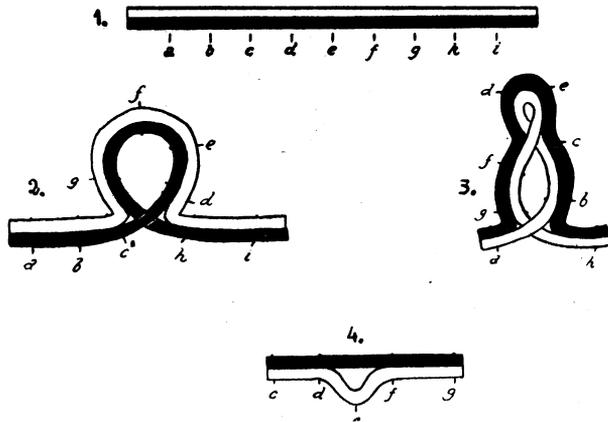


Fig. 40 — 1. Pareamento de dois cromosomas homólogos com a mesma sequência gênica. 2. inversão simples; 3. inversão incluída; 4. deficiência de "e".

o pareamento se dá em arco (fig. 40-2). Na fig. 41, temos um exemplo de inversão simples. Ocorrendo, dentro de uma inversão, uma segunda inversão (inversão incluída), o resultado será o da fig. 40-3 (cf. também fig. 44). Se a segunda inversão pega apenas uma parte da primeira (inversões imbricadas), o pareamento se dá como mostra a fig. 42. (*Drosophila pallidipennis*). Havendo uma deficiência em um dos homólogos (seja a deficiência da região "e"), o pareamento segue o esquema da fig. 40-4. Em *D. ananassae*, encontramos, com frequência, as deficiências terminais primeiramente vistas por Kikkawa (1938) e que se apresentam como na fig. 43. (Cf., também Dobzhansky e Drevfus, 1943). Em *D. melanogaster*, Slizinsky (1946) notou que muitos "gens le-

tais recessivos" encontrados em populações naturais (v. cap. seg.) eram devidos a deficiências de uma faixa nos cromosomas salivares.



Fig. 41 — Inversão simples encontrada em uma espécie do grupo repleta.

A origem dos vários tipos de inversões pode ser esquematizada da seguinte forma:

1. O cromosoma tomado como padrão (abcde-fghi) sofre duas quebras: uma entre "b" e "c" e a outra entre "g" e "h". Segue-se, a estas quebras, a soldadura da secção "cdefg" em sentido inverso de tal modo que o ponto "c" passa a situar-se na vizinhança de "h", e o ponto "g", na proximidade de "b". Disto, resulta um cromosoma cuja sequência gênica será abgfedehi, que difere do padrão por uma inversão:

abcde-fghi → ab - cdefg - hi → abgfedehi  
 Padrão                      Quebras                      Inversão

2. Se, dentro do segmento invertido "gfede", o cromosoma sofrer duas outras quebras (entre "g" e "f" e entre "e" e "d"), caso a soldadura do segmento "fe" se der também em sentido in-

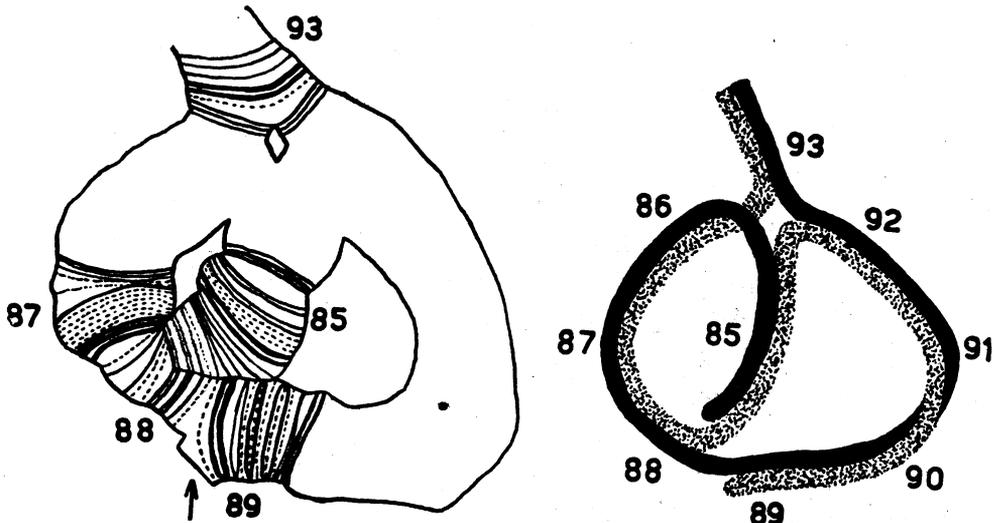


Fig. 42 — Inversões imbricadas do cr. D de *D. pallidipennis pallidipennis*. (Freire-Maia e Engel, 1949).



Fig. 43 — Deficiências terminais de *D. ananassae* — (Kikkawa, 1937). V. também, a fig. 45 —

verso, teremos uma inversão incluída na primeira (abgefdchi) (Cf. fig. 44):

abgefdchi → abg - fe - dchi → abgfedchi

Inversão simples      Quebras      Inversão incluída

3. No exemplo acima, ambas as quebras se deram dentro do segmento invertido do cromossoma abgfedchi. Se, porém, uma delas ocorrer no interior da inversão (entre "f" e "e", por exemplo)

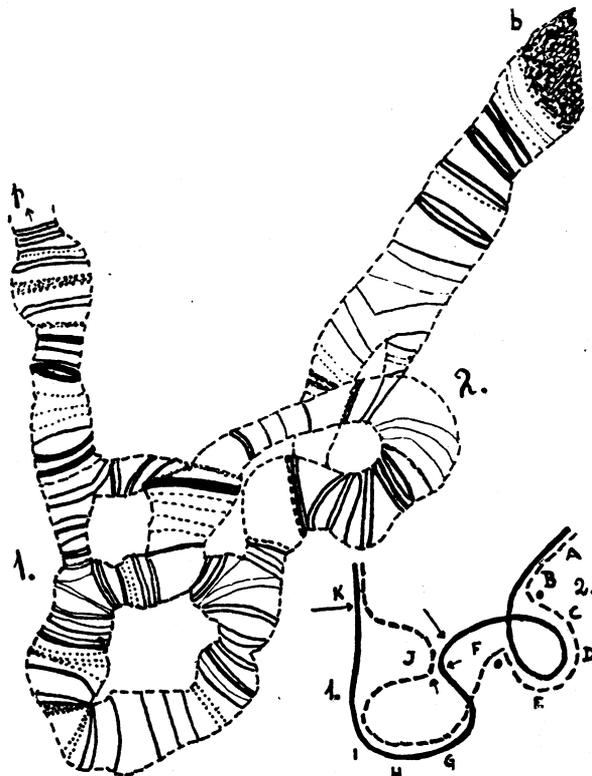


Fig. 44 — Cromossoma de uma espécie do grupo repleta com três inversões: 1. duas incluídas; 2. uma simples; b. base do cromossoma com u'a massa de heterocromatina; p. direção da ponta. No esquema, as setas maiores indicam os limites da inversão maior e as menores, os limites da inversão incluída. Os pontos marcam os limites da pequena inversão independente. Padrão: ABCDEFGHIJK; — cromossoma invertido: ABEDCFJGHIK. —

e a outra fora dela (entre "h" e "i") e se este segmento "edch" se soldar em sentido inverso, teremos o cromossoma abgfedchi, que difere do padrão abcd efghi, por duas inversões imbricadas. Esquemmatizando:

(I) abcd efghi → ab - cdefg - hi → (II) abgfedchi  
Padrão                      Quebras                      Inv. simples

→ abgf - edch - i → (III) abgfedchi  
Quebras                      Inv. imbricadas

O pareamento entre padrão e abgfedchi dá-se segundo mostra a fotografia e o desenho da fig. 42.

Nos casos acima mencionados, admitimos que o centrômero esteja fora das regiões abrangidas pelas inversões (inversões paracêntricas). Caso o centrômero se encontre dentro do segmento invertido (inversões pericêntricas), o cromossoma poderá ter a sua forma alterada, como vimos em *D. montana* do grupo virilis e *D. montium*.

Um tipo raro de mutações cromossômicas é apresentado pelas translocações (passagem de segmento de um cromossoma para outro não homólogo). Dobzhansky e Dreyfus (1943) encontraram, pela primeira vez, uma translocação em população natural de *D. ananassae* (fig. 45). Dobzhansky e Pavan (1943) verificaram, em *D. prosaltans*, uma translocação entre o X e um autossoma (Cf., também, Cavalcanti, 1948).

As inversões paracêntricas são bastante co-

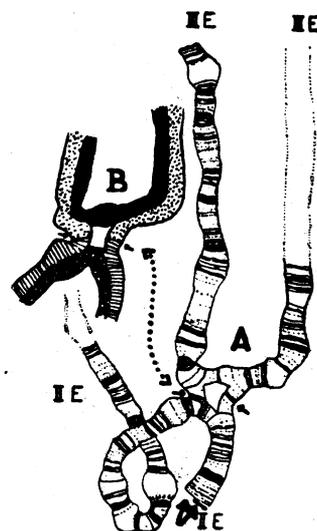


Fig. 45 — A. Translocação encontrada em *D. ananassae* (Dobzhansky e Dreyfus, 1943). B. Representação esquemática. (As duas setas inferiores — indicam deficiência terminal). —

muns na natureza.

As pericêntricas, como as translocações, são muito raras porque acarretam transtornos no mecanismo da meiose, produzindo gametos aberrantes (alguns com deficiências e outros com duplicações de segmentos cromosômicos). *Drosophila miranda* apresenta, no entanto, uma translocação de um autossoma com o Y, mas um mecanismo re-

gulador desenvolvido durante a sua evolução impede a formação de gametos aberrantes (Dobzhansky, e Cooper, 1946).

A análise comparativa dos cromosomas revelou, no entanto, que, na filogenia de algumas espécies, translocações e inversões pericêntricas devem ter ocorrido.

# Cruzamentos em *Drosophila melanogaster*

## NOMENCLATURA GENÉTICA

O tipo padrão no estudo da genética de *Drosophila melanogaster* é o chamado tipo selvagem ("wild type") que forma a quasi totalidade das populações naturais dessa espécie. Qualquer variação hereditária desta norma chama-se mutante.

Para se designar o tipo selvagem, usa-se o sinal +. Os diversos mutantes são designados por letras (símbolos). Por exemplo: ebony (corpo preto) — símbolo e; vestigial (asas vestigiais) - símbolo vg; white (olhos brancos) - símbolo w; etc. (Cf. a lista no fim deste manual).

O alelo selvagem de cada uma destas mutações é expresso tomando-se, por base, a abreviação da mutação correspondente a que se acrescenta o sinal +. Teremos:  $\frac{+}{e}$ ,  $\frac{+}{vg}$ ,  $\frac{+}{w}$ , etc. Ou en-

tão:  $\frac{e}{+}$ ,  $\frac{vg}{+}$ ,  $\frac{w}{+}$ , etc. Para facilidade de expressão, podemos usar apenas o símbolo + para todos os alelos selvagens, desde que esta prática não acarrete confusão.

Todas as mutações acima são expressas com lavras: o fenotipo +e (genotipicamente heterozigoto em heterozigotos, isto é: são recessivas. Assim, um heterozigoto para ebony tem a mesma aparência que uma mosca selvagem. Em outras palavras: o fenotipo +e (genotipicamente heterozigoto) é indistinguível de ++ (homozigoto). Por conseguinte, uma drosófila só será escura se for ee.

Quando a mutação manifesta o seu efeito no heterozigoto, seu nome e símbolo devem ser escritos com iniciais maiúsculas. Assim, distinguimos

fácilmente uma fêmea +B de outra ++, já que a mutação Bar (olho em barra) torna mais estreito o olho de uma mosca +B. A fêmea BB tem olhos ainda mais estreitos.

Se em um locus (ponto de localização do gen no cromosoma), conhecemos mais de uma mutação (alelos múltiplos) uma delas é tomada como base para a notação das outras. No locus 1.5 do cromosoma X, estão localizados white (olhos brancos), eosin (olhos eosina), apricot (olhos róseo amarelados), tinged, ivory, etc. Isto é, são mutações de um único gen. Foram designadas da seguinte forma: w, w<sup>e</sup>, w<sup>a</sup>, w<sup>t</sup>, w<sup>i</sup>, etc., todas com w por ter sido white a primeira descoberta.

A indicação de gens de um mesmo cromosoma pode ser feita por meio de um traço horizontal. Acima dêle, colocamos os gens que se encontram em um cromosoma e, abaixo, os situados no seu homólogo.

Exemplos:

++ — tipo selvagem sem especificação.

+e — fenotipicamente selvagem; heterozigoto para ebony.

ee — corpo preto; homozigoto para ebony.

+w<sup>e</sup> — fenotipicamente selvagem; heterozigoto para eosin.

$\frac{+B}{+w}$  — fenotipicamente Bar; heterozigoto para white;

$\frac{++}{wB}$  — Mesmo fenotipo que o anterior. A diferença está apenas na situação dos

gens: os dois gens selvagens estão no mesmo cromosoma; w e B encontram-se no seu homólogo.

w B — Macho white Bar. Notar que nada se coloca abaixo do traço porquê o macho só tem um cromosoma X. Poderia ser designado também da seguinte forma: w B

O traço inferior representa o cr. Y.

Gens de cromosomas diferentes devem ser expressos em traços diferentes:

$\frac{w + e}{+ B e}$  — Fenotipo Bar ebony. Genotipo: heterozigoto para white e Bar (cromosoma X) e homozigoto para ebony (cr. III).

$\frac{vg e}{vg +}$  — Fenotipo vestigial. Genotipo: homozigoto para vg e heterozigoto para e.

**TÉCNICAS DE CRUZAMENTOS**

Para se fazer um cruzamento, a primeira precaução a ser tomada é a segurança da virgindade das fêmeas. Para isto, é conveniente isolá-las logo após o nascimento. O período de maturidade sexual do macho varia nas várias espécies. Em *D. melanogaster*, o macho só é capaz de copular oito horas após sua eclosão da pupa. Se tirarmos todas as moscas de um vidro, até aproximadamente oito horas depois desta operação todas as fêmeas que aí nascerem serão virgens. Machos maduros podem, porém, copular com fêmeas recém-eclodidas.

Escolhidas as moscas a cruzar, poderemos fazer dois tipos de cruzamentos: por casais ou em massa. Para o primeiro, pelo menos no início da experiência, é aconselhável usar os tubos tipo excursão (Fig. 5). Posteriormente, pode-se passar o casal para vidros de 1/4 de litro, com pouco fermento, adicionando-se mais quando aparecerem as primeiras larvas.

Para cruzamentos em massa, podemos empregar números iguais ou diferentes de machos e fêmeas e colocá-los diretamente em vidros de 1/4 de litro, usando-se o mesmo método acima indicado em relação ao fermento.

Nas etiquetas dos vidros é aconselhável indicar o tipo de cruzamento feito.

**1.a LEI DE MENDEL (MONOHIBRIDISMO)**

P: Fêmeas ebony (corpo preto) cruzadas com machos selvagens (corpo amarelo acinzentado). A primeira geração (F1) será composta de moscas selvagens, uma vez que o alelo selvagem é dominante. Em F2 teremos 75% de selvagens e 25% de ebony (relação 3.1):

P — ee x ++  
 F1 — +e x +e  
 F2 — ++ +e +e ee  
 3 selvagens 1 ebony

Imaginemos que, num cruzamento como o anterior, obtenhamos, em F2, 300 selvagens e 100 ebony (Total: 400 moscas). Ora, em 400 moscas, a relação 3.1 dará justamente 300 e 100 como números esperados. Verificamos que os números obtidos concordam plenamente com êsses. A diferença entre os obtidos e os esperados fornece-nos o desvio. Nesse caso, o desvio é 0, isto é, não há desvio.

Normalmente, os cruzamentos dão resultados com desvios. É preciso, então, verificar se êstes desvios ocorreram por acaso ou se têm outras causas, isto é, se são significantes. Para isto, emprega-se o método do  $\chi^2$  (qui quadrado) de Pearson.

Façamos, então, um segundo cruzamento:

P — taxi (txtx) x selvagem (++)  
 F1 — selvagens (+tx)  
 F2 — 926 selvagens e 302 taxi

Verificamos o total: 926 + 302 = 1.228. Se esperamos 75% de selvagens e 25% de taxi, os números deveriam ser:

75                    3  
 1228 x  $\frac{\quad}{100}$  = 1228 x  $\frac{\quad}{4}$  = 921 selvagens.  
 25                    1  
 1228 x  $\frac{\quad}{100}$  = 1228 x  $\frac{\quad}{4}$  = 307 taxi.

A diferença entre os obtidos (926 e 302) e os respectivos esperados (921 e 307) dará os seguintes desvios:

926 — 921 = 5  
 302 — 307 = — 5

Os desvios são +5 para uma das classes e, logicamente, — 5 para a outra.

Para calcularmos o  $\chi^2$ , elevamos os desvios ao quadrado, dividimos cada um pelo respectivo número esperado e fazemos a soma das duas parcelas:

$$\chi^2 = \frac{5^2}{921} + \frac{-5^2}{307} = \frac{25}{921} + \frac{25}{307} = 0.027 + 0.081 = 0.108$$

Sabendo que  $\chi^2 = 0.108$ , procuramos localizar este número na "tabela de distribuição de  $\chi^2$ " (Tab. 1, pag. 42). Essa tabela possui, na primeira coluna, a indicação "nf", que corresponde aos graus de liberdade. Grau de liberdade é o número de classes menos uma. No nosso caso, temos duas classes: selvagem e taxi. Logo, haverá apenas um grau de liberdade. Devemos localizar, então, o  $\chi^2$  obtido (0.108) na primeira linha correspondente a um grau de liberdade. Vemos que o número 0.108 está situado entre 0.06 (correspondente a 80% de probabilidade) e 0.15 (70%). Toda probabilidade acima de 5% indica que o desvio é insignificante, isto é, o resultado é aceitável como tendo sofrido um desvio ao acaso. Em outras palavras, os números obtidos concordam com os números esperados.

A fórmula do  $\chi^2$  pode ser expressa dos seguintes modos:

$$1) \chi^2 = \sum (X - m)^2/m,$$

em que  $\sum$  = somatória, X = números obtidos e m = números esperados. (cf. Snedecor, 1947). O desvio está, pois, expresso por X-m.

$$2) \chi^2 = \sum \frac{d^2}{e}$$

em que d = desvios e e = números esperados.

Além do método do  $\chi^2$ , pode-se verificar a significância dos desvios usando-se o método do erro padrão (EP ou St E, **Standard Error**).

A fórmula do EP é a seguinte:

$$EP : V \sqrt{\frac{p \cdot q}{n}}$$

em que p e q são os números encontrados e n = total.

Calculemos o erro padrão dos dados do cru-

zamento inicial:

$$EP : V \sqrt{\frac{926 \times 302}{1228}} : V \sqrt{\frac{279652}{1228}} : V \sqrt{227.5} = 15.08.$$

Os nossos resultados podem, então, ser expressos assim:

$$\begin{aligned} \text{Selvagens: } & 926 \pm 15.08 \\ \text{taxi: } & 302 \pm 15.08 \end{aligned}$$

Se o desvio é duas vezes maior que o erro padrão, êle é significativo, isto é, os números obtidos não concordam com os esperados, ou melhor, as probabilidades de que eles tenham acontecido por acaso são muito pequenas (menores que 5%). Ora, o desvio acima encontrado (5) é menor que  $2 \times 15.08 = 30.16$ . Logo, conforme o método do  $\chi^2$  já nos tinha mostrado, esse desvio não tem significância.

**RETROCRUZAMENTO** — Retrocruzamento ("back-cross") é o cruzamento de F1 com um dos P ou com moscas de genótipo igual a um deles. Em geral, aplica-se este termo ao cruzamento com o P recessivo ("test-cross").

Cruzando-se um monohíbrido (+|tx) com o respectivo recessivo txtx, teremos 50% de taxi (txtx) e 50% de selvagens (+ tx) — razão 1.1:

$$\begin{aligned} P & - + tx \times txtx \\ \text{Descend.} & - + tx - txtx \end{aligned}$$

O back-cross é o método usado para a análise genética de um indivíduo que apresenta um caráter dominante, afim de se averiguar se é puro ou híbrido (homozigoto ou heterozigoto para este caráter (detecção de recessivos).

**2a. LEI DE MENDEL (POLIHÍBRIDISMO)**

1. Tomemos uma mosca ebony vestigial e cruzemo-la com uma selvagem:

$$\begin{aligned} P & - \frac{e}{e} \frac{vg}{vg} \times \frac{e^+}{e^+} \frac{vg^+}{vg^+} \\ F_1 & \frac{e}{+} \frac{vg}{+} \end{aligned}$$

Para o cálculo de F2, quando há dois ou mais pares de gens situados em cromosomas diferentes, devemos usar o método do genograma ("checkerboard", taboleiro de xadrês). Construimos, no caso presente, um quadrado e inserevemos, nos lados esquerdo e superior respectivamente, a constituição

TABELA I

DISTRIBUIÇÃO DE  $\chi^2$ 

		PROBABILIDADE P												
		99%	98%	95%	90%	80%	70%	50%	30%	20%	10%	5%	2%	1%
$df = 1$		0.0002	0.0006	0.0039	0.0158	0.06	0.15	0.46	1.07	1.6	2.7	3.8	5.4	6.6
2		0.02	0.04	0.10	0.21	0.45	0.71	1.39	2.41	3.2	4.6	6.0	7.8	9.2
3		0.12	0.19	0.35	0.58	1.00	1.42	2.37	3.67	4.6	6.3	7.8	9.8	11.3
4		0.30	0.45	0.71	1.06	1.65	2.20	3.36	4.88	6.0	7.8	9.5	11.7	13.3
5		0.55	0.75	1.14	1.61	2.34	3.00	4.35	6.06	7.3	9.2	11.1	13.4	15.1
6		0.87	1.13	1.63	2.20	3.07	3.83	5.35	7.23	8.6	10.6	12.6	15.0	16.8
7		1.24	1.56	2.17	2.83	3.82	4.67	6.35	8.38	9.8	12.0	14.1	16.6	18.5
8		1.65	2.03	2.73	3.49	4.59	5.53	7.34	9.52	11.0	13.4	15.5	18.2	20.1
9		2.09	2.53	3.33	4.17	5.38	6.39	8.34	10.66	12.2	14.7	16.9	19.7	21.7
10		2.56	3.06	3.94	4.87	6.18	7.27	9.34	11.78	13.4	16.0	18.3	21.2	23.2

Segundo Brieger, 1937 (modificado)

genética dos óvulos e dos espermatozoides produzidos por F1 (++, +vg, e+ e evg). Dividimos o quadrado por linhas que separem as filas e fileiras dos óvulos e espermatozoides e, em cada quadrado resultante da intersecção das linhas, inscrevemos as letras correspondentes:

	++	+vg	e+	e vg
++	++++	+++vg	+e++	+e+vg
+vg	+++vg	++vgvg	+e+vg	+evgvg
e+	+e++	+e+vg	ee++	ee+vg
evg	+e+vg	+evgvg	ee+vg	eevgvg

Pela análise deste genograma, vemos que os fenotipos de F2 compõem-se de:

- 9 selvagens (1 +++++, 2 ++ +vg, 2 +e ++ e 4 +e +vg)
- 3 vestigial (1 ++ vgvg e 2 +e vgvg)
- 5 ebony (1 ee ++ e 2 ee +vg)
- 1 vestigial ebony (ee vgvg)

A figura 46 apresenta um esquema do cruzamento vgvg x ee, com o mesmo resultado em F2.

Qualquer cruzamento em que entrem dois ou mais pares de gens situados em autosomas diferentes darão, em F2, resultados comprovantes da 2a. lei de Mendel. Exemplos:

1. black eyeless x hairy (três pares de gens):  
 P — bb h+h+ ey ey x b+b+ hh ey+ey+

F1 — bb+ h+h ey ey+ (selvagem), produzindo 8 tipos de gametos: b+h+ey+, b+h+ey, b+hey+, bh+ey+, bhey+, bh+ey, b+hey, bhey.

- F2
- 27 selvagens
  - 9 black
  - 9 hairy
  - 9 eyeless
  - 3 black hairy
  - 3 black eyeless
  - 3 hairy eyeless
  - 1 black hairy eyeless

2. purple x curled (dois pares):

P — pr pr cu+ cu+ X pr+ pr+ cu cu  
 F1 — prpr+ cu+cu (selvagem)

- F2
- 9 selvagens
  - 3 curled
  - 3 purple
  - 1 purple curled

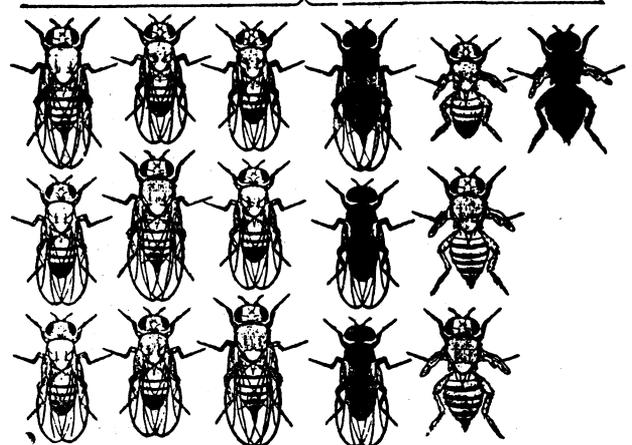
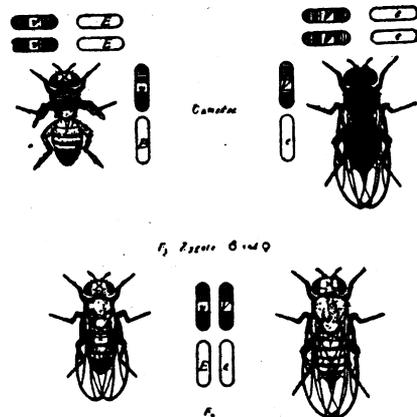


Fig. 46 — Cruzamento de macho ebony com fêmea vestigial, mostrando a relação 9.3.3.1 em F2.

3. black x ebony (dois pares):

P — bb e+e+ X b+b+ ee  
 F1 — bb+e+e (selvagem)

- F2
- 9 selvagens: 1 ++ ++, 2 ++ +e, 2 +b ++ e 4 +b+e
  - 3 black: 1 bb ++ e 2 bb +e
  - 3 ebony: 1 ++ ee e 2 +b ee
  - 1 black ebony: 1 bb ee

Como, porém, as drosófilas black e ebony têm o corpo preto, F2 será composta de 9 selvagens e 7 escuras.

Se estamos diante de duas culturas de *D. melanogaster* de corpo escuro e queremos saber se ambas têm o mesmo genotipo, basta fazer um cru-

zamento entre elas. Se a cor preta das duas linhagens e devida a dois gens diferentes (black e ebony, v.g.) em F1 aparecerá o tipo selvagem, como no cruzamento anterior. A linhagem ebony possui o alelo selvagem de black (ee + +), a black contém o alelo selvagem de ebony (+ + bb) e, por isso, F1 será + e + b (selvagem). Se se tratar, porém, de uma mesma mutação, os F1 terão corpo escuro como os P.

Chamamos a atenção para o fato de que existe, em *D. melanogaster*, além de black e ebony, uma outra mutação (sable, no cromossoma X), que também condiciona corpo preto.

Suponhamos que, fazendo o cruzamento 2 citado pouco atrás, obtenhamos, em F2, 1600 indivíduos assim distribuídos: 908 selvagens, 295 purple, 306 curled e 91 purple curled. Os números esperados são: 900, 300, 300 e 100 (9.3.3.1). Desvios: +8, -5, +6 e -9.

$$\chi^2 = \frac{8^2}{900} + \frac{(-5)^2}{300} + \frac{6^2}{300} + \frac{(-9)^2}{100}$$

$$= 0.071 + 0.083 + 0.12 + 0.81 = 1.084$$

Temos, aqui, quatro classes. Logo, 3 graus de liberdade. Procurando localizar 1.084 na terceira coluna da tabela de distribuição de  $\chi^2$  (pag. 42), vemos que este número fica entre 1.42 e 2.37, correspondentes respectivamente às probabilidades de 50% e 70%. Há, pois, de 50% a 70% de probabilidade de que os desvios verificados tenham ocorrido por acaso. Trata-se de uma probabilidade astante alta e, por isto, os desvios possivelmente não têm significância. Os números 908, 295, 306 e 91, obtidos em F2, representam os esperados (900, 300, 300 e 100) e deles divergem por desvios apenas ao acaso.

**RETROCRUZAMENTO** — O back-cross com monohíbridos deu-nos, como vimos, a relação 1.1. Para polihíbridos com independência de fatores, dar-nos-á, da mesma forma, frequências iguais dos vários tipos.

Cruzemos uma mosca black sepia com uma selvagem. F1 ser composta de selvagens +b +se. Com o back-cross, teremos:

$$P - +b +se \times bb sese$$

$$P - +b +se \times bb sese$$

Gametos — ++, +se, b+, bse bse

Descendência — 1 +b +se, 1 +b sese, selvagem; sepia<sup>1</sup>

1 bb +se, 1 bb sese

black black sepia

**HERANÇA LIGADA AO SEXO ("SEX LINKED")**

A herança ligada ao sexo é a herança dos gens do cromossoma X. Tomemos um macho Bar (B) e cruzêmo-lo com uma fêmea selvagem (cf. figs. 47 e 48):

$$\begin{array}{l}
 P - \text{♂ } B \quad \quad \quad X \text{ ♀ } ++ \\
 F1 - \text{♀ } B+(Bar) \quad \text{♂ } +(selvagem) \\
 F2 - \text{♀ } B+ \quad \text{♀ } ++ \quad \text{♂ } + \quad \text{♂ } B \\
 \quad \quad \quad Bar \quad \quad \quad selv. \quad selv. \quad Bar
 \end{array}$$



Fig. 47 — Tipos de olhos de *D. melanogaster*: 1. selvagem (fêmea ou macho); 2. heterozigoto (fêmeas) para Bar (+B) e 3. Bar (macho ou fêmea).

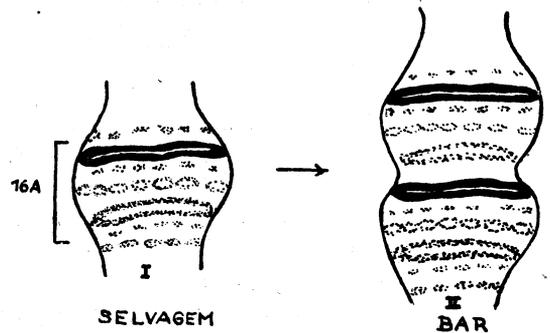


Fig. 48 — I. Região 16A do cromossoma X de *D. melanogaster* selvagem. II. A mesma região duplicada no mutante Bar. (Segundo White, 1945; baseado em Bridges, 1936, e Sutton, 1943). Como se vê, o efeito Bar não é produzido por u'a mutação gênica, mas por uma duplicação do segmento — 16A do cromossoma X. —

Em F1, todas as fêmeas são Bar heterozigotas (v. fig. 47, 2) e todos os machos selvagens. Em F2 metade das fêmeas é Bar heterozigota e metade é selvagem; 50% dos machos é selvagem e 50%, Bar.

Fazendo o mesmo cruzamento, porém colocando a fêmea de P como Bar e o macho como selvagem, teremos:

$$\begin{array}{l}
 P - \text{♂ } + \quad \quad \quad X \quad \quad \quad \text{♀ } BB \\
 F1 - \text{♀ } +B(Bar) \quad \text{♂ } B(Bar) \\
 F2 - \text{♀ } +B \quad \text{♀ } BB \quad \quad \text{♂ } + \quad \text{♂ } B
 \end{array}$$

Em F1, tôdas as fêmeas são Bar heterozigotas, como no cruzamento precedente, mas os machos são Bar, quando os do outro cruzamento eram selvagens. Em F2, aparecem 25% de fêmeas Bar heterozigotas, 25% de fêmeas Bar homozigotas, 25% de machos selvagens e 25% de machos Bar. A única diferença entre este F2 e o primeiro é que, aqui, a classe das fêmeas selvagens é substituída por fêmeas Bar puras.

Quando a mutação é "sex linked" mas não manifesta seu efeito no heterozigoto, a situação muda. Tomemos o gen white para exemplo (fêmea white x macho selvagem):

P            ♀ ww            X            ♂ wY  
 F1            ♀ w+            X            ♂ wY  
               (selv.)            (white)  
 F2    ♀ ww            ♀ w+            ♂ wY            ♂ +Y  
       (white) (selv.) (white) (selv.)

Temos, aqui, em F1, um exemplo de herança cruzada: filhos semelhantes à mãe e filhas semelhantes ao pai.

**ALELOS MÚLTIPLOS**

Se fizermos um cruzamento entre fêmeas apricot e machos white, as fêmeas de F1 terão olhos apricot pálidos, porquê estamos diante de mutações diferentes do mesmo gen. Se cada uma das moscas cruzadas contribuisse com o alelo selvagem correspondente à mutação da outra, F1 seria selvagem e, então, estaríamos diante de mutações de diferentes gens. Apricot (w<sup>a</sup>), como vimos, é um alelo de white, tal como eosin, tinged, etc.

O cruzamento fêmea apricot x macho white, será expresso da seguinte forma:

P- ♀ w<sup>a</sup>w<sup>a</sup>            X ♂ wY  
 F1- ♀ w<sup>a</sup>w            ♂ w<sup>a</sup>Y  
 F2- ♀ w<sup>a</sup>w<sup>a</sup>    ♀ w w<sup>a</sup>    ♂ w<sup>a</sup>Y    ♂ wY  
       apricot    apr. pal.    apricot    white

Como se vê, não há aparecimento, em F1 ou F2, de tipos selvagens.

O cruzamento fêmea apricot x macho white, terá resultados inteiramente diversos: porquê, aqui, trata-se de mutações de dois gens diferentes. Por isto, a mosca apricot transporta o alelo selvagem de vermilion, e a vermilion, o alelo selvagem de apricot. F1 será então selvagem:

P- ♂ w<sup>a</sup>Y ++    X ♀ ++ vv  
 F1 ♀ w<sup>a</sup>+ +v    ♂ +Y+v  
                   (selvagens)

**LINKAGE E CROSSING OVER**

Façamos um cruzamento entre moscas aristaless-vestigial e selvagens:

P- alal vgv X ++ ++  
 F1        +al +vg (selvagem)

Tomemos os machos selvagens de F1 e cruzemo-los com fêmeas bi-recessivas aristaless-vestigial (retrocruzamento):

♂ +al +vg X ♀ alal vgv  
 descendência +al +vg    alal vgv

Na descendência, encontramos, pois, a relação 1.1 (50% de selvagens e 50% de al-vg.).

Se fizermos o cruzamento a partir de machos derivados de aristaless x vestigial, teremos, no retrocruzamento, ainda a relação 1.1 (50% de aristaless e 50% de vestigial). Em outros termos, isto significa que se os machos de F1 derivam de aristaless-vestigial e de selvagens, o back-cross nos restituirá, em proporções iguais, al-vg e +++++. Se, pelo contrário, eles derivam de aristaless x vestigial, no back-cross teremos apenas moscas al e vg, ainda na relação 1.1. Em resumo: os gens que entraram juntos na formação dos machos F1, juntos saíram no retrocruzamento. Por maior que seja o número de moscas analisadas, teremos sempre, a repetição do mesmo fenômeno. Não há, pois, segregação independente (2a. lei de Mendel). À primeira vista, parece que os dois caracteres al e vg são produzidos por um único par de gens. O fato, porém, de que existem linhagens apenas com um deles é a prova de que, na realidade, estamos diante de pelo menos dois pares de gens.

Tentemos um novo cruzamento para análise de F2. Por meio de moscas spineless-bithorax (ssss bxbx) e selvagens, obtenhamos selvagens heterozigotos em F1:

P- ssssbxbx    X +++++  
 F1-            +ss+bx (selvagem)

Contemos apenas 400 moscas em F2 e encontraremos aproximadamente 300 selvagens e 100 spineless-bithorax (relação 3.1). Não ha, aqui, igualmente, o fenômeno da segregação independente e, por isto, à primeira vista, como no caso anterior, parece que os caracteres spineless e bithorax são também condicionados por um único par de gens. O fato de existirem indivíduos apenas bithorax e apenas spineless indica, porém, como no exemplo precedente, a existência de pelo menos dois pares de gens. Fazamos, então, um cruzamento entre esses dois mutantes:

**P- ssss++ X ++ bxbx**

**F<sub>1</sub> - +ss +bx(selvagem)**

O aparecimento de apenas selvagens em F1 serve de uma contraprova de que se trata, na realidade, de dois pares de gens diferentes (cf., por exemplo, o caso de ebony e black; pag. 43). Se contarmos, também aqui, apenas 400 moscas em F2, encontraremos aproximadamente 100 spineless, 200 selvagens e 100 bithorax (1.2.1). Interessante notar, neste ponto, que, como no caso primeiramente citado, esses dois pares de gens não seguem a segunda lei de Mendel, já que deveríamos ter 9 selvagens, 3 spineless, 3 bithorax e 1 spineless-bithorax.

Se, no entanto, examinarmos um grande número de moscas em F2 dos dois últimos cruzamentos, encontraremos, no primeiro, uma pequena minoria de indivíduos apenas spineless e apenas bithorax e, no segundo, indivíduos spineless e ao mesmo tempo, bithorax.

Como explicar que dois pares de gens não sigam a segunda lei de Mendel? Basta admitir que eles se encontrem no mesmo cromossoma de tal forma que, na maioria dos casos, eles segregam associados. Devemos elucidar, então, o aparecimento dos raros indivíduos que apresentam recombinação nos dois últimos cruzamentos.

Para melhor compreensão do problema, façamos uma outra experiência: Coloquemos, num mesmo vidro, fêmeas selvagens e machos purple-vestigial. F1 será selvagem:

**P- ++ ++ X prpr vgvg**

**F<sub>1</sub> - +pr +vg (selvagem)**

Cruzemos as fêmeas de F1 (+pr +vg) com machos bi-recessivos. Realizando esta experiência, Bridges obteve os seguintes dados:

selvagens +pr +vg	1339)	Sem recombinação
purple-vestigial prprvgvg	1195)	
purple prpr +vg	154)	Com recombinação
vestigial +pr vgvg	151)	

2839

Se, nesse cruzamento, em vez de usarmos as fêmeas de F1, tivéssemos usado os machos, o resultado seria completamente diverso. Com uma experiência deste tipo, Bridges tem os seguintes dados:

Selvagens +pr +vg	519)	Sem recombinação
purple vestigial prpr vgvg	552)	
purple prpr +vg	0)	Com recombinação
vestigial +pr vgvg	0)	

1071

Neste cruzamento, não aparecem indivíduos apenas purple e apenas vestigial que constituiriam a prova da existência de recombinação gênica.

Resumindo as considerações até aqui feitas, temos:

1. Em relação aos gens spineless e bithorax, o exame de 400 exemplares em F2 não nos mostrou um único exemplo de recombinação. A análise de um número maior de indivíduos tornou evidente que a recombinação se dá, mas em escala muito baixa (Na realidade, há aproximadamente apenas 0.2% ou duas por mil em retrocruzamentos. Dada esta baixa frequência, nada mais razoável que, em 400 moscas analisadas, nenhum exemplo de recombinação tenha ocorrido.

2. Em relação aos gens purple e vestigial, usando fêmeas heterozigotas na experiência de "back-cross", encontramos 305 moscas como produto de recombinação entre 2.839 examinadas. Temos, aqui, uma porcentagem de recombinação igual a

$$\frac{305 \times 100}{2839} = \frac{30500}{2839} = 10,7$$

Há, pois, 10,7% de separação entre pr e vg. Todos os cruzamentos feitos nas mesmas condições repetem aproximadamente essa porcentagem.

Interessante comparar as frequências de recombinação obtidas para os dois exemplos acima: enquanto spineless e bithorax separam-se na baixa frequência de 0.002 a separação entre pr e vg se dá numa frequência muito maior (0.107).

3. Em relação aos gens pr e vg, usando os machos heterozigotos na experiência de retrocruzamento, entre 1071 indivíduos examinados, nenhuma recombinação ocorreu entre os dois citados gens. Todas as experiências até hoje realizadas para verificação de recombinações a partir de machos de-

resultados completamente negativos.

De todos estes dados, deduzimos os seguintes princípios gerais: 1. Há gens que não se transmitem de acôrdo com a segunda lei de Mendel, isto é, não segregam independentemente; 2. Com estes gens, é impossível obter tipos de recombinação a partir de machos de *Drosophila*; 3. Nas fêmeas, as frequências de recombinação variam conforme os gens em análise.

Existem provas concretas de que, em certas fases da meiose nas fêmeas de *Drosophila*, os cromosomas parceiros pareiam muito intimamente e, nesta ocasião, podem trocar partes homólogas entre si. Em outros termos, determinados segmentos de um cromosoma passam para o seu homólogo, havendo, então, uma troca recíproca (crossing over). O efeito citológico desta mudança é o **chiasma**, inexistente nos machos.

Assim, quando dois homólogos entram em pareamento, se um possui os gens *pr* e *vg* e o outro, os alelos selvagens destes gens podem ocorrer trocas entre eles, de tal sorte que surgem os cromosomas + *vg* e *pr* +, que são os responsáveis pelo aparecimento das formas de recombinação em F2 e nos retrocruzamentos. A fig. 49 é um esquema do fenômeno.

A existência de vários gens no mesmo cromosoma chama-se **linkage**. Dizemos que êles estão ligados. O fenômeno de troca é o **crossing over**, fato genético do qual o **chiasma** não passa de um efeito de ordem citológica.

Voltando às experiências com *pr* e *vg*, ficou estabelecido que ha 10.7% de crossing over entre eles. Se examinarmos um mapa genético de *D.*

*melanogaster* (o de Bridges, por exemplo), encontraremos, no cromosoma II, o gen **purple** no ponto (locus) 54.5 e o gen **vestigial**, no locus 67.0. A diferença entre os dois é:

$$67.0 - 54.5 = 12.5$$

Vemos que 10.7 e 12.5 são números muito próximos. Ambos derivam de back-crosses em que se obtiveram estas porcentagens de separação entre *pr* e *vg*.

As porcentagens de crossing entre dois gens marcam a distância relativa entre êles. A unidade (que alguns chamam de "morgan") corresponde a 1%.

Quando fazemos um test entre dois gens situados a uma distância não muito pequena, podem ocorrer dois crossings na região intermediária. Nesse caso, um anula o efeito do outro. Havendo apenas troca na região intermediária, os dois gens analisados continuam juntos. A fig. 50 ilustra o caso. Os duplos crossings que se dão nesses casos não são, pois, verificáveis porquê a seção que mudou de cromosoma não possuía gens capazes de marcá-la.

Por isto, é sempre conveniente:

- a. usar distâncias pequenas ou
- b. empregar o "three point test", isto é, um cruzamento com três gens.

Bridges e Olbrycht, usando as mutações sex-linked cut, vermilion e crossveinless, fizeram o seguinte cruzamento

$$\begin{array}{c} \text{cv} + \text{v} \\ \text{cut} + \text{et} + \\ \text{cv} + \text{v} \end{array} \times \begin{array}{c} \text{cv} + \text{v} \\ \text{et} + \text{v} \end{array}$$
 e obtiveram os seguintes resultados:

Sem crossing.....	}	cut (+et+) .....	759	
		crossveinless vermilion (cv+v)	766	
Com crossing	}	Entre cv e ct	vermilion (+ + v) .....	73)
			crossveinless cut (cv et +) .....	80)
	}	Entre ct e v	cut vermilion (+ et v) .....	140)
			crossveinless (cv + +) .....	158)
	}	Ao mesmo tempo entre cv e ct e entre ct e v	crossveinless cut vermilion (cvetv) .....	2)
		selvagens (+ + +) .....	2)	0.2%
		Total .....	1980	

Se não houvesse crossing, só se obteriam os dois tipos iniciais. Com o crossing, surgiram seis outros genótipos como produto da recombinação fatorial: 7.7% produzidos pelo crossing em uma região, 15.0% pelo crossing na outra região e 0.2% como resultantes da simultaneidade de crossing nas duas regiões (isto é, crossings duplos). Se, no cruzamento acima não estivesse incluído o gen cut, esta última classe não poderia ser verificada. (1).

Com os dados acima, dizemos, então, que as porcentagens 7.7, 15.0 e 0.2 são as dos tipos de recombinação. Para sabermos a porcentagem de crossings nas duas regiões, será preciso adicionar as porcentagens de crossings simples ocorridos em cada região, as porcentagens dos duplos. Teremos:

$$\text{Crossing entre cv e ct: } 7.7 + 0.2 = 7.9.$$

$$\text{Crossing entre et e v: } 15.0 + 0.2 = 15.2.$$

Diretamente, isto é, sem o conhecimento das três classes de porcentagens de recombinação, o cálculo poderá ser feito da seguinte forma:

Crossings entre et e v:

$$\frac{73 + (80 + 2 + 2)}{1980} \times 100 = 15.2$$

Crossings entre cv e ct:

$$\frac{1980}{140 + 158 + 2 + 2} \times 100 = 7.9\%$$

INTERFERÊNCIA — A probabilidade de que dois acontecimentos independentes se dêem ao mes-

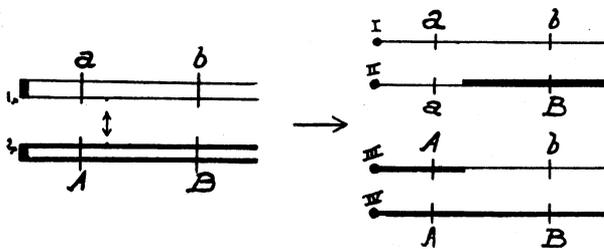


Fig. 49 — Esquema de um "crossing over" ocorrido na região da seta. Dos quatro tipos de cromossomos, dois (II e III) apresentam recombinação (aB e Ab).

- (1) Num "three point test", uma classe derivada das recombinações surge sempre com uma frequência muito baixa porque requer a ocorrência de dois crossings simultâneos. O gen assim separado em menor frequência é o que ocupa a posição central.

mo tempo é expressa pela multiplicação de suas respectivas frequências.

Se ha 7.9% de crossings entre cv e ct e 15.2% entre et e v, a probabilidade dos duplos crossings deverá ser:

$$\frac{7.9}{100} \times \frac{15.2}{100} = 1.2\%$$

Ora, a frequência encontrada para os duplos foi apenas de 0.2%. A relação entre os duplos crossings obtidos e os esperados chama-se coeficiente de coincidência (cc). No nosso caso:

$$cc = \frac{0.2}{1.2} = 0.17$$

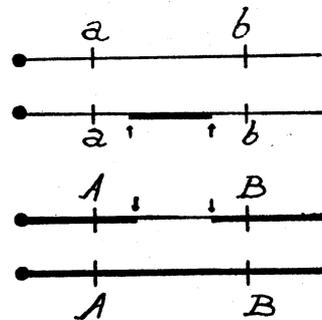


Fig. 50 — Duplo crossing que não pode ser verificado por falta de um gen marcante na região atingida.

Quando o coeficiente é igual a 1, a interferência é igual a 0 (isto é, não há interferência). Quando o coeficiente é igual a 0, a interferência é total.

Que é interferência?

Os cromossomos são corpos dotados de uma certa consistência e, havendo em determinado ponto, um crossing, pode acontecer que, devido a essa consistência, não haja possibilidade de se dar outro dentro de regiões próximas. No caso acima analisado, houve, como se viu, uma grande interferência, pois o número de duplos crossings experimentalmente obtidos foi bem inferior ao teoricamente esperado, na suposição de que os dois acontecimentos pudessem ocorrer simultaneamente, ao acaso, sem perturbações de qualquer natureza.

### LETAJS BALANÇADOS

Dichaete (D) e Glued (Gl), gens muito próxi-

mos situados no cromosoma III, são letais quando homozigotos. O meio cómodo de manter culturas desses mutantes é pelo processo dos cruzamentos chamados "letais balanceados" (Muller). Usamos, para isto, moscas heterozigotas para os dois gens. Em cada geração, 50% morrerá porquê 25% trará um deles e 25%, o outro, em homozigose:

$$\frac{D+}{+Gl} \times \frac{D+}{+Gl}$$

$$1 \frac{D+}{D+} \quad 2 \frac{D+}{+Gl} \quad 1 \frac{+Gl}{+Gl}$$

**CIB**

Existe uma linhagem de *D. melanogaster* conhecida pelo nome de CIB. Sua característica é que as fêmeas possuem um cromosoma X portador de:

a. **C** (Crossover reducer): Uma longa inversão que neutraliza o crossing-over em tôda a sua extensão;

b. **l** (Um letal recessivo);

c. **B** (O gen Bar, dominante)

Não pode haver machos CIB devido ao gen letal. Por este mesmo motivo é que todas as fêmeas são heterozigotas. Em dose dupla nestas ou em dose simples nos machos, o cromosoma CIB

mata o portador.

A linhagem CIB mantém-se por meio de gens que impeçam a reprodução das fêmeas que os transportam em homozigose. Exemplo: singed (sn):

$$P - \text{♀} \frac{CIB}{sn} \quad \times \quad \text{♂} \quad sn$$

$$F1 - \text{♀} \frac{CIB}{sn} \quad \text{♀} \frac{sn}{sn} \quad \text{♂} \quad CIB \quad \text{♂} \quad sn$$

Como vemos, em F1 podem reproduzir-se apenas as fêmeas iguais à mãe (CIB/sn) e os machos sobreviventes sn (iguais ao pai).

Esta linhagem é usada para a detecção de mutações no cromosoma X (Muller). Sobre os machos de P no cruzamento anterior, fazemos agir raios X. O cromosoma X irradiado simbolizado por sn no esquema acima, irá para a fêmea CIB/sn. Cruzada esta com um macho qualquer, teremos, até certo ponto, a repetição do esquema citado. Se, porém, no cromosoma sn da fêmea de F1 há um letal derivado dos machos de P (irradiados), este matará a outra metade dos machos de F2 e, então, a descendência será composta apenas de fêmeas. Sem o letal induzido, teríamos 2 fêmeas para 1 macho; com êle 1 fêmea para 0 macho.

# EVOLUÇÃO

## I. Ecologia e Genética das populações naturais

Se coletarmos um grande número de drosófilas em várias regiões e nas diferentes épocas do ano, poderemos notar os seguintes fatos:

1. As frequências das diversas espécies variam segundo a estação, do ano e o ponto de coleta:

a. Certas espécies não ocorrem em determinadas regiões. Exemplo: *D. dreysfusi*, *D. montium* e *D. guaramunu* não foram encontradas no norte do Brasil;

b. Algumas apresentam-se com altas porcentagens em certos períodos do ano para, em outros períodos, caírem a uma frequência muito baixa. Em agosto de 1948, por exemplo, *D. fumipennis* formava apenas 7.5% da fauna drosophiliana de Vila Atlântica (S. Paulo); em março de 1949, atingiu 52%. Em Mogi das Cruzes, *D. capricorni* estava presente, em Junho de 1949, na frequência de 32%; em agosto do mesmo ano, essa frequência caiu para 0.9%. Em Pirassununga, *D. simulans* não foi encontrada em abril e em junho de 1949, mas, em outubro do mesmo ano, apareceu com a frequência de 70%.

2. Aparentemente homogênea, a população de uma determinada espécie apresenta, em geral, uma grande variedade de mutações recessivas e de arranjos gênicos.

a. **Mutações recessivas.** Uma espécie pode aparentemente apresentar-se 100% composta de um único fenotipo. Levadas, porém, as amostras para o laboratório e realizados cruzamentos capazes de revelar o seu genotipo notaremos em sua descendência uma grande quantidade de mutantes.

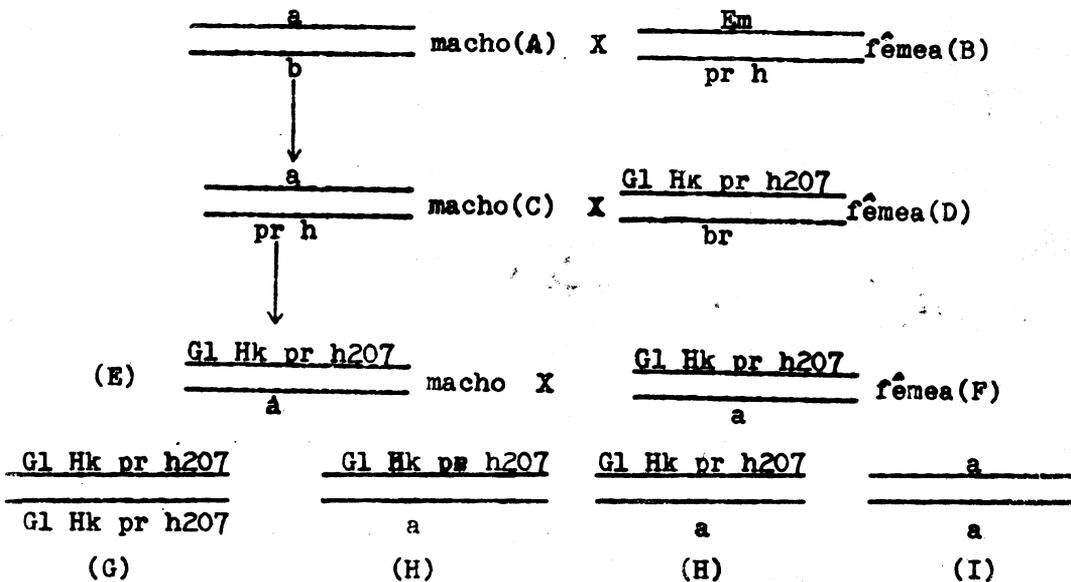
Esta análise demonstra que as populações naturais de *Drosophila* são homogêneas apenas exteriormente. Na realidade, uma infinidade de genótipos a compõem. Esta variabilidade oculta das populações naturais é de suma importância para o estudo da evolução e do processo da evolução integralmente monotípicas, caso houvesse uma modificação das condições ecológicas, correriam o risco de se extinguirem, já que não dispõem de material armazenado que lhes permitisse a construção de tipos adaptáveis ao novo habitat. Esta variabilidade oculta constitui, pois, o elemento que resiste às variações de amplitude da seleção natural, permitindo que uma espécie sobreviva a estas mesmas variações. Este é, também, o fator que permite a existência de uma mesma espécie em vários lugares dotados de condições climáticas diferentes.

Dada a facilidade com que *Drosophila* pode ser encontrada nos mais variados lugares e nos mais diversos climas, essa espécie oferece um campo muito amplo para investigações dessa natureza. Os primeiros estudos sobre a estrutura genética de populações começaram a ser feitos por elementos da escola de Tchertverikov (principalmente Dubinin) e por Timofeef-Ressovsky. Mais tarde por Dobzhansky, Ives, Buzzati-Traverso e outros. Ultimamente, no laboratório do Prof. Dreyfus e sob direta orientação do Prof. Dobzhansky, uma série de investigações dessa natureza foi realizada sobre drosófilas brasileiras. A Timofeef-Ressovsky, Ives, Dubinin e Buzzati-Traverso, devemos os nossos conhecimentos sobre a estrutura genética de populações de *D. melanogaster*. A Dobzhansky e

cols. americanos, os dados sôbre populações de *D. pseudoobscura* e ultimamente, a Dobzhansky e seus cols. brasileiros as informações sôbre a situação em *D. willistoni*, a espécie mais comum no Brasil.

A técnica para a análise da estrutura genética de uma população é relativamente simples, \* porém muito trabalhosa porque visa a descobrir as frequências de gens recessivos. Estes têm normalmente seus efeitos encobertos pelos gens selvagens dominantes. O método de análise consiste em fazer com que um cromosoma selvagem qualquer apareça em dose dupla em um indivíduo para que se possa conhecer o seu conteúdo gênico. O seguinte esquema resume o método desenvolvido por Dobzhansky e Spassky, e que foi usado para análise do cromosoma II de *D. willistoni*:

do homólogo com *prh*, e o cruzamos com a fêmea **D** [br (broad) em um cromosoma II e as mutações Glazed (Gl), Hooked (Hk), purple e hairless no seu homólogo)]. Este cromosoma possui ainda um sistema de inversões (denominadas "207") que o abrangem quase todo. As moscas **D** são, pois, heterozigotas não apenas geneticamente (i. e., em relação aos gens citados), mas também estruturalmente, já que os dois homólogos diferem ainda em relação à sequência gênica. Nestes heterozigotos estruturais, as recombinações devidas ao crossing-over são impedidas pelo efeito das inversões heterozigotas. Dêste cruzamento, tomamos machos e fêmeas **E-F** e cruzamo-los. Note-se que cada um deles possui um cromosoma *a*, selvagem, oriundo do macho coletado. Na terceira geração, formam-se



Machos **A** coletados em populações naturais são individualmente cruzados com fêmeas **B** que possuem um cromosoma II dotado da mutação dominante *Emarginate* (*Em*) e, no seu homólogo, as mutações recessivas *purple* (*pr*) e *hairless* (*h*). Dos descendentes dêste cruzamento, tomamos um macho de aparência selvagem (**C**), possuidor de um cromosoma II (*a*) \*\* derivado do macho coletado, e

três tipos de zigotos: **G**, **H** e **I**. O primeiro tipo não se desenvolve devido à letalidade em homozigose, das mutações *Gl* e *Hk*. Os indivíduos **H** são heterozigotos de fenotipo *Gl Hk*. **I** apresenta o cromosoma selvagem em homozigose. (Teóricamente, esperamos 2 **H** para 1 **I**). \*\* As mutações reces-

(\*) A elaboração de linhagens com gens marcantes utilizadas nesse tipo de análise é extremamente trabalhosa. A preparação das linhagens de *D. willistoni* requereu cinco anos de trabalho por parte de Dobzhansky e Spassky.

(\*\*) O que será dito a seguir, para cromosoma *a*, valerá para o cromosoma *b* se o macho **C** tivesse recebido esse cromosoma do macho **A**.

(\*\*) Este número é o teóricamente esperado, se as duas classes de moscas possuírem a mesma viabilidade. Na realidade, a classe possuidora das mutações *Gl* e *Hk* é dotada de uma viabilidade inferior à das moscas selvagens (naturalmente heterozigotas). Por isto, paralelamente à análise dos cromosomas selvagens, deve-se realizar uma análise tendente a corrigir esta relação (2.1) baseada numa

sivas existentes em A (macho selvagem) e incapazes de aí se manifestar, manifestar-se-ão nas moscas I, já que, de cada mutação do cr. II, essas moscas terão duas (homozigose). Se, no cromosoma selvagem, houver um gen letal, não aparecerá a classe I. Teremos, então, na última geração, 100% de moscas Gl Hk(H). Se os gens existentes em A diminuírem a viabilidade das moscas que o possuírem em homozigose aparecerão menos de 39.9% de I (valor esperado). Se eles condicionarem, porém, uma diminuição da taxa de desenvolvimento dos homozigotos, os tipos Gl Hk serão mais frequentes que o teoricamente esperado no início, enquanto a classe I tornar-se-á mais frequente no fim da experiência.

Chamamos de semi-letal o cromosoma a, se a porcentagem de I oscilar abaixo de 19.5 (50% da viabilidade normal). Tomando-se a frequência esperada de I como correspondendo a 100, teremos: 0% — Letal; 0 a 50% — Semi-letal; Acima de 50% — subvital, normal ou super-normal, dependendo da significância ou não dos desvios em relação ao normal (39.9%).

Com métodos como este, pôde-se demonstrar que, praticamente, todo cromosoma selvagem de *D. willistoni* transporta pelo menos uma mutação recessiva, em geral deletéria\*. A frequência total dos recessivos inconvenientes é como se vê enorme. Se analisarmos, porém, a frequência de uma determinada mutação específica, veremos que ela é muito baixa.

A baixa frequência de mutações individualmente consideradas torna pouco possível o seu aparecimento em homozigose. Este é um dos motivos pelos quais raramente encontramos mutantes na natureza. Se um determinado gen é encontrado, em uma população, na frequência de 0.001 (um por mil), para que ele encontre um homólogo a possibilidade será de 0.001<sup>2</sup>, isto é, 0.000001 (um por milhão). Nesse caso, apareceria um mutante em cada milhão de indivíduos, se sua viabilidade fosse igual à dos selvagens. Como, na realidade, essa viabilidade é muito baixa, um mutante nas condi-

(Rodapé da página anterior)

premissa falsa. Na prática, o número de selvagens esperados é sempre superior a 33.3%. Nas pesquisas realizadas em nosso laboratório, a correção indicou 39.9 para o cromosoma II.

(\*) Th. Dobzhansky, C. Pavan, B. Spassky, A. R. Cordeiro, Ch. Malogolowkin e M. Wedel (trabalho em vias de publicação).

ções acima seria encontrado numa frequência inferior a 0.000001. Temos, aqui, uma explicação para o fato de que as populações de *Drosophila* são geralmente constituídas de indivíduos semelhantes.

b. Além desta variedade de genótipos, as populações naturais apresentam, ainda, uma multiplicidade de arranjos gênicos principalmente expressa em inversões de blocos de gens (\*). As espécies do gênero *Drosophila*, como qualquer outro organismo, mantêm constante seu número de cromosomas, mas, em cada um deles, as diferenças na sequência gênica são, em geral, enormes.

Se tomarmos uma determinada ordem de gens como padrão (cf. pag. 36), a análise dos cromosomas salivares de moscas coletadas ou de moscas em stock mostra que comumente cada cromosoma apresenta-se com segmentos em ordem inversa. Dobzhansky demonstrou por uma série de dados de várias naturezas que estas inversões cromosômicas podem associar gens, formando um grupo que apresenta vantagens adaptativas. Na feliz expressão de Dreyfus, as inversões constituem verdadeiras gaiolas que aprisionam mutações favoráveis, mantendo-as unidas, sem as recombinações produzidas pelo crossing-over, nos heterozigotos estruturais. Por este motivo é que esse tipo de variação cromosômica constitui um elemento básico da evolução; em outras palavras, um material que a seleção natural usa para a construção de novos genótipos.

A importância das inversões como matéria prima da evolução tem sido mais estudada em *D. pseudoobscura* e *D. persimilis* (Dobzhansky e cols. americanos), *D. funebris* (Dubinin e cols.), *D. willistoni* (Dobzhansky, Cunha e Burla), *D. robusta* (Stalker e Carson) e grupo *virilis* (Patterson, Stone, Griffen, Spencer, Stalker e Warters). Em menor escala, este estudo foi levado a efeito em *D. melanogaster* (Sturtevant, Dubinin, Warters), *D. nebulosa* (Pavan), *D. pallidipennis* (Patterson e Dobzhansky, Freire-Maia e Engel), *D. sturtevanti* (Pereira), *D. prosaltans* (Cavalcanti), *D. ananassae* (Kikkawa Kaufmann Dobzhansky e Dreyfus), etc.

Em *D. pseudoobscura*, Dobzhansky verificou que, numa população da Califórnia, o arranjo gênico tomado como padrão (P) em um dos cromosomas

(\*) Alguns autores incluem as inversões e as demais variações cromosômicas na designação comum de "aberrações cromosômicas". Acha-mos impropria esta designação pelo fato de que as primeiras são bastante comuns na natureza e condicionam vantagens adaptativas à espécie.

somas, apresentava a sua menor frequência em Junho, época em que a inversão denominada Chiricahua (Ch) tinha sua maior frequência do ano. Na mesma população, a frequência da inversão Tree Line (TL) permanecia praticamente constante durante o ano. Isto significa que o valor adaptativo de Ch é maior que o de P em Junho, mas que, em Março ou Outubro, é o contrario que acontece. Além disto, estes fatos demonstraram que o valor adaptativo de TL não mudava com as estações do ano.

As frequências dos vários arranjos gênicos podem não sofrer variações muito grandes durante as estações do ano, mas apresentam uma variação de ano para ano. Temos, aqui, então, não mais variações cíclicas com causas nas condições climáticas estacionais, mas modificações com uma direção. Foi o que Dobzhansky observou na população de *D. pseudoobscura* em Keen Camp (E.U.A.). De 1939 a 1942, assim como em 1945 e 1946, verificou que as frequências de Padrão aumentaram, enquanto diminuíram as de Chiricahua e Arrowhead.

Em altitudes diferentes, Dobzhansky verificou ainda diferentes frequências de várias inversões. Assim, em San Jacinto, o arranjo padrão é o predominante nas baixas altitudes, enquanto que, nas altas, Chiricahua é que está presente com a maior frequência. Em Sierra Nevada, ainda é Padrão o arranjo mais comum nas bases das montanhas, mas em seus picos, Padrão cede o lugar à inversão Arrowhead. Esses dados mostram que Padrão é mais adaptado a condições climáticas quentes e húmidas (verão e bases de montanhas), enquanto Chiricahua e Arrowhead condicionam valores adaptativos mais altos em condições opostas.

Dobzhansky demonstrou que a causa da manutenção desse polimorfismo em populações naturais é o maior valor adaptativo dos heterozigotos. Assim, as moscas que possuem dois cromosomas P ou dois cromosomas Ch (isto é, P/P ou Ch/Ch) são inferiores às heterozigotas P/Ch. Outro fato de grande importância é que inversões iguais de localidades diversas condicionam valores adaptativos diferentes. Isso porque, em pontos geograficamente afastados e dotados de condições climáticas diversas podem ser selecionadas mutações diferentes de um mesmo segmento cromossômico. Numa dada população, os vários arranjos gênicos estão coadaptados, para usar o termo proposto por Dobzhansky. Esta coadaptação dá-se porém, entre os cromosomas que possam entrar em contacto e, nunca, entre cromosomas que ocorram em regiões diversas. Assim, podemos dizer que, numa dada re-

gião os vários arranjos gênicos de um cromosoma estão coadaptados pela ação da seleção natural, já que as combinações condicionadoras de valores adaptativos baixos foram eliminadas.

3. No gênero *Drosophila* foram encontrados dois casos de polimorfismo de pigmentação (*D. polymorpha* e *D. montium*).

*Drosophila polymorpha* Dobzhansky e Pavan (Cunha, 1947 e 1949) compõe-se de formas claras puras, escuras puras e heterozigotas intermediárias, sendo devida a um par de alelos a diferença entre as formas extremas. Nas populações naturais, existe uma maior frequência do alelo E (condicionador da pigmentação escura). O genotipo dotado de maior valor adaptativo é o heterozigoto, razão pela qual o polimorfismo é balanceado; o genotipo EE (escuro puro) possui um valor adaptativo imediatamente inferior, sendo ee praticamente semi-lethal.

Em *D. montium* de Meijere, os heterozigotos para a pigmentação dos tergitos abdominais (indistinguíveis do tipo escuro homozigoto) possuem, da mesma forma, o mais alto valor adaptativo, mas são as moscas claras que têm o valor adaptativo imediatamente inferior, sendo as escuras as menos viáveis. (Freire-Maia, 1949).

## II. Estudo experimental da seleção natural

Desde Darwin, a seleção natural tem sido admitida como um agente de primordial importância na evolução das espécies. No entanto, apenas pelos trabalhos de Dobzhansky pôde ser bem compreendida a sua ação. Algumas das suas pesquisas acima indicadas mostram claramente que a seleção natural deve ser o fator que discrimina, em várias altitudes e nas diferentes épocas do ano, os arranjos gênicos analisados. Faltava, porém, uma prova concreta que só o estudo experimental trouxe.

Os pioneiros do estudo experimental da seleção natural foram L'Héritier e Teissier, que realizaram pesquisas sobre populações de *D. melanogaster*. Usando caixas de população (fig. 51) em que competiam moscas selvagens e mutantes, verificaram que Bar e vestigial eram desalojados, enquanto ebony mantinha-se em equilíbrio. Em relação a Bar, por exemplo, concluíram que os genotipos ++ devem ter maior valor adaptativo que +B e BB; o genotipo + e deve ser, no entanto, superior a ++ e ee.

Dobzhansky realizou várias dezenas de experiências em caixas de população com os arranjos gênicos de *D. pseudoobscura*. Em uma delas, colocou

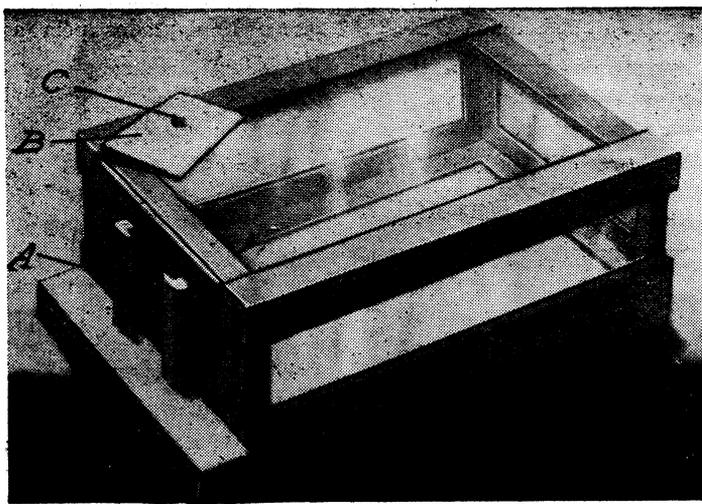


Fig. 51 — Modelo de caixa de população usado em nosso laboratório, com modificações introduzidas por C. Pavan ao descrito por — Dobzhansky (1947). —

Pela abertura A, introduzem-se as moscas e, em espaços de tempo diferentes, pequenas placas de vidro com meio de cultura. O fermento em solução é colocado nas placas que contenham larvas, por meio de um tubo de vidro, através do orifício C da janela B. Amostras da população são retiradas periodicamente para análise, por meio de um tubo longo adaptado a uma outra janela que se coloca, no momento, na abertura A.

10.7% do arranjo Padrão e 89.3% de Chiricahua. Em espaços aproximados de um mês, analisou amostras dessa população artificial e verificou que a frequência de P crescia, no início, em detrimento de Chiricahua, da seguinte forma: 21.7 — 28.3 — 37.7 — . . . 66.7 — 71.0 (dez meses depois). Nesse ponto, cessaram as mudanças e a população entrou em equilíbrio (aproximadamente com 70% de P e 30% de Ch).

Em outra caixa, inicialmente com 45% de P e 55% de TL, a frequência de TL, em menos de um ano, caiu para 1%, porcentagem que a simples ação do acaso poderia fazer chegar a 0. Isto indica que não há equilíbrio entre P e TL e que o valor adaptativo de PP deve ser maior que os de P/TL e TL/TL. O fato de TL existir na natureza com frequências vizinhas de 15% (na citada população da Califórnia) parecia indicar que um heterozigoto de TL deveria ter valor adaptativo maior que os dois homozigotos correspondentes. Esse he-

terozigoto foi encontrado em outra experiência. Tree Line e Arrowhead, quando colocados juntos em uma caixa, atingem um estado de equilíbrio. Em outras palavras: Em competição com Padrão, Tree Line é eliminado sob a ação da seleção natural; em competição com Arrowhead surge, porém, um estado de equilíbrio que não permite o desalocamento de TL.

O estudo experimental da seleção foi realizado ainda em várias outras espécies de *Drosophila*, em garrafas de vários modos associadas ou simples. Populações de *D. polymorpha*, por exemplo, inicialmente com 20% de gens condicionadores da pigmentação escura mostraram uma ascensão paulatina dessa frequência gênica até aproximadamente 63-65%, quando era atingido o nível de equilíbrio (Cunha, 1949). Em *D. montium*, em uma garrafa inicialmente com apenas 2% de moscas claras, pôde-se verificar que essa frequência aumentou pouco a pouco, até atingir mais ou menos 60%, quando a população entrou em equilíbrio (Freire-Maia, não publ.).

### III. Sistemática e especiação

O gênero *Drosophila* é um excelente material para o estudo da sistemática. Muitas de suas espécies são de tal forma relacionadas que permitem a construção de esquemas dos possíveis caminhos da evolução (Cf. por exemplo, os estudos sobre o grupo virilis, realizados pela equipe da Universidade do Texas, U. S. A.).

*Drosophila* possui ainda duas vantagens que poucos outros organismos podem oferecer: 1. É fácil obter grande número de indivíduos; 2. Além dos caracteres morfológicos externos, podemos analisar não só os caracteres sistemáticos internos mais comumente empregados, como também a morfologia dos cromossomos.

Como veremos abaixo, com esses elementos, já se obtiveram dados de muita importância para a compreensão do problema da especiação. O campo torna-se cada vez mais promissor.

Poucos sistematistas estão em tão boas condições como os brasileiros interessados em *Drosophila* porque a sistemática deste gênero tem sido relativamente pouco estudada entre nós e a nossa fauna é uma das mais ricas do mundo. O Prof. Dobzhansky e um de nós (Pavan), em uma excursão, este ano, ao Rio Negro, verificaram que, em cerca de trinta espécies lá encontradas, apenas oito ou dez já estavam descritas.

Em 1921, conheciam-se aproximadamente 200 espécies de *Drosophila* (Sturtevant, 1921) e, delas, pouco mais de meia dúzia havia sido encontrada no Brasil. Atualmente, existem cerca de 620 espécies descritas e ainda assim, apenas cinquenta são conhecidas entre nós. Dêsse número trinta e poucas foram encontradas por elementos do nosso laboratório, em excursões levadas a efeito a quatorze estados e territórios nacionais.

Os exemplos de sistemática com interesse evolucionista que daremos a seguir mostram alguns dos caminhos seguidos pelos drosophilistas nesse ramo de pesquisas:

O Dr. J. King trabalhou na Columbia University de New York, com cinco espécies brasileiras e uma mexicana do grupo guarani, das quais duas são morfológicamente muito semelhantes. Em espécimens secos, é difícil distinguir essas duas espécies e, em moscas vivas, somente muita prática permite uma separação precisa. Elas foram descritas por Dobzhansky e Pavan (1943), como *D. guarani* e *D. guaru*. O Dr. King, comparando várias espécies norte-americanas com moscas desse

grupo, relacionou *D. subbadia* Patterson e Mainland com as duas acima mencionadas. As primeiras experiências feitas consistiram na tentativa de cruzamento entre as duas espécies brasileiras, sem que se conseguissem resultados positivos. *D. subbadia* é facilmente distinguível de *D. guarani* e de *D. guaru*. Tentou-se o cruzamento entre a espécie mexicana e as duas outras. Foi muito fácil obterem-se híbridos entre *subbadia* e *guaru* e relativamente difícil, entre *subbadia* e *guarani*. Nos dois casos, produziram-se híbridos dos dois sexos. As fêmeas em geral eram férteis em back-crosses, enquanto os machos eram absolutamente estéreis. O interessante é que o Dr. King conseguiu cruzar uma fêmea híbrida *subbadia-guaru* com um macho *guarani*, obtendo, desse modo, um tri-híbrido *subbadia-guaru-guarani*. Com isto, foi possível combinar artificialmente elementos de *D. guaru* com *D. guarani*, por intermédio de *D. subbadia*, coisa que diretamente é impossível, pois, como ficou dito, *guaru* não se cruza com *guarani*.

Um outro trabalho muito interessante em que dados sistemáticos tornaram-se valiosa contribuição para o estudo da especiação, foi o realizado no laboratório de Genética da Universidade do Texas, pelo Prof. Patterson e seus colaboradores, Stone e Griffen.

*Drosophila virilis* é encontrada na Europa, Ásia e Estados Unidos. É doméstica neste último país, onde existem algumas espécies selvagens muito relacionadas a ela (*D. montana*, *D. americana texana*, *D. novamexicana* e *D. americana americana*).

Estas três espécies são tão relacionadas entre si que foi possível a obtenção de híbridos entre algumas delas e, por meio da análise desses cruzamentos inter-específicos, conseguiram os geneticistas do Texas traçar um esquema dos possíveis caminhos seguidos na evolução do grupo virilis.

Além das espécies acima mencionadas, o gênero *Drosophila* apresenta várias outras em situação semelhante, cujo estudo possibilitou, da mesma forma, informações muito úteis sobre a especiação. *D. pseudoobscura* Frolava e *D. persimilis* Dobzhansky e Epling foram, por exemplo, durante muito tempo, consideradas como raças (A e B) reunidas sob a primeira designação específica. *D. pseudoobscura*, que ocorre nos Estados Unidos, foi, também a princípio, considerada com a mesma designação de *D. obscura*, existente na Europa. Dobzhansky (1937), Dobzhansky e Tan (1936) e

outros, analisando as diferenças existentes entre *D. pseudoobscura*, *D. persimilis* e *D. miranda* (outra espécie também muito relacionada), obtiveram resultados deveras interessantes sobre a ecologia e a posição sistemática das três.

O mesmo pode ser dito em relação aos trabalhos de Sturtevant e Plankett (1926), Sturtevant (1929), Patau (1935) e Kerkis (1936 e 1937) sobre a análise das diferenças entre *D. melanogaster* e *D. simulans*, durante tanto tempo consideradas como uma única espécie. Nessas duas espécies crípticas, as diferenças entre os machos são mínimas, mas permitem um reconhecimento rápido sob lupa. Analisando-se as fêmeas, uma distinção de tal ordem é impossível. Daí a razão pela qual, nas listas de frequências das várias espécies em diferentes épocas do ano, as fêmeas das duas espécies são anotadas em conjunto, sem maiores especificações. (cf. Patterson, 1943).

*D. pararepleta* é uma sub-espécie de *D. mercatorum*, como demonstrou Wharton (1944); daí ser corretamente classificada como *D. mercatorum pararepleta*. É relacionada de *D. paranaensis* (R. de Barros, dados não publ.), espécie com a qual se cruza no laboratório, dando descendentes de ambos os sexos (machos estereis e fêmeas férteis em back-crosses). A frequência com que aparecem machos e fêmeas entre os híbridos varia segundo o cruzamento feito, isto é, depende da fêmea usada. *D. pararepleta* fêmea x *D. paranaensis* macho produz quasi que exclusivamente descendentes fêmeas raramente aparecendo um macho, que tem baixa viabilidade e é sempre esteril. Do cruzamento in-

verso, aparecem fêmeas e machos, estes também estereis. A análise dos cromosomas salivares dos híbridos (cf. fig. 52) permitiu um estudo detalhado das partes análogas e das que apresentam diferenciação nas duas espécies. As tentativas de cruzamento entre *D. paranaensis* e *D. peninsulares* (outra espécie muito semelhante que ocorre nos Estados Unidos) demonstraram a impossibilidade de híbridos entre elas.

Todas estas espécies com que o Prof. A. Dreyfus e Dra. R. de Barros trabalham pertencem ao grupo repleta em que encontramos um grande número de outras bastante semelhantes para que possam ser confundidas com facilidade. Duda (1925), por exemplo, classificou como variedades de *D. repleta*, formas que hoje são catalogadas como boas espécies.

*D. willistoni* Sturtevant, *D. equinoxialis* Dobzhansky (1946), *D. paulistorum* Dobzhansky e Pavan e *D. tropicalis* Burla e Cunha, analisadas em conjunto, mostram-se indistinguíveis pelos métodos comuns da Sistemática e, no entanto, são consideradas como boas espécies dada a inexistência de cruzamentos entre elas.

A maioria das diferenças morfológicas encontradas entre elas, só possui valor sistemático quando analisadas estatisticamente porquê há setores comuns nas curvas de variação dos caracteres diferenciais. Duas ordens de caracteres, no entanto, permitem a distinção entre as quatro espécies: 1. Morfologia dos cromosomas salivares; 2. Forma de certas partes da genitalia.



Fig. 52 — Base do cromosoma III do híbrido fêmea *paranaensis* x macho *pararepleta* (Rosina de Barros, não publ.), podendo-se notar a falta de — pareamento. —

## Chave para a determinação das espécies brasileiras de *Drosophila*

1. Mesonotum com todas ou quasi todas as suas cerdas emergindo de manchas escuras circulares; algumas vezes essas se fundem formando manchas maiores ou faixas . . . . . 42
  - Não inteiramente como acima . . . . . 2
2. Cerdas escutelares anteriores convergentes . . . . . 3
  - Cerdas escutelares anteriores divergentes . . . . . 22
3. Cerdas prescutelares presentes . . . . . 4
  - Sem cerdas prescutelares . . . . . 5
4. Índice costal inferior a 1,5; abdômen com faixas escuras e largas, estreitadas no meio no segundo e terceiro tergitos e alargadas do quarto ao sexto; comprimento do corpo inferior a 2,4 mm. . . . .
  - . . . . . *mirim* Dobzhansky e Pavan.
  - Índice costal acima de 2,0; abdômen com faixas estreitas interrompidas no meio do segundo e do terceiro tergitos; quarto e quinto tergitos com vestígios de faixa, sem mostrar claramente a interrupção mediana; comprimento do corpo 2,2 a 2,7 . . . . . *bromelioides* Pavan e Cunha.
5. Mesonotum com faixas escuras longitudinais, sendo a mediana bifurcada posteriormente; faixas escuras dos tergitos abdominais interrompidas mediana e lateralmente; cerdas preapicais da primeira e segunda tibia não muito evidentes . . . . .
  - . . . . . *busckii* Coquillet.
  - Não inteiramente como acima . . . . . 6
6. Espécies escuras . . . . . 7
  - Espécies amarelas . . . . . 10
7. Mesonotum com estrias longitudinais . . . . . 8
  - Mesonotum preto com dois desenhos cinzento polinosos: a) uma faixa mediana que perde coloração à medida que se aproxima da parte anterior do mesonotum; b) três manchas seguidas de cada lado das cerdas dorso-centrais; sutura cinzenta; índice costal 2,6 . . . . .
    - . . . . . *canalineae* Patterson e Mainland.
8. Mesonotum polinoso indistintamente estriado; arista com oito ramos; índice costal 3,5-4,1; receptáculo ventral com cerca de 30-35 espiras . . . . .
  - . . . . . *mesophragmatica* Duda.
  - Mesonotum claramente estriado; índice costal abaixo de 3,0 . . . . . 9
9. Mesonotum castanho acinzentado; duas estrias castanho muito escuras entre as cerdas dorso-centrais e, por fora destas, uma faixa larga dividida em três segmentos; arista com 10-11 ramos . . . . .
  - . . . . . *fumosa* Pavan e Cunha.
  - Mesonotum castanho ligeiramente polinoso com duas estrias mais claras entre as cerdas dorso-centrais e, por fora delas, uma faixa da mesma cor que as ou-

- tras; arista com sete ramos . . . . .  
 . . . . . *flavolineata* Duda.
10. Uma fileira de cerdas cuneiformes na parte interna do primeiro femur; faixas dos tergitos abdominais interrompidas no meio; mesonotum algumas vezes com faixas longitudinais indistintas . . . . .  
 . . . . . *immigrans* Sturtevant.  
 — Sem cerdas cuneiformes no femur . . . . . 11
11. Pêlos acrosticais em oito ou mais filas . . . . . 12  
 — Pêlos acrosticais em seis filas . . . . . 18
12. Índice costal 3,3-3,7; asas foscas; espécie grande; duas faixas longitudinais indistintas entre as cerdas dorso-centrais . . *camargoi* Dobzhansky e Pavan.  
 — Índice costal inferior a 3,0 . . . . . 13
13. Mesonotum brilhante; pentes sexuais no primeiro tarso do macho . . . . . 14  
 — Mesonotum fosco (para mesonotum estriado, v. 42) . . . . . 15
14. Arco genital do macho com processo externo pouco saliente . . . . .  
 . . . . . *melanogaster* Meigen.  
 — Arco genital do macho com processo externo muito saliente *simulans* Sturtevant.
15. Índice costal 1,5; arista com nove ramos; tergitos abdominais com faixas indistintas acastanhadas não interrompidas no meio . . . . *ananassae* Doleschall.  
 — Índice costal 1,9 ou superior; faixas abdominais descoradas ou interrompidas na parte mediana . . . . . 16
16. Piacas vaginais muito proeminentes e espatuladas; comprimento do corpo 3,4 a 4,3; receptáculo ventral com cerca de 160 espiras . . . . . *pará* Pavan e Burla.  
 — Não inteiramente como acima . . . . . 17
17. Tergitos abdominais com faixas pretas interrompidas no meio; comprimento do corpo 2,4-3,3 mm.; asas com 2,1-2,4 mm.; espermateca quitinizada, em forma de ponta de dedo; testículos com cinco espiras internas e seis externas . . . . .  
 . . . . . *caponei* Pavan e Cunha.  
 — Tergitos com bandas marginais escuras interrompidas no meio; comprimento do corpo 1,8-2,6 mm.; asa com 1,8-2,1 mm.; espermateca rudimentar fracamente quitinizada; testículos com 3,5 voltas internas e três externas . . . . *peruviana* Duda.
18. Índice costal acima de 2,5; faixas abdominais escuras interrompidas no centro, do segundo ao quarto tergitos; torax muito brilhante (grupo *cardini*) . . . . . 19  
 — Índice costal 1,6-1,9; longos pentes no primeiro e segundo segmento tarsal da pata anterior do macho; cerdas fortes na margem posterior dos tergitos da fêmea . . . . .  
 . . . . . *montium* de Meijere.
19. Índice costal acima de 3,2 . . . . . 20  
 — Índice costal 2,8-3,2; veias transversais fortemente enfumaçadas . . . . .  
 . . . . . *campestris* Burla.
20. Torax castanho escuro; índice costal 3,2-3,8 *cardinoides* Dobzhansky e Pavan.  
 — Torax amarelo ou castanho claro . . . . . 21
21. Faixa do quarto tergito abdominal: muitas vezes dividida em quatro partes; sexto tergito com uma mancha mediana quadrada . . . . . *neocardini* Straisinger.  
 — Abdomen com desenhos diferentes: as faixas abdominais variam de muito estreitas a muito largas mediana e lateralmente, cobrindo mais da metade do segundo ao quinto tergitos e todo o sexto tergito nos tipos muito escuros . . . . .  
 . . . . . *polymorpha* Dobzhansky e Pavan.
22. Duas ou três cerdas orais proeminentes . . . . . 23  
 — Apenas uma oral proeminente; faixas abdominais estreitadas ou interrompidas no meio . . . . . 39
23. Sexto tergito claro com uma mancha mediana preta e sem faixa; mesonotum sem desenho . . . . . 24  
 — Sexto tergito sem mancha preta tendo, ou não, faixa marginal . . . . . 25

24. Pêlos acrosticais em seis filas; índice costal 3,9-4,2; uma fila de cerdas cuneiformes na parte interna do femur anterior . . . . . *mediostriata* Duda.  
 — Pêlos acrosticais em oito filas; índice costal 4,4-5,1; sem cerdas cuneiformes no femur . . . . .  
 .. *mediopunctata* Dobzhansky e Pavan.  
 25. Veias transversais fortemente esfumacadas; mesonotum e pleura polinosos; índice costal acima de 3,9; arista com 11-13 ramos (grupo guarani) . . . . . 26  
 — Não inteiramente como acima . . . . . 29  
 26. Abdomen de marron escuro a preto, com manchas claras na parte anterior dos tergitos . . . . . 27  
 — Abdomen claro com faixas escuras na margem posterior do segundo e terceiro tergitos . . . . . 28  
 27. Mesonotum castanho escuro com faixas longitudinais cinzento amareladas bem delimitadas . . . . . *griseolineata* Duda.  
 — Mesonotum castanho oliva sem desenhos ou com apenas algumas faixas longitudinais indistintas . . . . .  
 .. *guaramunu* Dobzhansky e Pavan.  
 28. Tergitos com margens laterais castanhas . . . . . *guarani* Dobzhansky e Pavan.  
 — Tergitos com margens laterais claras . . . . . *guarú* Dobzhansky e Pavan.  
 29. Mesonotum escuro com faixas longitudinais mais ou menos precisas; pequenos pêlos abaixo da carina; índice costal 2,0-2,3 (grupo saltans) . . . . . 30  
 — Mesonotum sem desenhos nítidos; sem pêlos abaixo da carina . . . . . 31  
 30. Mesonotum com uma faixa escura e curta na parte mediana à altura da sutura . . . . . *prosaltans* Duda.  
 — Mesonotum sem esta faixa . . . . .  
 .. *sturtevantii* Duda.  
 31. Espécies escuras . . . . . 32  
 — Espécies amarelas . . . . . 33  
 32. Arista com 8-9 ramos; índice costal 3,2-3,5; quinto e sexto tergitos do macho

e sexto e sétimo da fêmea, pretos . . . . .  
 .. *guarajá* King.  
 — Arista com 10-12 ramos; espécie brilhante; índice costal 4,5-5,3; abdomen do macho, preto . . . . . *addisoni* Pavan.  
 33. Faixas escuras dos tergitos fracas ou interrompidas no meio . . . . . 34  
 — Faixas escuras dos tergitos não interrompidas no meio (grupo willistoni) . . . . . 35  
 34. Duas cerdas prescutelares; faixas escuras dos tergitos, difusas . . . . .  
 .. *pallidipennis* Dobzhansky e Pavan.  
 — Sem cerdas prescutelares; arista com 12-13 ramos; índice costal 4,6-4,9; espécie grande . . . . .  
 .. *bandeirantium* Dobzhansky e Pavan.  
 35. Mesonotum mais ou menos brilhante; asas claras; índice costal comumente abaixo de 2,2; espécies pequenas . . . *willistoni* Sturtevant, *equinoxialis* Dobzhansky, *paulistorum* Dobzhansky e Pavan e *tropicalis* Burla e Cunha (espécies crípticas; para distinção entre elas, v. Burla *et al.*, 1950).  
 — Torax fôsko; índice costal comumente acima de 2,2 . . . . . 36  
 36. Asas claras ou levemente opacas; torax amarelo ou castanho claro . . . . .  
 .. *capricorni* Dobzhansky e Pavan.  
 — Asas enfumaçadas; mesonotum castanho oliva . . . . . 37  
 37. Asas uniformemente enfumaçadas; índice costal 2,9-3,4; quinto a sétimo tergitos inteiramente pretos; veias transversais enfumaçadas . . . . .  
 .. *bocainensis* Pavan e Cunha  
 — Não inteiramente como acima . . . . . 38  
 38. Espécie grande (2,6-3,5 mm.); asas uniformemente enfumaçadas; regiões das veias transversais pouco enfumaçadas . . . . .  
 .. *fumipennis* Duda  
 — Espécie pequena (cerca de 2mm.); asas escuras na metade anterior (i.e., metade ao longo da costal); regiões das veias transversais enfumaçadas . . . . .  
 .. *nebulosa* Sturtevant.

39. Espécie grande, amarela; parte posterior dos tergitos amarelo acastanhada, mostrando apenas vestígios de faixas do segundo ao quarto tergitos; veias transversais ligeiramente enfumaçadas; índice costal 3,0-3,5 . . . . . *tuchaua* Pavan  
 — Tergitos com faixas escuras estreitadas ou interrompidas no meio . . . . 40  
 40. Pêlos acrosticais em 6 filas; mesonotum amarelo ou castanho oliva . . . . 41  
 — Pêlos acrosticais em 8 filas; mesonotum castanho sem listas longitudinais óbvias; asas acastanhadas; faixas abdominais não expandidas lateralmente . . . . .  
 . . . . . *dreyfusi* Dobzhansky e Pavan.  
 41. Sexto tergito do macho com uma pinta escura na parte mediana; índice costal 4,4-4,6 . . . . .  
 . . . . . *mediosignata* Dobzhansky e Pavan.  
 — Sexto tergito abdominal sem pinta; índice costal 4,0-4,4 . . . . . *prosimilis* Duda  
 42. Espécie clara; nem todas as cerdas e pêlos do mesonotum emergem de manchas escuras; mesonotum com quatro faixas longitudinais, duas por dentro e duas por fora das cerdas dorso-centrais; espermateca rudimentar; receptáculo ventral com cerca de trinta espiras . . . . . *moju* Pavan.  
 — Todas as cerdas e pêlos do mesonotum emergindo de manchas escuras . . . . 43  
 43. Espécies escuras; ponto de inserção da orbital mediana situado na frente da anterior; terceira e quarta veias da asa muito convergentes (grupo annulimana) . . . . . 52  
 — Não inteiramente como acima; cerdas escutelares anteriores convergentes . . . . 44  
 44. Faixas abdominais de castanho escuras a pretas, alargadas lateralmente e aí tomando toda a largura do tergito; carina fortemente sulcada; arista com sete ramos, raramente com oito; pintas do mesonotum bem individualizadas; pêlos acrosticais longos e fortes . . . . . *hydei* Sturtevant.  
 — Faixas abdominais como acima, po-

vém com áreas pálidas lateralmente . . . . 45  
 45. Pintas do mesonotum parcialmente fundidas formando uma série de estrias distintas; arista com 8-9 ramos; índice costal 2,3-2,6; veias transversais ligeiramente enfumaçadas; carina não sulcada . . . . .  
 . . . . . *onca* Dobzhansky e Pavan  
 — Pintas do mesonotum formando ou não estrias longitudinais; quando formam, a espécie não é inteiramente como acima; veias transversais nunca enfumaçadas . . . . 46  
 46. Índice costal abaixo de 2,6; algumas pintas do mesonotum fundidas formando estrias longitudinais; olhos vermelho cinábrio; carina não sulcada . . . . .  
 . . . . . *fascioloides* Dobzhansky e Pavan.  
 — Índice costal acima de 2,6 . . . . 47  
 47. Faixas abdominais com limites precisos, porém fracas; palpus pálidos; arista frequentemente com oito ramos; espermateca muito pequena não quitinizada; testículos com cerca de duas espiras . . . . .  
 . . . . . *betari* Dobzhansky e Pavan  
 — Faixas abdominais marron escuras ou pretas; arista comumente com sete ramos . . . . . 48  
 48. Palpus castanhos; pintas do mesonotum bem delimitadas; cromosoma X com centrômero claramente sub-terminal . . . . .  
 . . . . . *brunneipalpa* Dobzhansky e Pavan.  
 — Palpus acinzentados . . . . . 49  
 49. Espécie pequena (cerca de 2,4 mm.); carina sulcada; testículos castanho alaranjados dando à parte posterior do abdome do macho uma tonalidade escura . . . . .  
 . . . . . *buzzatii* Patterson e Wheeler  
 — Comprimento do corpo acima de 2,7 mm. . . . . 50  
 50. Carina levemente sulcada; testículos com cerca de treze espiras; espermateca grande, bem quitinizada; receptáculo ventral com cerca de 70 espiras . . . . .  
 . . . . . *repleta* Wollaston.  
 — Carina não sulcada; testículos com cerca de 2,5 a 3,5 espiras . . . . . 51

51. Fronte acinzentada, uma pinta escura abrangendo as bases das cerdas verticais anterior e posterior; receptáculo ventral com nove espiras; espermateca pequena e pouco quitinizada, em forma de bulbo de lâmpada . . . . . *mercatorum pararepleta* Dobzhansky e Pavan.

— Fronte acastanhada, uma pinta escura abrangendo apenas as bases das cerdas verticais anteriores; receptáculo ventral com 16 espiras (11 acoladas e 5 livres); espermateca pequena e pouco quitinizada, ovoide . . . . . *paranaensis* Barros.

52. Duas cerdas prescutelares; espécie muito grande (comprimento do corpo aci-

ma de 4,4 mm.) . . . . *annulimana* Duda  
— Sem cerdas prescutelares . . . . 53

53. Cerdas escutелares anteriores convergentes; arista com 7-9 ramos; receptáculo ventral com 70 espiras; índice costal 3,3-3,4 . . . . . *ararama* Pavan e Cunha.

— Cerdas escutелares anteriores divergentes . . . . . 54

54. Aresta com 9-11 ramos, 10 sendo mais frequente; índice costal 3,3-4,1; receptáculo ventral com 120 espiras . . . . . *arapuan* Cunha e I. Pavan.

— Aresta com 9-11 ramos, sendo 9 mais frequente; índice costal 3,6-4,0; receptáculo ventral com 200-250 espiras . . . . . *arassari* Cunha e Frota-Pessoa.

(Traduzido de C. Pavan, *Biol. Geral* n.º 8, em impressão).

Lista de algumas mutações de *D. melanogaster*

<i>Mutações</i>	<i>Explicações</i>	<i>Loci</i>	<i>Símbolos</i>
<b>CROMOSOMA X:</b>			
yellow	corpo amarelo	0	y
white	olhos brancos	1,5	w
crossveinless	sem veias transversais	13,7	cv
singed	cerdas onduladas	21,0	sn
vermilion	olhos vermelho claro	33,0	v
sable	corpo preto	43,0	s
forked	cerdas em forquilha	56,7	f
Bar	olhos em barra	57,0	B
<b>CROMOSOMA II:</b>			
aristales	sem arista	0,	al
dumpy	asas truncadas e reduzidas	13,0	dp
black	corpo preto	48,5	b
purple	olhos púrpura	54,5	pr
vestigial	asas vestigiais	67,0	vg
curved	asas recurvadas para cima	75,5	c
brown	olhos marrom claro	100,7	bw
<b>CROMOSOMA III:</b>			
veinlet	veias da asa incompletas	0,2	ve
sepia	olhos sepia	26,0	se
hairy	pêlos extra	26,5	h
Dichaete	asas extendidas	41,0	D
Glued	olhos menores e oblongos	41,4	Gl
pink	olhos rubi fôsko	48,0	p
spineless	cerdas escutelares pequenas	58,5	ss
bithorax	vestígios de partes extra do torax	58,7	bx
glass	olhos menores c/ facetas fundidas	63,0	gl
ebony	corpo preto	70,7	e
taxi	asas abertas	91,0	tx
<b>CROMOSOMA IV:</b>			
bent	asas recurvadas para traz	0	bt
eyeless	sem olhos	0,1	ey

(Cf. Bridges e Brehme, 1944).

## Bibliografia

*A seguinte lista bibliográfica, visivelmente incompleta, inclui apenas alguns dos principais trabalhos relacionados com os tópicos analisados neste manual e praticamente todos aquêles que, realizados em nosso país ou no estrangeiro, tiveram, como material, espécies de *Drosophila* que ocorram no Brasil.*

*No fim desta lista, o leitor encontrará uma discriminação de assuntos a que relacionámos os trabalhos respectivos da lista abaixo por meio dos números de sua seriação.*

*Uma grande quantidade dos trabalhos já clássicos de Morgan, Sturtevant, Bridges, Muller e tantos outros pioneiros não será incluída aqui, uma vêz que sua citação poderá ser encontrada nos manuais de Genética, dos quais daremos uma lista final.*

1. Barros, R., 1946 — *Gazeta Clínica*, 45:61-62.
2. Barros, R., 1949a — *Rev. Brasil. Biol.*, 9:365-376.
3. Barros, R., 1949b — *Ciência e Cultura*, 1:107-110.
4. Bridges, C.B., 1935a — *Dros. Inf. Serv.* - (work sheet no. 1).
5. Bridges, C.B., 1935b — *Journ. Heredity*, 26:60-64.
6. Bridges, C.B., 1936 — *Scienza*, 83:210-211.
7. Bridges, C.B. e K.S. Brehme, 1944 — *The mutants of *Drosophila melanogaster** — Carn. Inst. Wash., 552.
8. Brieger, F.G., 1937 — *Tábuas e fórmulas para estatística* — Cia. Melhoramentos, S. Paulo.
9. Burla, H., 1948 — *Rev. Suisse Zool.*, 55:272-279.
10. Burla, H., Th. Dobzhansky e C. Pavan, 1950 — *Ecology* (em impr.).
11. Buzzati-Traverso, A., 1945 — *Mem. Inst. Ital. Idrob.*, 2:219-251.
12. Buzzati-Traverso, A., 1947 — *Idem*, 3:1-41; 41-65; 65-87; 107-115; 115-119.  
— Carson, H.L. e H.D. Stalker — v. n.º 102.
13. Cavalcanti, A.G.L., 1948 — *Genetics*, 53.
14. Cooper, K., 1946 — *Genetics*, 31:181-194.
15. Cunha, A.B., 1947 — *Journ. Heredity*, 37:253-257.
16. Cunha, A.B., 1949 — *Evolution*, 3:239-251.
17. Demerec, M. e B.P. Kaufmann, 1943 — *Drosophila Guide* — Carn. Inst. Wash.
18. Dobzhansky, Th., 1935 — *Genetics*, 20:366-376.
19. Dobzhansky, Th., 1937a — *Journ. Genetics*, 34:135-151.
20. Dobzhansky, Th., 1937b — *Genetics*, 22:340-

- 347.
21. Dobzhansky, Th., 1941 — **Genetics and the origin of species** — Columbia Univ. Press, New York.
  22. Dobzhansky, Th., 1944a — **Amer. Natur.**, 78:193-213.
  23. Dobzhansky, Th., 1944b — **Carn. Inst. Wash. Publ.**, 554.
  24. Dobzhansky, Th., 1946 — **Ecology**, 27:205-211.
  25. Dobzhansky, Th., 1947a — **Genetics**, 32:142-160.
  26. Dobzhansky, Th., 1947b — **Evolution**, 1:1-16.
  27. Dobzhansky, Th., 1948 — **Genetics**, 33:158-176.
  28. Dobzhansky, Th., e R.D. Boche, 1933 — **Biol. Abl.**, 53:314-330.
  29. Dobzhansky, Th e A. Dreyfus 1943 — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 29:301-305.
  30. Dobzhansky, Th. e C. Epling, 1944 — **Carn. Inst. Wash. Publ.**, 554:1-46.
  31. Dobzhansky, Th. e E. Mayr, 1944 — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 30:238-244.
  32. Dobzhansky, Th. e C. Pavan, 1943a — **Biol. Geral (Bol. Fac., Fil., Ciênc. Letr.** 36):5:7-72.
  33. Dobzhasnky, Th. e C. Pavan, 1943 — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 20:368-375.
  34. Dobzhansky, Th. e G. Streisinger, 1944 — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 30:340-345.
  35. Dobzhansky, Th. e C.C. Tan, 1936 — **Z. induct. Abstamm. VererbLehre**, 72:99-114.
  36. Dubinin, N.P., 1946 — **Genetics**, 31:21-38.
  37. Dubinin, N.P., M.N. Socolov e G.G. Tiniakov 1937 — **Biol. Zh. (Moseou)**: 6:1007-1054.
  38. Dubinin, N.P. e G.G. Tiniakov, 1946 — **Genetics**, 31:537-545.
  39. Dreyfus, A., 1948 — **Heredity**, 2:278.
  40. Dreyfus, A., 1949 — **Proc. VIII Intern. Congr. Genetics**, Estocolmo (Supl. de "Hereditas"): 564-565.
  41. Dreyfus, A. e R. de Barros, 1947 — **Gaz. Cl.**, 45:58-59.
  42. Dreyfus, A. e R. de Barros, 1948 — **S. Paulo Méd.**, Jan.-Fev.:11-18.
  43. Duda, O., 1924a — **Arch. f. Naturg.**, 90:172-234.
  44. Duda, O., 1924b — **Arch. f. Naturg.**, 90:235-259.
  45. Duda O., 1925 — **Arch. f. Naturg.**, 91A:11-12:1-228.
  46. Duda, O., 1926 — **Suppl. Ent.**, 14:42-116.
  47. Fallen, C.F., 1823 — **Dipt. Succ. Goomyzides**, 48. Freire-Maia, N., 1947 — **Biol. Geral (Bol. Fac. Fil., Ciênc. Letr.**, 86):7:13-19.
  49. Freire-Maia N., 1949a — **Evolution**, 3:98.
  50. Freire-Maia, N., 1949b — **Rev. Brasil. Biol.**, 9:389-396.
  51. Freire-Maia, N. e H. Engel, 1949 — **Ciência e Cultura**, 1:204-207.
  52. Frota-Pessôa, O., 1945 — **Rev. Brasil. Biol.**, 5:469-483.
  53. Hinton, T. 1942 — **Genetics**, 27:119-127.
  54. Hogben, L., 1946 — **An Introduction to Mathematical Genetics** (Northon, New York).
  55. Hovanitz, W. 1947 — **Genetics**, 35:500-505.
  56. Hsu, T.C., 1944 — **Dros. Inf. Serv.**, 21:90.
  57. Ives, P.T. 1945 — **Genetics**, 30:167-196.
  58. Kaufmann, B.P., 1937a — **Genetics**, 22:197-198.
  59. Kaufmann, B.P., 1937b — **Cytologia** (Fujii Jub. Vol.):1043-1055.
  60. Kikkawa, H., 1936 — **Jap. Journ. Genetics**, 12:137-142.
  61. Kikkawa, H., 1937 — **Cytologia** (Fujii Jub. Vol.):125-128.
  62. Kikkawa, H., 1938 — **Genetica**, 458-516.
  63. Kikkawa, H. e F.T. Peng, 1938 — **Jap Journ. Zool.**, 7:507-552.
  64. King J., 1947 — **Evolution**, 1:143-153.
  65. Kodani, M., 1944 — **Genetics**, 32:18-28.
  66. L'Héritier Ph. e G. Teissier, 1933 — **Comp. rend. Soc. Biol.**, 117:1049-1051.
  67. Lima de Faria, 1949 — **Hereditas**, 35:422-444.
  68. Malloch, J.R., 1934 — **Brit. Mus. (Nat. Hist.)**, 5:267-328.
  69. Miller, D.D., 1939 — **Genetics**, 24:699-708.
  70. Malogolovkin, Ch., 1946 — **Rev. Brasil. Biol.**, 6:415-426.
  71. Malogolovkin, Ch., 1948 — **Sum. Brasil. Biol.**, 1:429-457.
  72. Mather, K., 1943 — **Biol. Rev.**, 18:32-64.
  73. Mayr, E. 1946a — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 32:57-59.
  74. Mayr, E., 1946b — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 32:128-137.
  75. Mayr, E. e Th. Dobzhansky, 1945 — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 31:75-82.
  76. Merrel D.J., 1949 — **Evolution**, 3:266-268.
  77. Novitski, E., 1947 — **Genetics**, 32:526-534.
  78. Osima, T., 1940 — **Cytologia**, 10:450-457.
  79. Patterson, J.T., 1943 — **Univ. Texas Publ.**, 4313:7-216.
  80. Patterson, J.T., 1947 — **Univ. Texas Publ.**, 4720:41-77.

81. Patterson, J.T. e Th. Dobzhansky, 1945 — **Genetics**, 30:429-438.
82. Patterson, J.T. e R.P. Wagner, 1943 — **Univ. Texas Publ.**, 4313:217-303.
83. Patterson, J.T. e M.R. Wheeler, 1942 — **Univ. Texas Publ.**, 4213:67-109.
84. Patterson, J.T. e M.R. Wheeler, 1949 — **Univ. Texas Publ.**, 4920:207-233.
85. Pavan, C., 1946a — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 32: 137-145.
86. Pavan, C. 1946b — **Genetics**, 31:546-557.
87. Pavan, C. e A. Brito da Cunha, 1947 — **Biol. Geral (Bol. Fac. Fil., Ciên. Letr. Univ. S. Paulo, 86)**:7:20-64.
88. Pereira, E.N. e A. Dreyfus, 1947 — **Gaz. Clínica** 45:54-57.
89. Salles, H., 1948 — **Sum. Bras. Biol.**, 1:311-383.
90. Sharp, L.W., 1934 — **An Introduction to Cytology** — McGraw — Hill, New York.
91. Sharp, L.W., 1943 — **Fundamentals of Cytology** — McGraw — Hill, New York.
92. Snedecor, G.W., 1940 — **Statistical Methods** — College Press Ames, Iowa.
93. Sturtevant, A.H., 1921 — **The north american species of Drosophila** — Carn. Inst. Wash. Publ., n.o 301, 150 pags.
94. Sturtevant, A.H., 1939 — **Proc. Nat. Acad. Sc.**, 25:137-141.
95. Sturtevant, A.H., 1942 — **Univ. Texas Publ.**, 4213:5-51.
96. Sturtevant, A.H., e E. Novitsky, 1941 — **Genetics**, 26:517-641.
97. Sturtevant, A.H. e C.R. Plunkett, 1926 — **Biol. Bol. Woods Hole**, 50:56-60.
98. Slizinsky B.N., 1938 — **Genetics**, 23:283-290.
99. Spieth, H.T., 1947 — **Evolution**, 1:17-31.
100. Spieth, H.T., 1949 — **Evolution**, 3:67-81.
- 2.
101. Stalker, H.D., 1942 — **Genetics**, 27:238-259.
102. **Evolution**, 1:113-133. (H.L. Carson e H.D. Stalker).
103. Sutton, E., 1943 — **Genetics**, 28:97-107.
104. Tan, C.C., 1942 — **Sc. Record**, 1:178-187.
105. Tan, C.C., 1946 — **Genetics**, 31:558-573.
106. Tan, C.C. e T.C. Hsu, 1944 — **Kwangsi Agric.**, 5(1).
107. Vanderlyn, L., 1949 — **Botanical Review**, 15.
108. Wagner, R.T., 1944 — **Univ. Texas Publ.**, 4445:104-128.
109. Wagner, R.P., 1949 — **Univ. Texas Publ.**, 4920:39-41.
110. Wallace B., 1948 — **Evolution**, 2:189-217.
111. Wallace, B. e Th. Dobzhansky, 1946 — **Proc. nat. Acad. Sc.**, 32:226-234.
112. Ward, C.L., 1949 — **Univ. Texas Publ.**, 4920 70-80.
113. Warters, M., 1944 — **Univ. Texas Publ.** 4445: 129-174.
114. Warton, L.T., 1942 — **Univ. Texas Publ.**, 4428:23-52.
115. Warton, L.T., 1943 — **Univ. Texas Publ.**, 5313:282-319.
116. White, M.J.D., 1937 — **The chromosomes** — Methuen and Co. Ltd., London.
117. White, M.J.D. 1945 — **Animal Cytology and Evolution** — Cambridge Univ. Press., London.
118. Wright, S., 1940 — In **"The New Systematics"** (edit., J.S. Huxley), Oxford.
119. Wright, S., 1946 — **Genetics**, 31:39-59.
120. Wright, S., 1949a — **Evolution**, 3:279-294.
121. Wright, S., 1949b — In **"Genetics, Paleontology and Evolution** (editores: G.L. Jepsen, G.G. Simpson e E. Mayr), Princeton Univ. Press.
122. Wright, S. e Th. Dobzhansky, 1946 — **Genetics**, 31:125-156.

**CROMOSOMAS MEIÓTICOS:** 14, 18 e 33.

**CROMOSOMAS MITÓTICOS:** 2, 13, 20, 22, 24, 32, 33, 35, 48, 50, 53, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 67, 78, 85, 87, 102, 107, 112, 114 e 115..

**CROMOSOMAS SALIVARES:** 2, 3, 7, 9, 13, 21, 22, 23, 25, 26, 27, 29, 33, 35, 36, 37, 38, 42, 48, 51, 53, 55, 58, 59, 61, 62, 64, 65, 69, 77, 78, 81, 85, 86, 96, 97, 98, 102, 103, 104, 107 e 113.

**ECOLOGIA:** 10 e 30.

**FATORES DA EVOLUÇÃO:** 21, 25, 26, 36, 37, 38, 118, 119, 120, 121 e 122.

**GENÉTICA DE POPULAÇÕES:** 11, 12, 16, 21, 25, 26, 27, 36, 37, 38, 49, 57, 66, 110, 118, 119, 120, 121 e 122.

**HÁBITOS ALIMENTARES:** 108 e 109.

**HÁBITOS DE ACASALAMENTO E ISOLAMENTO SEXUAL:** 1, 3, 19, 24, 31, 34, 39, 40, 41, 73, 74, 75, 76, 81, 88, 93, 99, 100, 101, 105, 106,

110 e 111.

**MAPAS CROMOSÔMICOS:** 5, 6, 7, 13, 48, 51 e 60.**MAPAS GENÉTICOS:** 6, 7 e 78.**POLIGENS:** 72.**POLIMORFISMO EXTERIOR:** 15, 16 e 49.**SISTEMÁTICA:** 4, 9, 18, 19, 24, 30, 32, 35, 43,

44, 45, 46, 47, 50, 51, 52, 63, 64, 68, 70, 71, 79,

80, 81, 82, 83, 84, 87, 89, 93, 95, 96, 99, 100 e 106.

**TÉCNICA:** 17 e 56.**VARIAÇÃO CROMOSÔMICA:** 2, 13, 20, 21, 23,

25, 26, 27, 28, 29, 30, 33, 35, 36, 37, 38, 42, 48,

50, 51, 58, 59, 60, 62, 64, 65, 69, 77, 78, 81, 86,

97, 98, 102, 103, 112, 113, 114, 115 e 122.

### Livros aconselhados

A seguinte lista, organizada em ordem crescente de complexidade, visa a dar ao leitor algumas sugestões para leitura:

1. A. Câmara — *ABC da Genética* — (Cosmos, Lisboa).
2. A. Scheinfeld e M. D. Schweitzer — *Você e a hereditariedade* — (Livraria José Olímpio, Rio).
3. A. Dreyfus — *Curso de Genética com aplicação à Orquidologia* — (Círculo Paulista de Orquidófilos — S. Paulo, 1945)
4. L. C. Dunn e Th. Dobzhansky — *Heredity, race and society* — (Pelican Books, New York, 1946).
5. E.C. Colin — *Elementos de Genética* — (Comp Editora Nacional, S. Paulo, 1947).
6. H. Kalmus — *Genetics* — (Pelican Books, Inglaterra, 1948)
7. E. Altenburg — *Genetics* — (Henry Holt & Co., New York, 1945).
8. E. Guyénot — *L'Hérédité* — (G. Doin & Cie. Paris, 1942).
9. E. W. Sinnott e L. C. Dunn — *Principles of Genetics* — (McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, 1939).
10. A. H. Sturtevant e G. W. Beadle — *An Introduction to Genetics* — (W. B. Saunders Co., Philadelphia, 1940).
11. C. H. Waddington — *An Introduction to Modern Genetics* (Londres, 1939).
12. J. A. Serra — *Moderna Genética Geral e Fisiológica* — (Ed. do autor, Coimbra, 1949 — 2 volumes).
13. C.D. Darlington e K. Mather — *The Elements of Genetics* (George Allen & Unwin Ltda., Londres, 1949). Neste livro, o leitor encontrará, como apêndice, um glossário e uma lista de livros de Genética publicados em inglês.

*Genética humana* — Como introdução ao estudo da genética humana, v. E. B. Ford — *Genetics for medical students* — (Methuen

& Co. Ltda., Londres 1942). O livro de Colin (1947) apresenta dois capítulos sobre o mesmo assunto. Como obra mais vasta, consultar R.R. Gates — *Human Genetics* — (Mc. Millan, New York, 1946, 2 vols.).

*Evolução*: A bibliografia sobre evolução relacionada com a Citologia e a Genética tem crescido grandemente nos últimos anos e, sobre ela, o leitor poderá ter valiosas informações, consultando Dobzhansky (1941) e White (1945). Por êste motivo, limitamo-nos a sugerir os seguintes livros:

1. E. B. Ford — *Mendelism and evolution* — (Londres, 1945).
2. Th. Dobzhansky — *Mecanismos da evolução e origem das espécies* — (Ministério da Agricultura, Rio, 1944).
3. M.J.D. White — *Animal Cytology and evolution* — (Cambridge, 1945).
4. Th. Dobzhansky — *Genetics and the origin of species* - (Columbia University Press, New York, 1941).



# INDICE

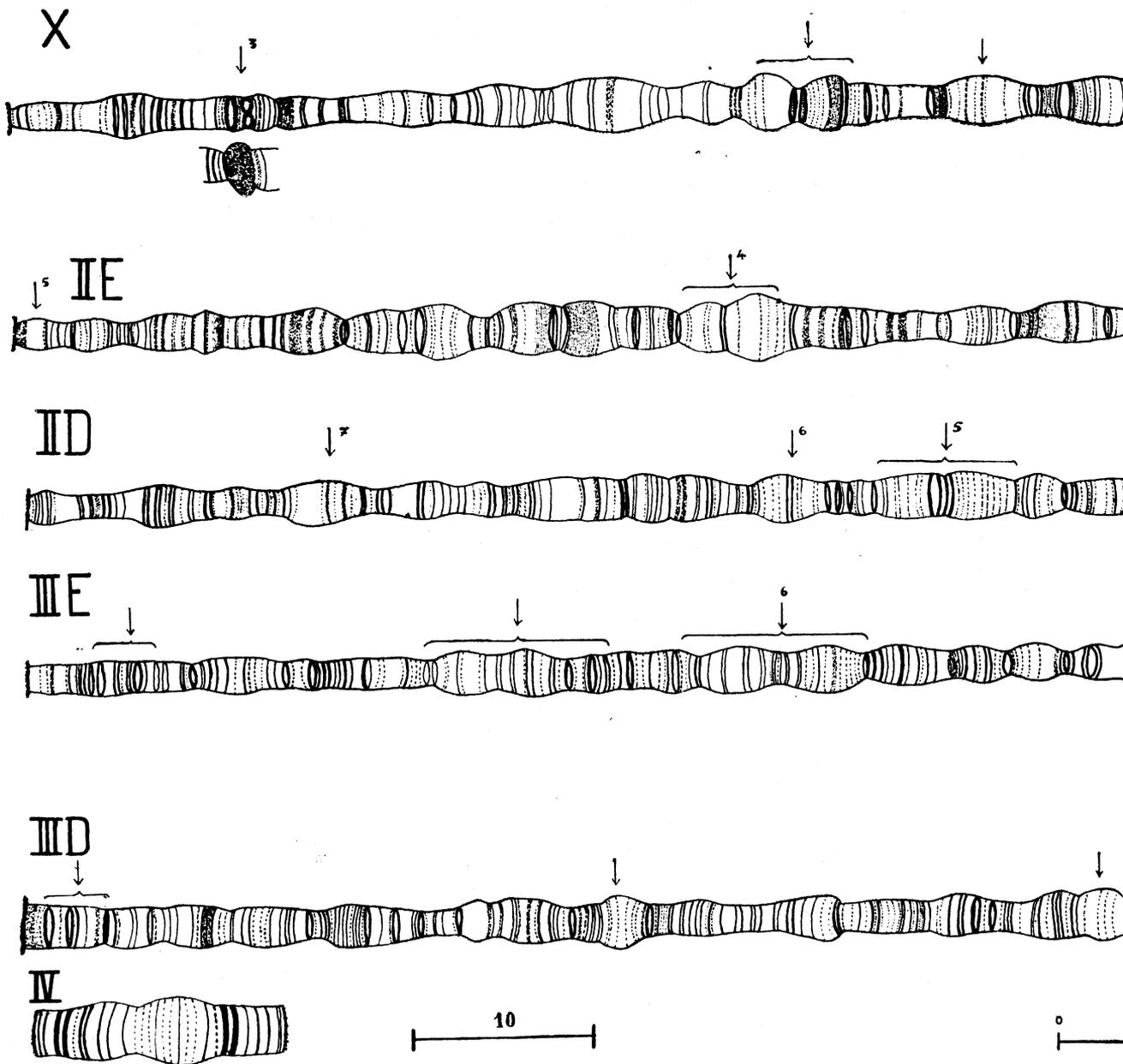
I.	<i>Prólogo</i> .....	5
II.	<i>Introdução</i> .....	6
III.	<i>Métodos de coleta</i> .....	8
IV.	<i>Manutenção de stocks</i> .....	11
V.	<i>Sistemática (1.a parte): Análise dos caracteres</i> .....	13
	Caractères externos .....	13
	Caractères internos .....	17
	Outros caracteres .....	19
VI.	<i>Sistemática (2.a parte): Análise do gênero, sub-gêneros e grupos de espécies</i> .....	20
	Gênero <i>Drosophila</i> <i>Fallen</i> .....	20
	Sub-gênero <i>Hirtodrosophila</i> .....	20
	Sub-gênero <i>Pholadoris</i> .....	20
	Sub-gênero <i>Dorsilopha</i> .....	20
	Sub-gênero <i>Phloridosa</i> .....	21
	Sub-gênero <i>Sophophora</i> .....	21
	1. Grupo <i>saltans</i> .....	21
	2. Grupo <i>willistoni</i> .....	21
	3. Grupo <i>melanogaster</i> .....	21
	4. Grupo <i>obscura</i> .....	21
	Sub-gênero <i>Drosophila</i> .....	21
	1. Grupo <i>quinaria</i> .....	22
	2. Grupo <i>guttifera</i> .....	22
	3. Grupo <i>pinicola</i> .....	22
	4. Grupo <i>virilis</i> .....	22
	5. Grupo <i>testacea</i> .....	22
	6. Grupo <i>tripunctata</i> .....	22
	7. Grupo <i>funebri</i> .....	22



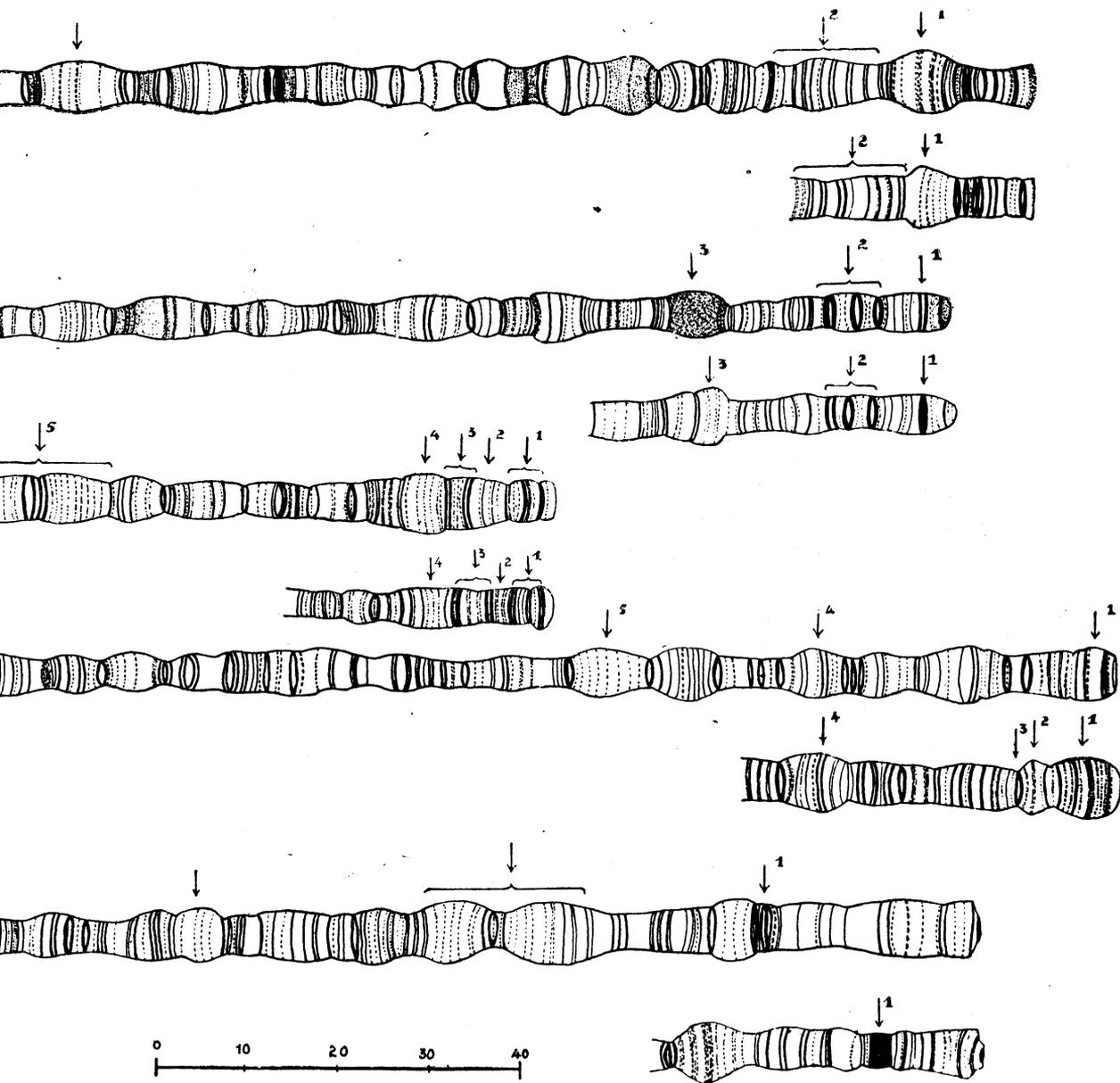
## ERRATA

Página	Coluna	Linha	Onde se lê	Leia-se
14	2a.	14	Fig. 13	Fig. 12
14	2a.	28	Figs. 9 e 11	Figs. 8 e 11
14	2a.	32	Fig. 8	Fig. 9
15	1a.	18	Fig. 8	Fig. 9
15	2a.	9	Fig. 8	Fig. 9
15	2a.	10	Depois de (Fig. 8), acrescentar:	Algumas espécies apresentam normalmente mais de dois pares ( <i>D. polychaeta</i> , v.g.).
15	2a.	27	Fig. 9	Fig. 8
18	Legenda:		"Figs. 18, 19 e 20 — Ovos, pupas, espermatecas e cromosomas de <i>D. bocainensis</i> , <i>D. bromelioides</i> e <i>D. pulla</i> (Pavan e Brito da Cunha, 1947).	
19	1a.	25-26	espiráculo posterior	espiráculo anterior
19	2a.	6	Wallace (1946)	Wallace e Dobzhansky (1946)
22	2a.	36	Retirar: "definidos ou..."	
23	1a.		Acrescentar a seguinte nota em rodapé: "D. guarajá possui alguns caracteres diferentes dos aqui estabelecidos para o grupo guarani. Apesar disto, foi incluída nesse grupo por King (1947)".	
29	1a.	20	Fig. 27-5	Fig. 27-I
30	1a.	20	Depois de "Drosophila", acresc.: (cf. fig. 32)	
31	1a.	1	(v. fig. 32)	(v. fig. 31)
32	2a.	23	Depois de "duplo", acrescentar: (cf. fig. 36)	
32	2a.	34	mitóticos	metafásicos
33	2a.	6-7	heteropienóticos	heterocromáticos
37	1a.	3	Trocar as posições dos termos extremos do esquema	
37	2a.	11	Retirar "fotografia e desenho"	
39	1a.	22	lavras: o...	letras minúsculas porque no expressam seu
39	2a.	25	Inverter os símbolos do denominador (w+)	
39			Acrescentar a seguinte nota em rodapé: "Os pontos analisados neste capítulo foram redigidos na pressuposição de que o leitor possui pelo menos um conhecimento elementar do assunto".	

Página	Coluna	Linha	Onde se lê	Leia-se
43	Legenda		macho ebony com fêmea vestigial	macho vestigial e/ fêmea ebony
44	2a.	23	1.42 e 2.37	1.0 e 1.42
44	2a.	25	50% e 70%	70% e 80%
45	1a. linha do 1o. esquema		wY	w+Y
45	2a.	31	fêmea apricot...	macho apricot × fê- mea vermilion
48	Crossings entre cv e ct		Inverter a posição do numerador e do de- nominador	
48	1a.	14	as porcentagens	às porcentagens
50	2a.	4	"Esta variabilidade..."	"Esta variabilidade oculta das populações naturais é de suma importância no processo da evolução. Se as populações de cada espécie fossem in- tegralmente..."
52	1a. (Rodapé)		Th. Dobzhansky ..	Th. Dobzhansky, N. Dobzhansky,...
55	2a.	34	três	quatro



PRANCHA I — Mapa dos cromosomas salivares de *D. montium*. As setas indicam as regiões m de cada braço. E e D significam “braço esquerdo” e “braço direito”. Desenhos suplementar para comparação. A escala de 40 micra refere-se aos cromosomas X, II e III. A escala de 1



As setas indicam as regiões mais características, cuja análise permitirá mais facilmente a identificação. Desenhos suplementares das pontas e de uma pequena região do X (seta 3) são apresentados nas figuras II e III. A escala de 10 micra, ao cr. IV. (Freire-Maia, 1947).