

**Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Instituto de Biociências  
Curso de Ciências Biológicas**

**Paula Dandara da Silva Berrutti**

**CONSTRUÇÃO DE FOTOMAPA DOS CROMOSSOMOS  
POLITÊNICOS E CARACTERIZAÇÃO DE  
POLIMORFISMOS CROMOSSÔMICOS EM  
*DROSOPHILA NEBULOSA***

Trabalho de conclusão de curso  
apresentado como requisito  
parcial para Graduação de  
Bacharel em Ciências Biológicas  
pela Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul. Escrito sob  
as normas da Revista  
Chromosome Research

**Orientadora: Dr<sup>a</sup>. Vera Lúcia da Silva Valente  
Co-Orientadora: Doutoranda Carolina Flores Garcia**

Porto Alegre, novembro de 2014.

**Construção de fotomapa dos cromossomos politênicos e caracterização de polimorfismos cromossômicos em *Drosophila nebulosa*.**

**PAULA DANDARA DA SILVA BERRUTTI · CAROLINA FLORES GARCIA ·  
VERA LÚCIA DA SILVA VALENTE**

P. Berrutti

Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 15053. CEP 91501-970. Porto Alegre, RS

Email: [paula\\_dandara@hotmail.com](mailto:paula_dandara@hotmail.com)

C. Garcia

Departamento de Genética, Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 15053. CEP 91501-970. Porto Alegre, RS

Email: [cafagibio@hotmail.com](mailto:cafagibio@hotmail.com)

V. Valente

Departamento de Genética, Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Caixa Postal 15053. CEP 91501-970. Porto Alegre, RS

Email: [vera.gaiesty@ufrgs.br](mailto:vera.gaiesty@ufrgs.br)

**Palavras-chave** *Drosophila nebulosa* – citogenética - fotomapa dos cromossomos politênicos – polimorfismo cromossômico - inversões

## **Resumo**

Em mais de seis décadas de estudo, iniciado com Pavan(1946), os polimorfismos cromossômicos em *Drosophila nebulosa* vêm sendo analisados. No presente estudo utilizou-se citogenética clássica para análise dos cromossomos politênicos dessa espécie em duas fases. A Fase I tinha como objetivo estabelecer uma população padrão para o fotomapa dos cromossomos politênicos da espécie, bem como para as análises de polimorfismo cromossômico. Nesta fase foram analisados 10 indivíduos das populações brasileiras Porto Alegre (JBO), Santa Maria (SM/RS), Florianópolis (MLC) e duas populações de Recife (UFPE I e UFPE II). A única que se mostrou homozigota para inversões foi a população de MLC, sendo esta estabelecida como a linhagem padrão. Além disso, foi descrita pela primeira vez uma inversão no cromossomo II, em seu braço esquerdo, a qual denominamos IIL-A. Esta inversão envolve a região 41A até 42B e foi encontrada na população UFPE I. Na Fase II foi analisado o polimorfismo cromossômico a partir do cruzamento de três machos de cada população com três fêmeas virgens de MLC, seguida da análise das inversões heterozigotas de três fêmeas da F1 de cada cruzamento. As populações foram as mesmas da primeira fase acrescida da população de Tingo Maria, Peru (04). O esperado era encontrar tanto as inversões em homozigose quanto as inversões em heterozigose presentes nos machos das populações cruzadas. Entretanto, por este método não observamos as inversões em heterozigose já estabelecidas na Fase I. Nas duas fases, o cromossomo autossômico III apresentou-se como o mais polimórfico da espécie, com cinco inversões paracêntricas.

## **Introdução**

Espécies do gênero *Drosophila* são organismos modelos amplamente utilizados em estudos na área da biologia. Extensivos estudos sobre inversões têm sido feitos neste

gênero, em grande parte devido à facilidade de análise oferecida pelos cromossomos politênicos, os quais estão presentes nos núcleos interfásicos das glândulas salivares das larvas e são resultados do evento de endopoliploidia. Uma característica peculiar destes cromossomos é que eles permitem a visualização do pareamento dos cromossomos homólogos em células mitóticas, o qual somente é visualizado na meiose de outros organismos (Powell, 1997).

As inversões são alterações cromossômicas decorrentes de duas quebras simultâneas em uma determinada sequência do material genético seguidas de um giro de 180°, encontradas na maioria dos organismos eucariontes já estudados. Quando do pareamento dos cromossomos homólogos, as inversões podem ser visualizadas ou no estado homocigoto, quando a inversão está presente nos dois cromossomos homólogos parentais, ou heterocigoto; ocorrendo a inversão somente em um dos cromossomos homólogos parentais (Griffiths et al., 2002). Essa última é de fácil visualização em núcleos politênicos, pois forma uma alça de inversão no braço do cromossomo afetado (Powell, 1997).

Sendo o estudo dos polimorfismos cromossômicos um campo altamente estruturado e embasado (Anderson et al., 1991; Aulard et al., 2002; Rohde & Valente, 2012), atualmente o gênero *Drosophila* também faz parte do cenário dos estudos genômicos, com o sequenciamento do genoma de 12 espécies (*Drosophila* 12 Genomes Consortium, 2007). Este trabalho disponibilizou o genoma de mais dez espécies (*D. sechellia*, *D. simulans*, *D. yakuba*, *D. erecta*, *D. ananassae*, *D. persimilis*, *D. mojavensis*, *D. virilis*, *D. grimshawi* e *D. willistoni*), somados aos dois genomas que já tinham sido previamente sequenciados: *D. melanogaster* em 2000 (Adam et al., 2000), e *D. pseudoobscura* (Richards et al., 2005). Com estes resultados, uma rica fonte de dados está agora disponível, permitindo análises evolutivas em fina escala, e com isto a

identificação de novos genes e outros elementos funcionais nos genomas de insetos e vertebrados. Entre as espécies sequenciadas, *D. willistoni* foi a única representante Neotropical (Schaeffer et al., 2008).

*Drosophila nebulosa* Sturtevant é um díptero típico da região Neotropical pertencente ao grupo *willistoni* (subgrupo *bocainensis*) do subgênero *Sophophora*, e apresenta uma vasta distribuição geográfica: desde o sul dos Estados Unidos, passando pelas Ilhas Orientais do Caribe, México, Peru, até o Chile, Argentina e Uruguai (Bächli, 2014); encontrada em regiões quentes e secas (Pavan, 1946). As populações naturais dessa espécie possuem cariótipo de  $2n = 6$ , sendo o cromossomo sexual metacêntrico denominado XR (braço direito) e XL (braço esquerdo), os cromossomos autossômicos II metacêntrico (com os respectivos braços IIR e IIL) e o cromossomo III, acrocêntrico (Pavan, 1946).

*Drosophila nebulosa* teve o seu primeiro mapa dos cromossomos politênicos elaborado por Pavan (1946). Neste estudo, o autor analisou o polimorfismo cromossômico através do cruzamento de machos de oito populações de diferentes locais da distribuição geográfica da espécie, com fêmeas da linhagem padrão estabelecida no mesmo estudo (população de Del Rio, Texas). Esta linhagem padrão foi escolhida devido ao fato de apresentar somente duas inversões em heterozigose, sendo que uma destas inversões era no braço XL. Bastante peculiar, esta inversão denominada XL-A caracterizou-se por ser próxima à base e ter seu ponto de quebra proximal no cromocentro. Além da inversão no cromossomo X, foram descritas por Pavan (1946) oito inversões no cromossomo III (inversões III-A, III-B, III-C, III-D, III-E, III-F, III-G e III-H), resultando em 17 arranjos gênicos para este cromossomo e o caracterizando-o como o mais polimórfico nesta espécie.

Posteriormente, Da Cunha et al. (1953) analisaram o polimorfismo

cromossômico de diversas espécies de *Drosophila* da América do Sul, dentre estas *D. nebulosa*. Esta análise foi feita através do estabelecimento de isolinhagens de todas as fêmeas coletadas na natureza, pelos autores. Neste estudo, foram encontradas sete das oito inversões descritas por Pavan (1946) para o cromossomo III, acrescidas de mais três novas inversões: III-I, III-J e III-K, ressaltando mais uma vez o alto polimorfismo neste cromossomo.

Análises do polimorfismo cromossômico em *D. nebulosa* foram feitas por Regner et al., (1991) e Bonorino et al. (1993a) em populações de diferentes pontos de coleta na cidade de Porto Alegre, extremo sul do Brasil. Já o primeiro fotomapa dos cromossomos politênicos foi construído por Valente et al. (1996) baseado nas populações estudadas por Bonorino et al. (1993a), acrescido da análise de polimorfismos cromossômicos em duas populações do Uruguai. Estes estudos foram oriundos da coleta desta espécie em uma época atípica de alto calor e seca na década de 1980 na região Neotropical da América Latina.

Como encontrado nos estudos de quase quatro décadas anteriores, estas análises apontaram a presença de alto grau de polimorfismo cromossômico para inversões heterozigotas no terceiro cromossomo.

Já Salceda (2005), analisando uma população natural de *D. nebulosa* oriunda do México, no período de 10 anos, identificou oito inversões no cromossomo III e uma inversão no cromossomo XL. Entretanto, esta análise não detectou variação sazonal do polimorfismo cromossômico no decorrer dos anos estudados.

Nosso grupo de pesquisa tem feito grandes esforços para melhorar a caracterização dos mapas cromossômicos, bem como o polimorfismo cromossômico das espécies do grupo *willistoni* de *Drosophila*, mais especificamente para o subgrupo *willistoni* (Valente et al., 2001, e 2003; Schaeffer et al., 2008; Rohde & Valente, 2012);

a fim de fornecer subsídios para diversos estudos evolutivos, incluindo o mapeamento por hibridização *in situ* dos locais de inserção dos elementos de transposição (Regner et al., 1996), o mapeamento dos genes (Bonorino et al., 1993b, Rohde et al., 1994, 1995, Regner et al., 1999) e para possibilitar base à montagem do genoma de *Drosophila willistoni* (*Drosophila* 12 Genomes Consortium, 2007, Schaeffer et al., 2008). Entretanto, muito pouco tem se estabelecido para o subgrupo *bocainensis* do grupo *willistoni* de *Drosophila*, exceto o estudo recente de Pita et al. (2014), que reconheceu a relação de sintenia conservada no elemento F proposto por Muller (1940) na base do cromossomo III de sete espécies, tanto do subgrupo *willistoni* quanto do *bocainensis* por hibridização *in situ* dos genes *cubitus interruptus* (*ci*) e *eyeless* (*ey*).

Sendo assim o presente trabalho apresenta um fotomapa aprimorado dos cromossomos politênicos de *Drosophila nebulosa*, propondo uma linhagem homozigota como cariótipo padrão para a espécie; bem como analisa o polimorfismo cromossômico com o uso de populações provenientes de diferentes locais do Brasil mais uma população do Peru.

## **Materiais e Métodos**

### Populações utilizadas e manutenção dos estoques

As populações utilizadas estão listadas na Tabela 1 e são provenientes de diferentes locais do Brasil mais uma população do Peru, mantidas no Laboratório de *Drosophila* da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. A manutenção das populações-estoque foi feita em tubos de 250 mL com meio de farinha de milho (Marques et al., 1966) e mantidas em câmara de temperatura constante (21°C +/- 1° C). Os cruzamentos realizados durante a pesquisa foram feitos em tubos de ensaio contendo meio específico para ovoposição com farinha de centeio, banana, fermento biológico

seco, glucose de milho e ágar (Schmitz, 2010). Os cruzamentos foram mantidos por uma semana em câmara de temperatura constante (21° C +/- 1° C) e, após, transferidos para outros tubos contendo meio novo. Os tubos contendo a prole (F1) foram mantidos em câmara a 18° C (+/- 1° C).

Tabela 1
----------

### Citogenética clássica

Glândulas salivares de larvas de terceiro estágio de desenvolvimento foram dissecadas em solução fisiológica, fixadas em ácido acético 45% e em ácido acetolático (1 ácido láctico: 2 H<sub>2</sub>O: 3 ácido acético); transferidas para uma lâmina previamente tratada com solução de gelatina comercial, depois foram coradas com orceína acetolática 5% (modificado de Ashburner, 1989) e cobertas com lamínula. Sob a lamínula, as glândulas salivares receberam leves batidas com o auxílio de uma tampa de caneta, para melhor separação dos cromossomos. Posteriormente os preparados foram mantidos a 4°C. As larvas foram sexadas por um método baseado na grande diferença de tamanho entre os testículos e ovários larvais: grandes e ovalados nos machos e pequenos e circulares nas fêmeas. Foram analisadas larvas de ambos os sexos na Fase 1 e somente larvas do sexo feminino na Fase 2.

### Análise de Polimorfismo cromossômico e Registro fotográfico

As análises dos preparados cromossômicos foram feitas sob microscópio de contraste de fase Zeiss® em todas as etapas da pesquisa, juntamente com o registro do polimorfismo cromossômico em câmera digital Sony acoplada ao microscópio, para posterior processamento. As fotos dos cromossomos politênicos foram montadas com o programa Photoshop\_CS-portable-eng.



### Fase I

Foram analisados dez indivíduos de cada população (Tabela 1), a partir de citogenética clássica, a fim de se estabelecer uma população padrão que não apresentasse inversão heterozigota. As populações tiveram tratamento específico, sendo repicadas três vezes por semana. Os tubos (contendo meio e fermento biológico diluído) nos quais estavam as moscas, ficavam na câmara de 21° C (+/- 1° C) e a cada novo tubo o antigo era passado para a câmara de 18° C (+/- 1° C). Com essa temperatura, o metabolismo das larvas se torna reduzido e favorece a politenização dos cromossomos.

### Fase II

Do cruzamento de três fêmeas virgens da linhagem padrão estabelecida (MLC) com três machos de uma mesma linhagem estoque do laboratório (Tabela 1) foram analisados os cromossomos politênicos de três larvas da F1 do sexo feminino (para visualização de ambos os cromossomos X). O mesmo tratamento de repicagem da Fase I foi aplicado nesta fase.

## **Resultados**

O estabelecimento da linhagem padrão MLC foi a partir da análise prévia de polimorfismo, denominada de Fase I. Esta linhagem, proveniente da população de Florianópolis, não apresentou qualquer inversão heterozigota nos indivíduos analisados, como pode ser visto na Tabela 2, que apresenta as frequências dos arranjos de todas as populações estudadas nesta fase. O fotomapa dos cromossomos politênicos proposto encontra-se na Figura 1. Todos os cromossomos estão apresentados com a orientação do centrômero para o telômero (direção esquerda para direita na Figura 1). As 100 seções cromossômicas seguiram as divisões já estabelecidas por Pavan (1946) para o braço

Tabela 2
----------

Figura 1
----------

cromossômico IIIe por Valente et al. (1996) para os demais.

Nesta fase também foi identificada uma inversão no braço cromossômico III na população de UFPE I, a qual nunca fora antes descrita, e que denominamos III-A por ser a primeira inversão heterozigota (Figura 2 e Tabela 2), envolvendo as seções 41 a 42. As outras inversões foram todas encontradas no cromossomo III. (Figura 3). Nesta mesma população foram encontrados os arranjos III-A e III-C. Já na população de UFPE II foram encontradas as inversões III-A, III-B, III-C e III-L, sendo essa última encontrada juntamente com a inversão III-A no mesmo indivíduo, como é apresentado no quadro de inversões (Figura 3). As populações JBO e SM/RS apresentaram os arranjos III-A e III-H.

Figura 2

Figura 3

As frequências das inversões observadas na prole (fêmeas da F1) dos cruzamentos realizados na Fase II do trabalho, envolvendo fêmeas da linhagem MLC com machos das populações de JBO, SM/RS, UFPE I, UFPE II e 04, são apresentadas na Tabela 3. Os três indivíduos analisados do cruzamento com JBO apresentaram as inversões III-A, III-B e III-C. No cruzamento com SM/RS também os três indivíduos analisados apresentaram as mesmas inversões: III-B, III-C e III-H. Para os resultados de fêmeas MLC com machos UFPE I e fêmeas de MLC com machos de 04, somente o arranjo III-B esteve presente nos três indivíduos fêmeas analisados em cada cruzamento. Já no cruzamento com UFPE II, os três indivíduos fêmeas analisados apresentaram a inversão III-B, porém um apresentou também o arranjo III-L.

Tabela 3

Na Tabela 4, apresentamos uma revisão de todas as inversões descritas na literatura até o momento para *D. nebulosa*, acrescida dos dados obtidos no presente estudo, que inclui os resultados de ambas as fases. Pavan (1946) encontrou, em seu trabalho pioneiro, uma inversão no XL e oito inversões no terceiro cromossomo, as quais denominou de III-A, III-B, III-C, III—D, III-E, III-F, III-G e III-H. Da Cunha

(1953) descreveu duas novas inversões no terceiro cromossomo e denominou de III-J e III-K. Regner et al. (1991) descreveram também dois novos arranjos para o terceiro cromossomo: III-L e III-M. Bonorino et al. (1993a) fizeram estudos do polimorfismo de *D. nebulosa* em diferentes pontos na cidade de Porto Alegre, RS (Brasil). Valente et al. (1996) foram os primeiros a descrever uma inversão no braço esquerdo do cromossomo II, denominando de IIR-A. Em 2005, Salceda foi o único a reencontrar a inversão XL descrita por Pavan.

Tabela 4
----------

## **Discussão**

No presente estudo procurou-se catalogar as inversões cromossômicas de *Drosophila nebulosa* que ocorrem em seis populações neotropicais de sua distribuição geográfica e fomos capazes de analisar e sistematizar o conhecimento do polimorfismo cromossômico da espécie. A análise precisa de cada inversão detectada foi feita através da utilização de várias fotografias diferentes e para que cada inversão fosse confirmada, a mesma configuração invertida deveria estar presente em todos os núcleos interfásicos das glândulas salivares do indivíduo.

Na Fase I, indivíduos da população de Florianópolis (MLC) se mostraram livres de inversões heterozigotas, sendo esta característica cariotípica crucial e amplamente utilizada para a escolha de uma linhagem padrão para a determinação de um fotomapa dos cromossomos politênicos e seu futuro uso em inúmeros outros estudos envolvendo a espécie. MLC é proveniente de uma linhagem isofêmea mantida em laboratório por endocruzamento, por muitos anos (desde 2008). O fato de não encontrarmos nenhum rearranjo cromossômico na mesma não significa que em populações naturais da espécie neste local (Florianópolis, SC) não exista polimorfismo

já que, na natureza, inversões podem desempenhar papel de especiação (Noor et al., 2001;. Navarro & Barton, 2003).

Nas Fases I e II, foi notório que algumas inversões são amplamente distribuídas geograficamente (inversões III-A, III-B, III-C e III-H) enquanto que outras são encontradas somente em algumas linhagens (inversões III-L e IIL-A). Da Cunha et al. (1953) viram que a distribuição das frequências das inversões III-A, III-B, III-C e III-H não apresentam clara correlação com as características das localidades das quais as linhagens foram coletadas. Os estudos que se seguiram (Regner et al., 1991; Bonorino et al. 1993a; Valente et al., 1996; Salceda, 2005) estão de acordo com esses achados. Porém, a inversão III-H foi encontrada somente na região sul do Brasil no presente trabalho (Tabela 4).

Todas as inversões encontradas no presente estudo, com exceção da IIL-A, estão no terceiro cromossomo, confirmando que esse é o braço mais polimórfico em *D. nebulosa* (Pavan, 1946; Da Cunha et al., 1953; Regner et al., 1991; Bonorino et al. 1993a; Valente et al., 1996; Salceda, 2005), ao contrário do que ocorre na espécie *D. willistoni* (revisão em Rohde & Valente, 2012), pertencente ao mesmo grupo *willistoni* de *Drosophila.*, onde todo o cariótipo dessa espécie é bastante polimórfico.

As inversões denominadas III-J e III-K do terceiro cromossomo de *D. nebulosa* (Da Cunha et al., 1953), não foram detectadas no presente estudo. Entretanto, os autores não forneceram informações precisas sobre as mesmas (seções envolvidas) no texto, nem a partir de desenho.

Desde o trabalho pioneiro de Pavan (1946) o polimorfismo de *D. nebulosa* vem sendo estudado. Neste trabalho ele aponta que populações naturais da espécie contêm uma alta frequência de inversões heterozigotas no terceiro cromossomo, enquanto que no segundo e no cromossomo sexual são raras. Este autor salienta que

inversões no cromossomo X de *D. nebulosa* estão associadas ao fenômeno “sex-ratio” e as inversões no cromossomo II devem ser encontradas em poucas áreas da distribuição geográfica da espécie. De acordo com Richard et al. (2005), a seleção pode favorecer inversões porque mantêm combinações epistáticas dentro do segmento invertido, ou a seleção pode favorecer rearranjos que reorganizam genes em grupos de genes expressos coordenadamente.

Finalmente, o fotomapa aqui apresentado corresponde a uma etapa importante para estudos futuros de evolução e de citogenômica, permitindo ampliar a análise dos conteúdos gênicos de espécies do grupo *willistoni* (subgrupos *willistoni* e *bocainensis*) de *Drosophila*, como em Rohde et al. (2006) para o braço IIR do o subgrupo *willistoni* e o de Pita et al., 2014, para o elemento F de Muller nos dois subgrupos. Além disso, *D. nebulosa* pode a partir de agora ser utilizada para o estudo do envolvimento de Elementos Transponíveis na origem dos pontos de quebras das inversões (Cáceres et al., 1999; Guillén & Ruiz, 2012).

---

## **Agradecimentos**

Agradecemos aos coletores das populações naturais originais, o que ajudou a enriquecer o trabalho, e ao apoio FAPERGS, CAPES, CNPq e PROPESQ-UFRGS pelas bolsas e auxílios.

## *Padrões éticos*

Os experimentos nesta pesquisa cumprem as leis estaduais aplicáveis.

## *Conflito de interesses*

As autoras Berrutti P., Garcia C. e V. L.S. Valente declaram que não há conflitos de interesse.

Todas as diretrizes institucionais e nacionais para o cuidado e uso de animais de laboratório foram seguidas.

### **Referências Bibliográficas**

Adam MD, Celniker SE, Holt RA, Evans CA, Gocayni JD, Amanatides PG et al. (2000) The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science* 287: 2185-2195.

Anderson WW, Arnold J, Baldwin DG, Beckenbach AT, Brown CJ, et al. (1991) Four decades of inversion polymorphism in *Drosophila pseudoobscura*. *PNAS* 88 (22): 10367- 10371.

Ashburner M (1989) *Drosophila: A laboratory handbook*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York.

Aulard S, David JR and Lemeunier F (2002) Chromosomal inversion polymorphism in Afrotropical populations of *Drosophila melanogaster*. *Genet Res* 79(1):49-63.

Bächli G. (2014) Internet references. Retrieved from <http://www.taxodros.unizh.ch/>

Bonorino CBC, Valente VLS, Callegari-Jacques SM (1993a) Urbanization and chromosomal polymorphism of *Drosophila nebulosa*. *Revista Brasileira de Genética* 16,1: 59-70.

Bonorino CBC, Pereira M, Alonso CEV, Valente VLS, Abdelhay E (1993b) *In situ* mapping of the *Hsp 70* locus in seven species of the *willistoni* group of *Drosophila*. *Revista Brasileira de Genética*, 165: 561-571.

Cáceres M, Ranz JM, Barbadilla A, Long M, Ruiz A (1999) Generation of a widespread *Drosophila* inversion by a transposable element. *Science* 16;285(5426):415-8.

Da Cunha AB, Brncic D, Salzano FM (1953) A comparative study of chromosomal polymorphisms in certain South American species of *Drosophila*. *Heredity* 7 (2): 193-202.

*Drosophila* species Stock Center. References. Retrieved from <  
<https://stockcenter.ucsd.edu>>

*Drosophila* 12 Genomes Consortium (2007) Evolution of genes and genomes on the *Drosophila* phylogeny. *Nature* 450: 203-218.

Guillén Y, Ruiz A (2012) Gene alterations at *Drosophila* inversion breakpoints provide prima facie evidence for natural selection as an explanation for rapid chromosomal evolution. *BMC Genomics* 13:53. doi: 10.1186/1471-2164-13-53.

Griffiths AJF, Suzuki DT, Miller JH, Lewontin RC and Gelbart WM (2002) *An Introduction to Genetics Analysis*. 7th. W.H. Freeman and Company, New York, pp 492-520.

Schmitz HJ (2010) *Genética, ecologia e evolução de drosofilídeos (Insecta, Diptera) associados a flores*. Tese (Doutorado) UFRGS 190 p. nº de sistema: 000752001. Retrieved from <<http://sabi.ufrgs.br/>>

Marques EK, Napp M, Winge H, Cordeiro AR (1966) A corn meal, soybean flour, wheat germ medium for *Drosophila*. *Dros Inf Serv* 31: 187.

Muller HJ (1940) Bearings of the *Drosophila* work on systematics. In: Huxley J (ed) *The new systematics*. Oxford University Press, pp 185-268

Navarro A, Barton NH (2003) Accumulation postzygotic isolation genes in parapatry: A new twist on chromosomal speciation. *Evol Int J Org Evol* 57: 447-459.

Noor MA, Grams KL, Bertucci LA, Reiland J (2001) Chromosomal inversions and the reproductive isolation of species. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 12084-12088.

Pavan C (1946) Chromosomal variation in *Drosophila nebulosa*. *Genetics* 31: 546-557.

Pita S, Panzera Y, Valente VLS, de Melo Zd, Garcia C, Garcia AC, Montes MA, Rohde C (2014) Cytogenetic mapping of the Muller F element genes in *Drosophila willistoni* group. *Genetica*. 142(5):397-403. doi: 10.1007/s10709-014-9784-3.

Powell JR (1997) Population Genetics: Inversions. In: Progress and prospects in evolutionary biology: the *Drosophila* model. Oxford University, New York, pp 48-80.

Regner LP, Bonorino CBC, Valente VL (1991) Note on the chromosome arrangements of *Drosophila nebulosa*. *DIS* 70.

Regner LP, Pereira MSO, Alonso CEV, Abdelhay E, Valente VLS (1996) Genomic distribution of *P* elements in *Drosophila willistoni* and a search for their relationship with inversions. *The Journal of Heredity* 87: 191-198.

Regner LP, Abdelhay E, Rohde C, Rodrigues JJS, Valente VLS (1999) Temperature-dependent gonadal hybrid dysgenesis in *Drosophila willistoni*. *Genetics and Molecular Biology* 22 (2): 205-211.

Richards S, Liu Y, Bettencourt BR, Hradecky P, Letovsky S, Nielsen R, et al (2005) Comparative genome sequencing of *Drosophila pseudoobscura*: Chromosomal, gene, and cis-element evolution. *Genome Res* 15: 1-18.

Rohde C, Pinto JRH, Valiati VH, Valente VLS (1994) Localization of the *Cu/Zn Superoxide dismutase* gene in the *Drosophila willistoni* species group by *in situ* hybridization. *Cytobios*, Cambridge 80: 193-198.

Rohde C, Abdelhay E, Pinto JRH, Schrank, A, Valente VLS (1995) Analysis and *in situ* mapping of the *Adh* locus in species of the willistoni group of *Drosophila*. *Cytobios*, Cambridge 81: 37-47.

Rohde C, Garcia ACL, Valiati VH, Valente VLS (2006) Chromosomal evolution of sibling species of the *willistoni* group of *Drosophila* I. Chromosomal arm IIR (Muler's elements B). *Genetica* 126: 77-88.



Rohde C, Valente VLS (2012) Three decades of studies on chromosomal polymorphism of *Drosophila willistoni* and description of fifty different rearrangements. *Genetics and Molecular Biology* 35(4): 966-979.

Salceda VM (2005) Inversion polymorphism in a natural populations of *Drosophila nebulosa*. A ten years record. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21 (Supl. 1): 31-34.

Schaeffer SW, Bhutkar A, McAllister BF, Matsuda M, Matzkin LM, O'Grady PM, et al (2008) Polytene chromosomal maps of 11 *Drosophila* species: the order of genomic scaffolds inferred from genetic and physical maps. *Genetics* 179(3): 1601-55

Valente VLS, Bonorino CBC, Goñi B (1996) Short communication: photomap of *Drosophila nebulosa* Sturtevant with description of a new inversion in populations from Uruguay. *Revista Brasileira de Genética*, 19,1: 93-96.

Valente VLS, Rohde C, Valiati VH, Morales NB, Goñi B (2001) Chromosomal inversions occurring in Uruguayan population of *Drosophila willistoni*. *Dros Inf Serv* 84: 55-59.

Valente VLS, Goñi B, Valiati VH, Rohde C, Morales NB (2003) Chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* populations from Uruguay. *Genetics and Molecular Biology* 26: 163-173.

Valente VLS, Rusczyk A, Santos RA (1993) Chromosomal polymorphism in urban *Drosophila willistoni*. *Revista Brasileira de Genética* 16: 307-319.

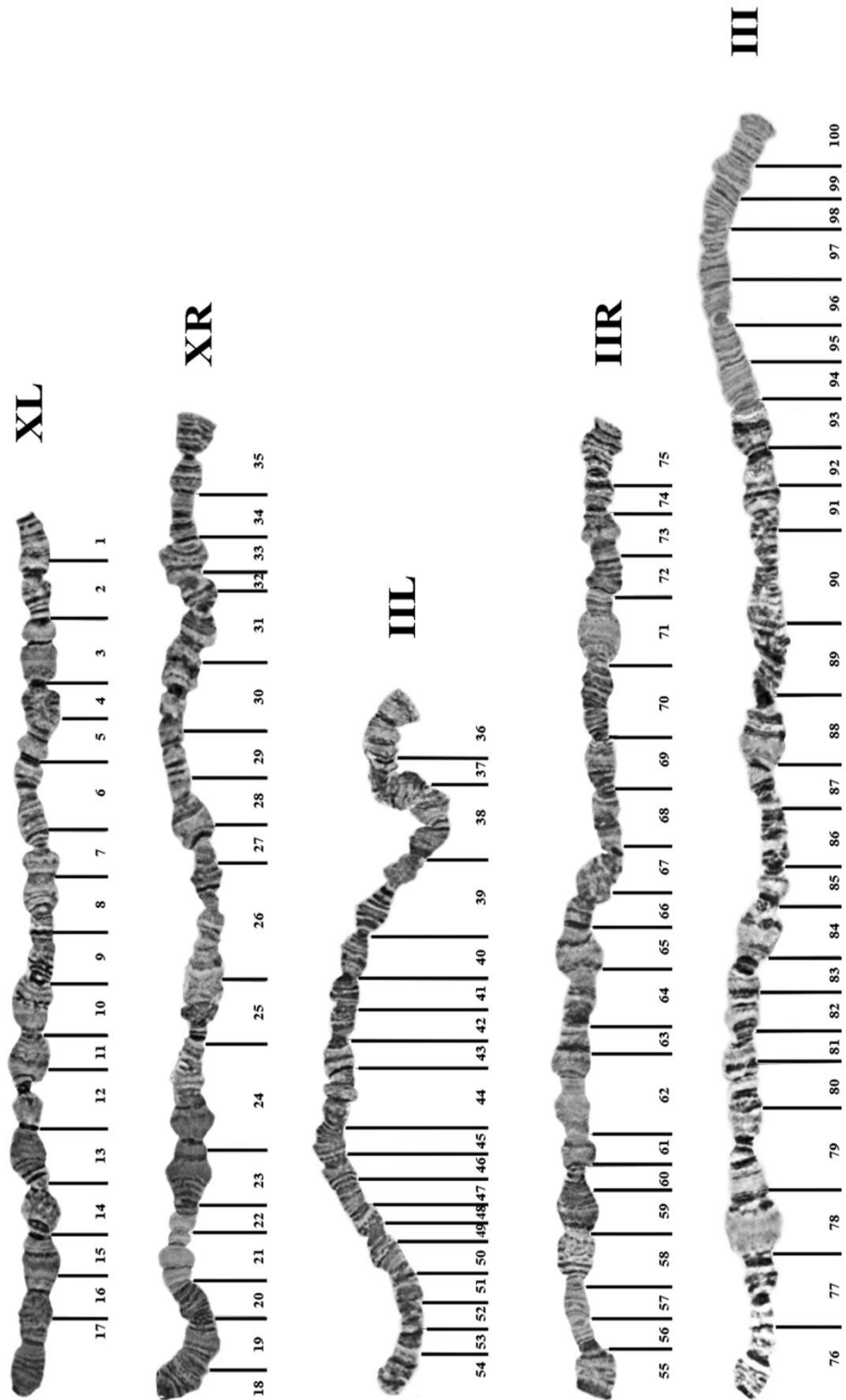


Fig1. Fotomapa aprimorado dos cromossomos politênicos de *Drosophila nebulosa* a partir da linhagem MLC (Morro da Lagoa da Conceição/Florianópolis/SC). As determinação das seções do 1 ao 100 nos cromossomos seguem os estudos feitos por Pavan (1946) e Valente et al. (1996).

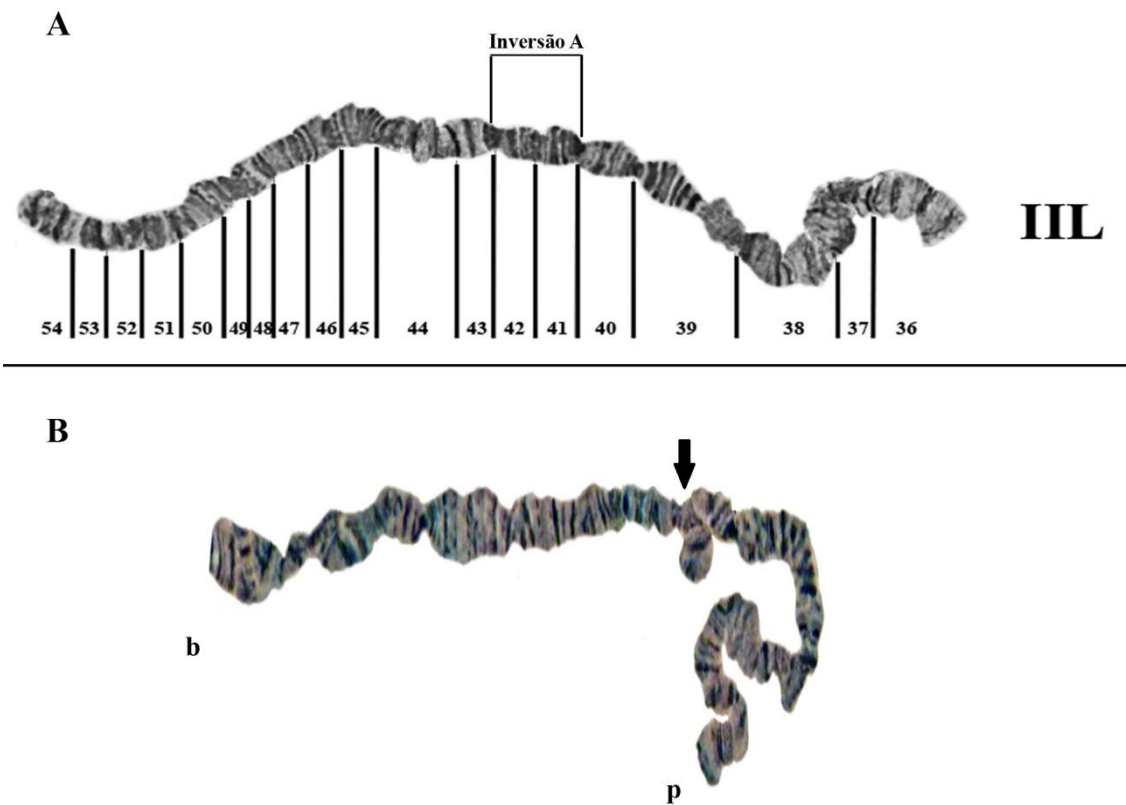


Fig2. Fotomapa do braço esquerdo do cromossomo II e indicação dos pontos de quebra da inversão encontrada (A) com característica da inversão heterozigota encontrada no braço cromossômico IIL de *Drosophila nebulosa* no presente trabalho (B). Seta aponta inversão paracêntrica IIL-A envolvendo as seções 41 e 42. p = ponta e b = base.

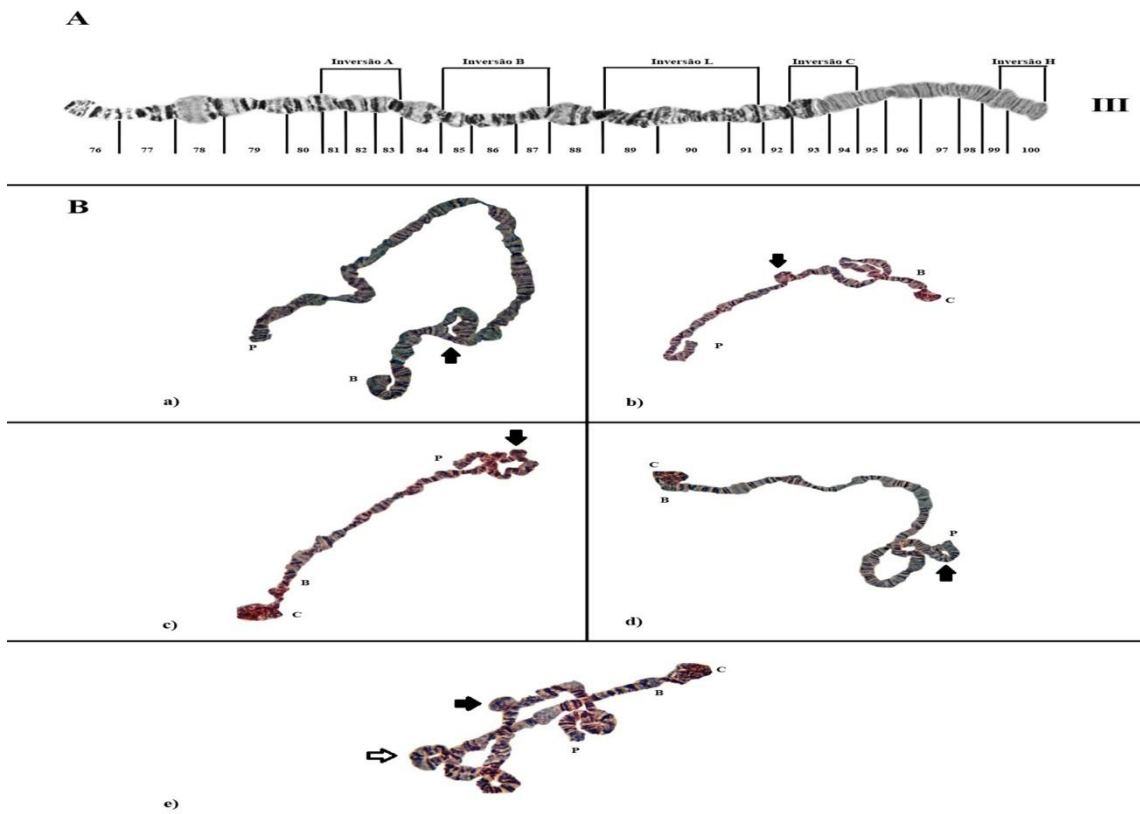


Fig3. Fotomapa do cromossomo III e indicação dos pontos de quebra das inversões encontradas no presente trabalho (A) com as características das inversões paracêntricas heterozigotas encontradas no cromossomo politênico III de *Drosophila nebulosa* no presente trabalho (B). Seta aponta inversões: a) III-A b) III-B c) III-C d) III-H e) III-L (III-A seta vazia). c = centrômero b = base p = ponta.

Tab1. Populações analisadas de *Drosophila nebulosa*.

<b>Sigla</b>	<b>Local de Coleta</b>	<b>Coletor, ano</b>
<b>JBO</b>	<b>Jardim Botânico - Porto Alegre, RS</b>	<b>Carolina Flores Garcia, 2008</b>
<b>SM/RS</b>	<b>Santa Maria, RS</b>	<b>Nina Roth Motta, 2008</b>
<b>MLC</b>	<b>Morro da Lagoa da Conceição - Florianópolis, SC</b>	<b>Carolina Flores Garcia, Hermes Schmitz e Juliana Cordeiro, 2007</b>
<b>UFPE I</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE</b>	<b>José Ferreira dos Santos, 2009</b>
<b>UFPE II</b>	<b>Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE</b>	<b>José Ferreira dos Santos, 2009</b>
<b>04</b>	<b>Tingo Maria, Peru</b>	<b>Desconhecido, 1955 (Tucson Stock Center)</b>

Tab2. Frequência das inversões heterozigotas (N= número amostral) em *Drosophila nebulosa* – Fase I.

POPULAÇÃO	N	INVERSÃO					
		III-A	III-B	III-C	III-H	III-L	
JBO	10	0	2	0	0	3	0
SM/RS	10	0	2	0	0	2	0
MLC	10	0	0	0	0	0	0
UFPE I	10	1	4	0	3	0	0
UFPE II	10	0	1	1	7	0	1

Tab3. Frequência de inversões heterozigotas (N = número amostral) em populações de *Drosophila nebulosa* – Fase II.

CRUZAMENTOS	N	INVERSÃO				
		III-A	III-B	III-C	III-H	III-L
MLC X JBO	3	1	1	1	0	0
MLC X SM/RS	3	0	1	1	1	0
MLC X UFPE I	3	0	1	0	0	0
MLC X UFPE II	3	0	1	0	0	1
MLC X 04	3	0	1	0	0	0

Tab4. Revisão de todas as inversões cromossômicas, apresentadas em forma de presença (+) ou ausência (-), descritas até o momento para *Drosophila nebulosa*.

Autor	Local	Cromossomo															
		X	III											II			
			XL-A	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	IIR-A
Pavan, 1946	Del Rio, Texas	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	Belém, Pará	-	+	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	Prata, SP	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Iporanga, SP	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Ilhabella, SP	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Bertioga, SP	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	S. Jose dos Campos, SP	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	Santos, SP	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Da Cunha <i>et al.</i> , 1953	Mucajaí, RR	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-
	Rio Negro, PR	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	Imper. Carolina, MA	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
	Salitre, CE (1949)	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Salitre, CE (1951)	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Catuní, BA	-	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	Monjolinho, SP	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Pirassununga, SP	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Regner <i>et al.</i> , 1991	Iguassu, PR	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
	Tucuman, Argentina	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Bonorino <i>et al.</i> , 1993a	Porto Alegre, RS	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
	Eldorado, RS	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
	Mário Totta, Porto Alegre, RS	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
	Deoclécio Pereira, Porto Alegre, RS	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
	Pinheiro Machado, Porto Alegre, RS	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-
	Cel. Bordini, Porto Alegre, RS	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
	Av. Goethe, Porto Alegre, RS	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-
	Maurício Cardoso, Porto Alegre, RS	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-
	Piratini, Porto Alegre, RS	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Parque Farroupilha, Porto Alegre, RS	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-



