

## Biologia de anofelinós amazônicos.

### VII. Estudo da variação de freqüências das inversões cromossômicas de *Anopheles darlingi* Root (Diptera, Culicidae) (1)

Wanderli Pedro Tadei (2)

Joselita Maria Mendes dos Santos (3)

#### Resumo

Três amostras de populações naturais de *Anopheles darlingi* foram analisadas quanto às freqüências das inversões, cujas coletas foram obtidas no Km 175 da Rodovia BR-174 (Manaus/Boa Vista). Duas amostras foram coletadas durante o período da estação chuvosa e a terceira no período da estação seca. Os resultados evidenciaram o caráter altamente polimórfico das populações de *A. darlingi* da Amazônia e também modificações das variantes genéticas, no decorrer das amostragens. Ocorreram variações, em diferentes níveis, nas freqüências das inversões dos três pares de cromossomos e quanto às freqüências de três regiões de despareamento, sendo uma no cromossomo X e duas no cromossomo 2. Foram realizados testes de associação de inversões intra e intercromossômicas e a comparação dos resultados de cada teste, nas três amostras simultaneamente, evidenciou que uma mesma associação não está presente em duas ou três amostras ao mesmo tempo. Essas modificações, ocorridas nos diferentes períodos, foram interpretadas como decorrentes da reestruturação da composição genética das populações, face às alterações ambientais. Altas freqüências de heterozigotos, com valores próximos ou acima de 50%, foram observadas para a maioria das inversões, porém em níveis diferentes conforme a inversão e o período de amostragem considerados. O número médio de inversões, por indivíduo, no estado heterozigoto, também se modificou no decorrer dos períodos, sendo os maiores valores registrados durante a estação chuvosa. Esses resultados foram discutidos considerando-se a heterogeneidade das florestas amazônicas e a estratégia adaptativa da espécie. Também é discutida a hipótese de que a constituição cariotípica dos espécimes poderia interferir nos parâmetros da capacidade vetorial da espécie.

#### INTRODUÇÃO

O subgênero *Nyssorhynchus* do gênero *Anopheles* (Diptera, Culicidae) inclui espécies predominantemente neotrópicas que consti-

tuem os mais importantes vetores da malária humana no Novo Mundo. Pelo menos doze espécies desse subgênero já foram analisadas, do ponto de vista citológico, e estudos comparativos em cromossomos politênicos evidenciaram a ocorrência de rearranjos no cromossomo X e nos autossomos, em níveis diferentes, conforme a espécie considerada. Em todas as espécies, até o momento estudadas, o cromossomo X apresentou um padrão característico de bandas. Os autossomos apresentaram os rearranjos localizados nas regiões centrais de cada braço, decorrentes freqüentemente de inversões paracêntricas, e são muito semelhantes quanto aos padrões de bandas nas extremidades distais e nas regiões centroméricas (Kitzmilller, 1970, 1976, 1977).

*Anopheles darlingi*, principal vetor da malária humana no Brasil, ocorre desde o sul do México ao norte da Argentina (Forattini, 1962; Ferreira, 1964). Estudos do polimorfismo cromossômico, realizados por Kreutzer *et al.* (1972) e Tadei *et al.* (1982), evidenciaram que a espécie apresenta elevado polimorfismo em populações da região Amazônica, sendo descritas 11 inversões independentes e um arranjo complexo de duas inversões superpostas. Análises comparativas dos padrões de bandas dos cromossomos salivares de *A. darlingi* e *Anopheles argyritarsis* mostraram níveis altamente semelhantes nas duas espécies, e que este padrão é gradativamente menos semelhante em relação à *Anopheles aquasalis* e à *Anopheles nuneztovari*, respectivamente. No entanto, homologia acentuada foi observada entre as espécies quanto às extremidades dis-

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

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

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

tais e regiões centroméricas dos autossomos (Kreutzer *et al.*, 1972, 1975).

Dados sobre o polimorfismo enzimático de *A. darlingi* evidenciaram, em relação às esterases, variação geográfica quanto à duas regiões principais de atividade, denominadas Est. 1 e Est. 2, sendo a primeira monomórfica em três populações analisadas — BR-174(AM), Ariquemes (Ro), PA-422(Pa); e a segunda polimórfica nas duas primeiras. Os dados de esterase possibilitaram também uma estimativa do número de machos que se acasalam com uma fêmea, usando-se como parâmetro as frequências de dois alelos entre os descendentes de uma mesma postura (Santos, 1979; Santos *et al.*, 1981; Contel; Santos & Tadei, não publicado). Narang *et al.*, (1979) estudaram 19 *loci* e verificaram que o número de *loci* polimórficos é 0,632 e que a proporção de indivíduos heterozigotos por *loci* é de 0,125.

Neste trabalho, foi analisada uma população de *A. darlingi* da Amazônia com o objetivo de obter dados adicionais sobre a variabilidade cromossômica de populações naturais, e de se verificar a ocorrência de possíveis modificações estacionais nas frequências das inversões, dessa espécie.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas três amostras de uma população de *Anopheles darlingi*, coletadas no Km 175 da Rodovia BR-174 (Manaus/Boa Vista). Duas delas foram obtidas no ano de 1980, durante os meses de fevereiro/março (f/m) e junho/julho (j/j), e a terceira em 1981, no mês de novembro (nov). Em relação às duas amostras de 1980, a primeira foi coletada durante a estação chuvosa, nos meses em que as precipitações pluviométricas são mais intensas, e a segunda, já no período da estação seca, predominantemente em julho. A amostra de 1981 foi obtida no início da estação chuvosa. Durante o período final do ano de 1980 não foi possível coletar novas amostras para análise cromossômica, devido às intensas chuvas que impossibilitaram as coletas, além de as populações de anofelinos apresentarem densidade muito baixa.

A região da BR-174 já foi objeto de estudos quanto a aspectos entomológicos e epidemiológicos por Ferraroni *et al.* (1977) Hayes & Charlwood (1977, 1980), Ferraroni & Hayes (1979) e Charlwood (1980). O desmatamento nas proximidades do local de coletas é relativamente recente (1974-1975) e os casos de malária registrados ao longo da BR-174 resultam de infecções por *Plasmodium vivax* e *P. falciparum*.

Para obtenção das amostras, o seguinte procedimento foi empregado nas coletas dos adultos. As fêmeas foram capturadas no período noturno, quando pousavam nas pessoas para se alimentar. Os espécimes, após a sua localização, eram coletados com um aspirador e, em seguida, transferidos para uma gaiola, na qual eram alimentados com auxílio de uma ave (*Gallus gallus*, Galliformes).

Em seguida à alimentação, as fêmeas capturadas foram transportadas para o laboratório e isoladas para a postura individual. As desovas, após a eclosão, foram mantidas até as larvas atingirem o quarto estágio e então utilizadas no preparo das lâminas dos cromossomos das glândulas salivares. De cada desova foram feitas, em média, quatro lâminas. Foi empregada a técnica de French *et al.* (1962), mas as preparações não foram permanentes e as lâminas foram guardadas a -20°C, até o momento da análise.

#### RESULTADOS

A amostra de fevereiro/março de 1980 constituiu-se de 79 indivíduos, descendentes de 22 fêmeas, e a de junho/julho, de 73 indivíduos, descendentes de 26 fêmeas. Da amostra de novembro de 1981, constituída por 12 fêmeas, foram estudados 40 descendentes.

A análise cromossômica foi realizada reconhecendo-se os heterozigotos para as diferentes inversões e os homocigotos. Dentre estes últimos, não foram diferenciados os homocigotos para o arranjo padrão e os homocigotos para o arranjo das inversões. Desta forma, os resultados foram analisados comparando-se as variações das duas classes, porém ressaltando-se as modificações relativas aos heterozigotos.

Na tabela 1 constam as freqüências das inversões dos três pares de cromossomos, no estado homozigoto e heterozigoto, nas três amostragens, e na tabela 2 os valores de qui-quadrado da comparação entre as freqüências. Observa-se que é possível classificar as inversões, com base em suas freqüências, em dois grupos, sendo o primeiro composto pelas inversões que mantêm praticamente inalteradas suas freqüências, nas três amostragens, e o segundo constituído pelas inversões que apresentam alterações nas freqüências, as quais podem ou não ser estatisticamente significativas. No primeiro grupo estão incluídas as inversões 3Ra e 3Lb, cujas variações não excederam 9 e 4 unidades percentuais, respectivamente. As demais inversões, exceto 2Ra, estão incluídas no segundo grupo e variações não significativas foram observadas para as inversões 2Lb e 3La. A inversão 2Rb, embora apresente também variações não significativas, o valor de qui-quadrado da comparação das amostras de fevereiro/março e junho/julho está próximo do limite de significância ( $X^2_1 = 3,296$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ). Nos casos em que as variações foram significativas, elas envolveram o cromossomo X, e os braços 2R e 3R. As inversões incluídas nestes casos são: Xa, 2Rc, 2Rd, 3Rb e 3Rc. Exceto a inversão 2Rd, todas as modificações foram significativas nas comparações das amostras de fevereiro/março e junho/julho de 1980 com a de novembro de 1981.

Além dos dois grupos acima mencionados, pode-se ainda destacar um terceiro, no qual estariam incluídos os arranjos raros, representado, neste caso, pela inversão 2Ra, cujas freqüências foram reduzidas em todas as amostras. O qui-quadrado (tabela 2) não foi calculado nas comparações, pois ocorreram freqüências esperadas abaixo de 5.

Assim, com base nas observações anteriores, verifica-se que as freqüências de heterozigotos, nas três amostragens, permaneceram relativamente estáveis ou se modificaram, dependendo dos arranjos considerados. Comportamento uniforme foi verificado para as inversões localizadas no cromossomo X e no braço 2R. Para as inversões desses cromossomos (Xa, 2Rb, 2Rc e 2Rd) ocorreu redução das freqüências da primeira para a segunda

amostragem e aumento da segunda para a terceira. As freqüências permaneceram praticamente estáveis para as inversões 3Ra e 3Lb. Ocorreram aumentos e reduções gradativos e seqüenciais, nas três amostragens, respectivamente para as inversões 3Rb-3Rc e 2Lb-3La. Contudo, 3Rc sofreu uma pequena redução (2 unidades percentuais) de fevereiro/março para junho/julho de 1980.

As inversões apresentaram diferentes freqüências de heterozigotos, em cada amostragem, apesar de terem o mesmo comportamento quanto aos aumentos e reduções entre uma amostra e a seguinte. As inversões 2Rb e 2Rc apresentaram as mesmas freqüências (48%) na amostra de junho/julho de 1980 e freqüências diferentes na amostra de novembro de 1981 (63% e 81%, respectivamente). A inversão 3Ra ocorreu, nas três amostragens, em níveis que são praticamente o dobro de 3Lb (38%-47%-40% e 19%-20%-23%, respectivamente). As inversões 3Rb e 3Rc foram arranjos relativamente raros nas duas primeiras amostragens e atingiram freqüências elevadas na terceira, alcançando os níveis de 3Ra.

As freqüências das inversões, obtidas nas duas amostragens de 1980 e em 1981, foram comparadas com as freqüências verificadas para a amostra coletada no km 137, em outubro/novembro de 1978, (Tadei *et al.*, 1982), e os resultados constam da tabela 3. Excetuando-se o braço cromossômico 2L (inversão 2Lb) e a inversão 3Ra, as demais apresentaram diferenças significativas, em pelo menos uma ou duas das comparações, ou o valor de qui-quadrado esteve próximo do limite de significância. Os valores de qui-quadrado foram altamente significativos para as inversões Xa (combinação 76 x nov), 2Rc (combinações 76 x f/m e 76 x j/j), 2Rd (combinações 76 x f/m e 76 x nov) e 3Rb (combinações 76 x f/m e 76 x j/j) e esteve próximo do limite de significância para as inversões Xa, na comparação 76 x fevereiro/março-1980 ( $X^2_1 = 3,166$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ); 3Rb — combinação 76 x novembro-1981 ( $X^2_1 = 3,111$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ); 3Rc — combinação 76 x novembro-1981 ( $X^2_1 = 3,139$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ); e 3Lb, nas combinações 76 x fevereiro/março e junho/julho de 1980 ( $X^2_1 = 3,373$  e  $3,003$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ; respectivamente).

TABELA 1 — Frequências das inversões dos três pares de cromossomos nas amostras de fevereiro/março (f/m) e junho/julho (j/j) de 1980 e novembro (nov) de 1981. ( . ) = percentagens.

Cromosomo	Amostra	Número de larvas analisadas				Homozigotos inversão				Heterozigotos inversão			
		a	b	c	d	a	b	c	d	a	b	c	d
X	f/m	62	—	—	—	38( 61 )	—	—	—	24(39)	—	—	—
	j/j	43	—	—	—	34( 79 )	—	—	—	9(21)	—	—	—
	nov	27	—	—	—	9( 33 )	—	—	—	18(67)	—	—	—
2R	f/m	74	68	66	65	72( 97 )	25(37)	30(45)	34(52)	2( 3 )	43(63)	36(55)	31(48)
	j/j	69	69	65	66	69(100)	36(52)	34(52)	54(82)	0( 0 )	33(48)	31(48)	12(18)
	nov	40	38	37	38	39( 98 )	14(37)	7(19)	16(42)	1( 2 )	24(63)	30(81)	22(58)
2L	f/m	—	76	—	—	—	26(34)	—	—	—	50(66)	—	—
	j/j	—	72	—	—	—	26(36)	—	—	—	46(64)	—	—
	nov	—	39	—	—	—	19(49)	—	—	—	20(51)	—	—
3R	f/m	74	69	69	—	46( 62 )	63(91)	59(85)	—	28(38)	6( 9 )	10(15)	—
	j/j	73	71	71	—	39( 53 )	59(83)	62(87)	—	34(47)	12(17)	9(13)	—
	nov	38	38	37	—	23( 60 )	24(63)	23(62)	—	15(40)	14(37)	14(38)	—
3L	f/m	79	72	—	—	42( 53 )	58(81)	—	—	37(47)	14(19)	—	—
	j/j	72	70	—	—	42( 58 )	56(80)	—	—	30(42)	14(20)	—	—
	nov	39	39	—	—	27( 69 )	30(77)	—	—	12(31)	9(23)	—	—

TABELA 2 — Valores de qui-quadrado da comparação entre as freqüências das inversões dos três pares de cromossomos das amostras de fevereiro/março (f/m) e junho/julho (j/j) de 1980 e novembro (nov) de 1981.

Cromosomo	Amostras	Inversão			
		a	b	c	d
X	f/m x j/j	3,726	—	—	—
	f/m x nov	5,903*	—	—	—
	j/j x nov	14,660***	—	—	—
2R	f/m x j/j	+	3,296	0,613	12,923***
	f/m x nov	+	0,016	7,250**	1,002
	j/j x nov	+	2,318	10,928***	17,296***
2L	f/m x j/j	—	0,058	—	—
	f/m x nov	—	2,278	—	—
	j/j x nov	—	1,669	—	—
3R	f/m x j/j	1,150	2,101	0,100	—
	f/m x nov	0,028	12,786***	7,486**	—
	j/j x nov	0,514	5,429*	9,187***	—
3L	f/m x j/j	0,409	0,007	—	—
	f/m x nov	2,782	0,204	—	—
	j/j x nov	1,280	0,142	—	—

\* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,005$ ; + = qui-quadrado não calculado; gl = 1.

TABELA 3 — Valores de qui quadrado da comparação entre as freqüências das inversões dos três pares de cromossomos das amostras de 1980 (fevereiro/março-f/m e junho/julho-j/j) e de 1981 (novembro-nov) com a amostra de 1976.

Cromosomo	Amostras	Inversão			
		a	b	c	d
X	76 x f/m	3,166	—	—	—
	76 x j/j	0,314	—	—	—
	76 x nov	15,362	—	—	—
2R	76 x f/m	+	0,00001	17,414***	12,310***
	76 x j/j	+	3,933*	24,938***	0,346
	76 x nov	+	0,0001	0,146	16,751***
2L	76 x f/m	—	0,100	—	—
	76 x j/j	—	0,002	—	—
	76 x nov	—	1,850	—	—
3R	76 x f/m	1,772	35,346***	1,607	—
	76 x j/j	0,025	23,092***	2,555	—
	76 x nov	0,780	3,111	3,139	—
3L	76 x f/m	2,967	3,373	—	—
	76 x j/j	5,543*	3,003	—	—
	76 x nov	9,517***	1,071	—	—

\* =  $P < 0,05$ ; \*\*\* =  $P < 0,005$ ; + = qui-quadrado não calculado; gl = 1.

Considerando os casos em que o qui-quadrado foi significativo e quando esteve próximo do limite de significância (tabela 3), verifica-se que as inversões apresentam diferentes frequências nas duas localidades, sendo possível identificar, dentre as 11 inversões, aquelas que diferem nas três comparações ou em menos, e neste caso em comparações diferentes, e aquelas que não diferem em nenhuma das comparações. Para Xa e 2Rd observou-se que as comparações 76 x f/m e 76 x nov foram significativas ou estiveram próximas do limite; no entanto, para 2Rc e 3Lb, foram as combinações 76 x f/m e 76 x j/j. Para 3Rb, as três combinações estão nas condições acima mencionadas e para 3La as duas últimas, ou seja, 76 x j/j e 76 x nov. Apenas uma combinação foi significativa ou esteve próxima do limite de significância no caso das inversões 2Rb e 3Rc (combinações 76 x j/j e 76 x nov, respectivamente). As inversões 2Lb e 3Ra não apresentaram combinações significativas. Pelas razões já expostas, também neste caso o qui-quadrado não foi calculado para 2Ra.

Em relação à tabela 1, pode-se destacar ainda as inversões que apresentaram as frequências de heterozigotos em percentagens acima de 50%. Observa-se que arranjos, nestas condições, ocorreram no cromossomo X e no cromossomo 2. No caso do primeiro cromossomo, a inversão Xa foi registrada na terceira amostragem (67%) e no caso do segundo, no braço 2R, as inversões 2Rb e 2Rc foram registradas na primeira e na terceira amostragens, sendo que 2Rb ocorreu no mesmo nível nas duas (63% e 55%-81%, respectivamente); 2Rd ocorreu apenas na terceira (58%). Quanto ao braço 2L, a inversão 2Lb foi registrada nas três amostragens (na seqüência, 66%-64%-51%).

Incluindo também nas observações das frequências de heterozigotos a amostra de outubro/novembro de 1976 do Km 137, verifica-se que novamente o cromossomo 2 apresenta arranjos nestas condições; porém, nesta localidade, também o cromossomo 3 apresentou valores acima de 50%. As inversões 2Rb, 2Rc e 2Lb foram observadas nas frequências 63%, 84% e 63%, respectivamente, e as inversões 3Rb e 3La nas frequências 54% e 60% (Tadei *et al.*, 1982).

Diferenças entre os cromossomos, em relação aos índices de heterozigotos, podem ser observadas quando as três amostragens da tabela 1 são consideradas conjuntamente. Verifica-se que para os cromossomos X e 2, os menores índices estão concentrados na amostra de junho/julho de 1980, excetuando-se as inversões 2Ra e 2Lb. Para o cromossomo 3, os índices observados são, de modo geral, mais baixos em relação ao cromossomo 2 e ocorreram nas amostras de fevereiro/março e junho/julho de 1980. Não estão incluídas, nessa observação, as inversões 3Ra e 3La.

Na tabela 4 constam os resultados das comparações entre as médias de inversões por indivíduo, no estado heterozigoto, obtidas para as três amostras de 1980 e 1981 do Km 175, e para a amostra de outubro/novembro de 1976, obtida no Km 137. Observa-se que para o Km 175, a média de junho/julho de 1980 foi o menor valor obtido ( $3,20 \pm 0,22$ ) em comparação com as médias de fevereiro/março-1980 ( $3,76 \pm 0,20$ ) e novembro-1981 ( $4,45 \pm 0,34$ ). Valor médio também elevado foi observado para a amostra de 1976, do Km 137 ( $4,13 \pm 0,13$ ). As comparações entre as médias de 1980 e 1981 possibilitam verificar que a redução entre fevereiro/março e junho/julho de 1980 não foi estatisticamente significativa ( $t = 1,892$ ;  $P > 0,05$ ; 120 graus de liberdade), porém o aumento entre junho/julho e novembro/1981 apresentou valor significativo ( $t = 3,197$ ;  $P < 0,01$ ; 97 graus de liberdade). Valor não significativo também foi observado na comparação entre fevereiro/março-1980 e novembro/1981 ( $t = 1,875$ ;  $P > 0,05$ ; 101 graus de liberdade). Comparando-se as médias observadas nas duas localidades, verificou-se diferença altamente significativa na combinação 76 x junho/julho-1980 ( $t = 4,628$ ;  $P < 0,001$ ; 175 graus de liberdade).

Testes de associação de inversões foram realizadas para cada uma das três amostragens, considerando-se as 11 inversões dos três pares de cromossomos. Para análise, foi empregado o mesmo procedimento descrito em Tadei *et al.*, (1982) e os testes foram realizados comparando-se os homozigotos e os heterozigotos. Nos primeiros, estão reunidas as frequências do segmento cromossômico da inversão e/ou do arranjo padrão. Desta forma, duas classes

TABELA 4 — Valores de t da comparação entre as médias ( $\bar{x} \pm S\bar{x}$ ) de inversões por indivíduo, no estado heterozigoto, observadas na amostra do Km 137 (1976) e nas três amostras do Km 175 (fevereiro/março-f/m e junho/julho-j/j de 1980 e novembro-nov de 1981).

Amostra	$\bar{x} \pm S\bar{x}$	Combinação	gl	t
1976	4,13 $\pm$ 0,13	76 x f/m	179	1,588
f/m — 80	3,76 $\pm$ 0,20	76 x j/j	175	4,628***
j/j — 80	3,20 $\pm$ 0,22	76 x nov	156	1,049
nov — 81	4,45 $\pm$ 0,34	f/m x j/j	120	1,892
		f/m x nov	101	1,875
		j/j x nov	97	3,197**

\*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,001$ .

foram analisadas para cada inversão, sendo possível quatro combinações para cada teste e uma tabela de contingência 2 x 2 foi utilizada.

A análise envolveu testes intra e intercromossômicos, sendo que nos primeiros foram consideradas as inversões dentro de cada braço (tabela 5) e entre as inversões dos dois braços de cada cromossomo (tabela 6). Em relação à tabela 5, dez combinações foram possíveis em cada amostragem, totalizando 30 combinações. Para a amostra de fevereiro/março de 1980, o qui-quadrado foi calculado em quatro combinações, sendo significativo em duas (2Rc x 2Rd e 3La x 3Lb). As demais combinações, como apresentaram esperados abaixo de 5, o qui-quadrado não foi calculado, porém os valores observados e esperados são próximos, possibilitando inferir que não existem desvios significativos. Para a amostra de junho/julho de 1980, o qui-quadrado foi calculado em 50% das combinações possíveis e foi significativo em três (2Rb x 2Rc, 2Rc x 2Rd e 3Ra x 3Rb). Neste caso, também as combinações em que não foi calculado, a observação dos números permite verificar que não existem diferenças significativas. Na amostra de novembro de 1981, nos quatro casos em que o qui-quadrado foi calculado, o valor foi significativo para a combinação 3Rb x 3Rc e próximo da significância para a combinação 2Rb x 2Rd ( $X^2_1 = 3,297$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ). Para as outras seis combinações, o qui-quadrado não foi calculado e em três delas (2Ra x 2Rb, 2Ra x 2Rd, 2Rb x 2Rc) a observação dos números permite verificar que não existem des-

vios estatisticamente significativos. O mesmo porém não se estende às outras três combinações (2Ra x 2Rc, 2Rc x 2Rd, 3La x 3Lb), cujos dados não possibilitam conclusões. Em todas as combinações significativas das três amostras (seis no total) e a combinação 2Rb x 2Rd, na qual o valor de qui-quadrado esteve próximo da significância, observa-se que o desvio favorece o duplo heterozigoto e o duplo homozigoto, excetuando-se apenas a combinação 3La x 3Lb.

Na tabela 6 constam os resultados dos testes de associação envolvendo as inversões dos dois braços de cada cromossomo. Neste caso, também foram possíveis dez combinações para cada amostra, perfazendo 30 no total. O qui-quadrado foi calculado em 12 delas e foi significativo em três — 2Lb x 2Rd, 3Lb x 3Ra e 3Lb x 3Rb, todas as amostras de fevereiro/março de 1980 ( $X^2_1 = 5,360$ ,  $P < 0,05$ ; 4,661,  $P < 0,05$ ; 32,878,  $P < 0,005$ ; respectivamente). Valor próximo do limite da significância foi observado para a combinação 2Lb x 2Rd na amostra de novembro/1981 ( $X^2_1 = 3,407$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ). Considerando esses quatro casos, em todos eles o desvio favorece o duplo heterozigoto e o duplo homozigoto. Nas combinações em que o qui-quadrado não foi calculado, os valores observados e esperados são próximos em todas, com exceção da combinação 3Lb x 3Rc — amostra de junho/julho-1980. Nesta, a observação dos dados não permite conclusões.

Os resultados dos testes das associações intercromossômicas constam das tabelas 7 a 9, respectivamente para as amostras de feve-

reiro/março e junho/julho de 1980 e novembro/1981. Para cada amostra foram possíveis 35 combinações e os testes revelaram dois casos significativos em cada uma das amostras de 1980 e três na de novembro de 1981. Para as 35 combinações de fevereiro/março de 1980 (tabela 7), o qui-quadrado foi calculado em 17 e foi significativo em duas, sendo

uma combinação dos cromossomos X e 3 ( $X_a \times 3La - X^2_1 = 4,128; P < 0,05$ ) e outra dos cromossomos 2 e 3 ( $2Rd \times 3Ra - X^2_1 = 4,937; P < 0,05$ ). As 18 restantes, em que não foi calculado, os números observados e esperados são muito próximos e não apresentam diferenças significativas. Para a amostra de junho/julho de 1980 (tabela 8), as duas associações

TABELA 5 — Associação de inversões de cada braço cromossômico — freqüências observadas e esperadas e valores de qui-quadrado, respectivamente nas amostras de fevereiro/março e junho/julho de 1980 e novembro de 1981. homo = homocigoto; het = heterocigoto para inversão.

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	$X^2_1$
2	2Ra x 2Rb	70 obs	26	42	2	0	
		esp	27,20	40,80	0,80	1,20	+
		69 obs	36	33	0	0	
		esp	36,00	33,00	0,00	0,00	+
		38 obs	14	23	0	1	
		esp	13,63	23,37	0,37	0,63	+
	2Ra x 2Rc	67 obs	31	34	1	1	
		esp	31,04	33,96	0,96	1,04	+
		65 obs	35	30	0	0	
		esp	35,00	30,00	0,00	0,00	+
		37 obs	6	30	1	0	
		esp	6,81	29,19	0,19	0,81	+
	2Ra x 2Rd	66 obs	36	29	1	0	
		esp	36,44	28,56	0,56	0,44	+
		66 obs	46	20	0	0	
		esp	46,00	20,00	0,00	0,00	+
		38 obs	15	22	1	0	
		esp	15,58	21,42	0,42	0,58	+
	2Rb x 2Rc	66 obs	14	11	18	23	
		esp	12,12	12,88	19,88	21,12	0,911
		66 obs	24	11	11	20	
		esp	18,56	16,44	16,44	14,56	7,227**
		36 obs	3	10	4	19	
		esp	2,53	10,47	4,47	18,53	+
	2Rb x 2Rd	65 obs	12	12	24	17	
		esp	13,29	10,71	27,71	18,29	0,868
		65 obs	30	5	24	6	
		esp	29,10	5,90	24,92	5,08	0,366
36 obs		8	5	7	16		
esp		5,42	7,58	9,58	13,42	3,297	
2Rc x 2Rd	69 obs	29	5	8	27		
	esp	18,23	15,77	18,77	16,23	27,044***	
	65 obs	32	2	22	9		
	esp	28,25	5,75	25,75	5,25	6,168*	
	37 obs	7	0	8	22		
	esp	2,84	4,16	12,16	17,84	+	



TABELA 5 — (Continuação)

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup>	
3	3Ra x 3Rb	71 obs	42	3	23	3		
		esp	41,20	3,80	23,80	2,20	+	
		71 obs	34	3	25	9		
		esp	30,75	6,25	28,25	5,75	4,244*	
		36 obs	14	8	8	6		
		esp	13,44	8,56	8,56	5,44	0,154	
		3Ra x 3Rc	70 obs	37	7	23	3	
			esp	37,71	6,29	22,29	3,71	+
	73 obs		35	5	28	5		
	esp		34,52	5,48	28,48	4,52	+	
	36 obs		14	8	9	5		
	esp		14,06	7,94	8,94	5,06	0,002	
	3Rb x 3Rc		72 obs	57	9	5	1	
			esp	56,83	9,17	5,17	0,83	+
		71 obs	50	9	12	0		
		esp	51,52	7,48	10,48	1,52	+	
		36 obs	18	4	5	9		
		esp	14,06	7,94	8,94	5,06	7,864**	
		3La x 3Lb	73 obs	29	11	30	3	
			esp	32,33	7,67	23,67	6,33	5,233*
70 obs	32		9	24	5			
esp	32,80		8,20	23,20	5,80	0,235		
39 obs	18		9	12	0			
esp	20,77		6,23	9,23	2,77	+		

\* =  $P < 0,05$ ; \*\* =  $P < 0,01$ ; \*\*\* =  $P < 0,005$ ; + = qui-quadrado não calculado.

detectadas envolvem os cromossomos 2 e 3 — combinações 2Lb x 3La e 2Rb x 3Lb ( $X^2_1 = 3,876$ ,  $P < 0,05$  e  $12,794$ ;  $P < 0,005$ ). Além dessas duas, nessa amostra mais dois casos apresentaram valores próximos do limite de significância e ambos envolvem a inversão 2Rb com a 3La e com a 3Ra (respectivamente,  $X^2_1 = 3,408$  e  $3,751$ ;  $0,10 > P > 0,05$ ). Para as combinações em que o qui-quadrado não foi calculado, os dados não evidenciam desvios significativos, exceto para as combinações 2Lb x 3Rb e 2Rd x 3Rb.

O qui-quadrado foi calculado em 8 combinações para a amostra de novembro de 1981 (tabela 9) e foi significativo em três casos os quais envolvem os cromossomos 2 e 3 — combinações 2Lb x 3Rc ( $X^2_1 = 8,258$ ;  $P < 0,005$ ), 2Rd x 3Rb ( $X^2_1 = 4,375$ ;  $P < 0,05$ ) e 2Rd x 3Rc ( $X^2_1 = 5,654$ ;  $P < 0,05$ ). Os números são muito próximos nos casos em que não

foi calculado, revelando que não existem diferenças estatísticas entre o observado e o esperado. O mesmo não se estende à combinação 2Rd x 3La, cujos dados não possibilitam conclusões.

Na figura 1 apresentamos um quadro comparativo incluindo todos os resultados dos testes de associação dos arranjos, simultaneamente nas três amostragens. Os testes intracromossômicos estão representados acima da diagonal e os intercromossômicos abaixo da mesma. Os casos assinalados na figura como não significativos compreendem combinações em que o qui-quadrado foi não significativo e também as combinações em que a observação dos números possibilitou inferir que não existem desvios significativos. Para as três amostragens, foram detectados nove casos de associações intracromossômicas, em 25 combinações em que o qui-quadrado foi calculado. Um

número um pouco menor de associações foi verificado nos testes intercromossômicos, sendo detectados sete casos em 35 combinações, nas mesmas condições. Os dois níveis de associação de inversões não diferem significativamente quanto às frequências detectadas ( $X^2_1 = 1,903$ ;  $P > 0,05$ ). A observação da figura possibilita verificar que todas as inversões estão envolvidas em pelo menos uma associação intra e/ou intercromossômica, nas diferentes amostragens, com exceção da inversão 2Ra, que foi um arranjo raro em todas as amostras. A inversão 2Rd ocorreu em maior número de casos (6) e a inversão Xa em apenas um. 3Rb e 3Lb ocorreram em quatro casos cada uma; 2Rc, 2Lb, 3Ra, 3Rc e 3La em três; e a inversão 2Rb em apenas dois.

A observação da figura 1 possibilita verificar ainda que as mesmas associações, quer

intra ou intercromossômicas, não estão presentes em duas ou em três amostragens ao mesmo tempo, exceto a combinação 2Rc x 2Rd, que foi detectada na amostra de fevereiro/março e junho/julho de 1980. Assim, por exemplo, para o cromossomo 2, as inversões 2Rb e 2Rc constituem-se em uma associação intracromossômica apenas no período de junho/julho de 1980; no cromossomo 3, as inversões 3Ra e 3Lb formam uma associação intracromossômica apenas na amostra de fevereiro/março de 1980. Para as associações intercromossômicas, a combinação Xa x 3La também se constitui em uma associação apenas para a amostra de fevereiro/março de 1980. A exceção mencionada acima relacionada a 2Rc x 2Rd do cromossomo 2 resulta, provavelmente, do fato de não se constituir em uma associação de inversões mas, antes, decorre da proxi-

**TABELA 6** — Associação de inversões entre os dois braços de cada cromossomo — frequências observadas e esperadas e valores de qui-quadrado, respectivamente nas amostras de fevereiro/março e junho/julho de 1980 e novembro de 1981. homo = homozigoto; het = heterozigoto para inversão.

Cromossomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	$X^2_1$	
2	2Lb x 2Ra	72 obs	25	1	45	1	+	
		esp	25,28	0,72	44,72	1,28		
		69 obs	26	0	43	0		+
		esp	26,00	0,00	43,00	0,00		
		39 obs	18	1	20	0		+
		esp	18,51	0,49	19,49	0,51		
	2Lb x 2Rb	66 obs	8	17	16	25	0,331	
		esp	9,09	15,91	14,91	26,09		
		68 obs	14	12	22	20		0,014
		esp	13,76	12,24	22,24	19,76		
		38 obs	8	11	6	13		0,452
		esp	7,00	12,00	7,00	12,00		
	2Lb x 2Rc	69 obs	15	10	17	27	2,933	
		esp	11,59	13,41	20,41	23,59		
		64 obs	10	15	24	15		2,836
		esp	13,28	11,72	20,72	18,28		
		41 obs	5	19	2	15		+
		esp	4,10	19,90	2,90	14,10		
	2Lb x 2Rd	67 obs	18	7	18	24	5,360*	
		esp	13,43	11,57	22,57	19,43		
65 obs		21	4	33	7	+		
esp		20,77	4,23	33,23	6,77			
37 obs		11	8	5	13	3,407		
esp		8,22	10,78	7,78	10,22			

TABELA 6 — (Continuação)

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
3	3La x 3Ra	74 obs	25	16	21	12	0,056
		esp	25,49	15,51	20,51	12,49	
		77 obs	22	20	23	12	1,402
		esp	24,55	17,45	20,45	14,55	
		37 obs	19	8	4	6	+
		esp	16,78	10,22	6,22	3,78	
	3La x 3Rb	70 obs	34	5	30	1	+
		esp	35,66	3,34	28,34	2,66	
		70 obs	33	8	25	4	+
		esp	33,97	7,03	24,03	4,97	
		37 obs	16	10	7	4	+
		esp	16,16	9,84	6,84	4,16	
	3La x 3Rc	70 obs	33	6	27	4	+
		esp	33,43	5,57	26,57	4,43	
		70 obs	38	3	23	6	+
		esp	35,73	5,27	25,27	3,73	
		36 obs	16	10	7	3	+
		esp	16,61	9,39	6,39	3,61	
	3Lb x 3Ra	69 obs	37	18	5	9	4,661*
		esp	33,48	21,52	8,52	5,48	
		70 obs	32	24	6	8	0,920
		esp	30,40	25,60	7,60	6,40	
		37 obs	17	11	5	4	+
		esp	16,65	11,35	5,35	3,65	
	3Lb x 3Rb	88 obs	50	4	12	22	32,878***
		esp	38,05	15,95	23,95	10,05	
		70 obs	48	8	10	4	+
		esp	46,40	9,60	11,60	2,40	
37 obs		19	9	4	5	+	
esp		17,41	10,59	5,59	3,41		
3Lb x 3Rc	68 obs	46	8	12	2	+	
	esp	46,06	7,94	11,94	2,06		
	70 obs	51	5	10	4	+	
	esp	48,80	7,20	12,20	1,80		
	36 obs	18	9	5	4	+	
	esp	17,25	9,75	5,75	3,25		

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

midade das mesmas, dificultando a permutação entre elas. Contudo, ambas as inversões podem ser detectadas separadamente.

Na tabela 10 constam as freqüências das três regiões de despareamento dos cromossomos X, braços 2R e 2L, nas três amostragens, e os valores de qui-quadrado na comparação das mesmas. Para as três regiões, a comparação das freqüências nas duas amostragens de 1980 mostrou valor significativo, porém para as

regiões dos cromossomos X e braço 2R, aumento das freqüências ocorreu de fevereiro/março para junho/julho (6% para 40% e 3% para 19%, respectivamente), enquanto que para a região do braço 2L, ocorreu redução (29% para 8%). As modificações foram significativas apenas para as regiões do braço 2R e do 2L, na comparação das amostras de junho/julho — 1980 e novembro de 1981 ( $X^2_1 = 5,917$ ;  $P < 0,05$ ; e 9,389;  $P < 0,005$ ; respectivamente).

TABELA 7 — Associação de inversões intercromossômicas — frequências observadas e esperadas e valores de qui quadrado nos testes da amostra de fevereiro/março de 1980. homo = homozigoto; het = heterozigoto para inversão.

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	$\chi^2$
X x 2	Xa x 2Ra	58 obs	36	1	21	0	+
		esp	36,36	0,64	20,64	0,36	
	Xa x 2Rb	53 obs	9	24	10	10	2,796
		esp	11,83	21,17	7,17	12,83	
Xa x 2Rc	54 obs	17	17	7	13	1,149	
	esp	15,11	18,89	8,89	11,11		
Xa x 2Rd	52 obs	20	14	10	8	0,050	
	esp	19,62	14,38	10,38	7,62		
X x 3	Xa x 2Lb	60 obs	17	21	5	17	2,913
		esp	13,93	24,07	8,07	13,93	
	Xa x 3Ra	58 obs	20	16	14	8	0,365
		esp	21,10	14,90	12,90	9,10	
	Xa x 3Rb	60 obs	31	3	24	2	+
esp		31,17	2,83	23,83	2,17		
Xa x 3Rc	55 obs	28	5	20	2	+	
	esp	28,80	4,20	19,20	2,80		
Xa x 3La	61 obs	25	13	9	14	4,128*	
	esp	21,18	16,82	12,82	10,18		
2 x 3	Xa x 3Lb	56 obs	26	9	19	2	+
		esp	28,12	6,88	16,88	4,12	
	2Lb x 3Ra	73 obs	14	12	32	15	1,452
		esp	16,38	9,62	29,62	17,38	
	2Lb x 3Rb	69 obs	23	2	40	4	+
		esp	22,83	2,17	40,17	3,83	
	2Lb x 3Rc	69 obs	20	5	39	5	+
		esp	21,38	3,62	37,62	6,38	
	2Lb x 3La	76 obs	15	11	27	23	0,094
		esp	14,37	11,63	27,63	22,37	
2Lb x 3Lb	70 obs	18	6	38	8	+	
	esp	19,20	4,80	36,80	9,20		
2Ra x 3Ra	72 obs	45	25	0	2	+	
	esp	43,75	26,25	1,25	0,75		
2Ra x 3Rb	68 obs	62	5	0	1	+	
	esp	61,09	5,91	0,91	0,09		
2Ra x 3Rc	68 obs	58	9	0	1	+	
	esp	57,15	9,85	0,85	0,15		

TABELA 7 — (Continuação)

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
	2Ra x 3La	74 obs esp	39 38,92	33 33,08	1 1,08	1 0,92	+
	2Ra x 3Lb	68 obs esp	53 53,20	14 13,80	1 0,80	0 0,20	+
	2Rb x 3Ra	67 obs esp	17 15,67	8 9,33	25 26,33	17 15,67	0,482
	2Rb x 3Rb	64 obs esp	22 22,12	2 1,88	37 36,88	3 3,12	+
	2Rb x 3Rc	64 obs esp	23 20,62	1 3,38	32 34,38	8 5,62	+
	2Rb x 3La	68 obs esp	15 13,97	10 11,03	23 24,03	20 18,97	0,272
	2Rb x 3Lb	64 obs esp	18 17,97	5 5,03	32 32,03	9 8,97	0,0004
	2Rc x 3Ra	68 obs esp	20 19,76	12 12,24	22 22,24	14 13,76	0,014
	2Rc x 3Rb	65 obs esp	29 27,23	1 2,77	30 31,77	5 3,23	+
	2Rc x 3Rc	66 obs esp	24 26,30	7 4,70	32 29,70	3 5,30	+
	2Rc x 3La	69 obs esp	19 18,55	13 13,45	21 21,45	16 15,55	0,049
	2Rc x 3Lb	66 obs esp	24 23,64	6 6,36	28 28,36	8 7,64	0,049
	2Rd x 3Ra	66 obs esp	18 22,36	18 13,64	23 18,64	7 11,36	4,937*
	2Rd x 3Rb	64 obs esp	33 31,34	1 2,66	26 27,66	4 2,34	+
	2Rd x 3Rc	59 obs esp	27 28,81	7 5,19	23 21,19	2 3,81	+
	2Rd x 3La	67 obs esp	21 21,49	15 14,51	19 18,51	12 12,49	0,060
	2Rd x 3Lb	63 obs esp	26 25,67	7 7,33	23 23,33	7 6,67	0,040

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

No entanto, o comportamento foi o inverso para as duas regiões, pois enquanto que para o braço 2R ocorreu redução dos níveis (19% para 2%), para o braço 2L foi constatado au-

mento (8% para 31%). Para o cromossomo X, as frequências permaneceram nos mesmos níveis nas duas amostragens, ( $X^2_1 = 0,503$ ;  $P > 0,05$ ). Comportamento diferente entre as

regiões de despareamento é também observado quando a amostra de fevereiro/março de 1980 é comparada com a amostra de novembro de 1981. Para o cromossomo X, ocorreu aumento significativo das freqüências (6% para 48%) e para os cromossomos 2R e 2L, os valores permaneceram praticamente inalterados, nas duas amostragens, porém os níveis de ocorrência foram diferentes (3% para 2% e 29% para 31%, respectivamente).

Testes de associação, envolvendo as regiões de despareamento com as inversões de

cada braço cromossômico, foram realizados e os resultados constam da tabela 11. Dada a baixa freqüência dos despareamentos, nas diferentes amostragens, o qui-quadrado foi calculado apenas para quatro combinações e os desvios não foram significativos (inversões 2Rb e 2Rc de junho/julho, inversão 2Lb de fevereiro/março e novembro). Para as demais combinações, os valores observados e esperados são próximos, não evidenciando desvios estatisticamente significativos.

		X		2				3				
				R		L		R		L		
		a	a	b	c	d	b	a	b	c	a	b
2	X	a										
	R	a	ns		ns	ns	ns	ns				
		b	ns		ns	ns	ns	ns				
		c	ns		ns	ns	ns	ns				
		d	ns		ns	ns	ns	ns				
L	b	ns										
3	R	a	ns	ns	ns	ns	s	ns	ns	ns	ns	s
	b	ns	ns	+	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	c	ns	ns	+	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	L <td>a</td> <td>s</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>s</td>	a	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	s
b	ns	ns	+	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
c	ns	ns	+	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
L <td>a</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td> <td>ns</td>	a	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
b	ns	ns	+	s	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	

Fig. 1 — Associações intracromossômicas (acima da diagonal) e intercromossômicas (abaixo da diagonal) das inversões dos três pares de cromossomos, respectivamente na seqüência das amostras de 1980 (fevereiro/março e junho/julho) e de novembro de 1981. s = qui-quadrado significativo; ns = não significativo; + = não calculado.

TABELA 8 — Associação de inversões intercromossômicas — frequências observadas e esperadas e valores de qui-quadrado nos testes da amostra de junho/julho de 1980. homo = homozigoto; het = heterozigoto para inversão.

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
X x 2	Xa x 2Ra	38 obs	31	0	7	0	+
		esp	31,00	0,00	7,00	0,00	
	Xa x 2Rb	38 obs	14	17	3	4	+
		esp	13,87	17,13	3,13	3,87	
	Xa x 2Rc	35 obs	12	16	4	3	+
esp		12,80	15,20	3,20	3,80		
Xa x 2Rd	35 obs	22	6	6	1	+	
	esp	22,40	5,60	5,60	1,40		
Xa x 2Lb	40 obs	6	25	2	7	+	
	esp	6,20	24,80	1,80	7,20		
X x 3	Xa x 3Ra	40 obs	14	17	4	5	+
		esp	13,95	17,05	4,05	4,95	
	Xa x 3Rb	39 obs	23	8	6	2	+
		esp	23,05	7,95	5,95	2,05	
	Xa x 3Rc	39 obs	25	6	7	1	+
esp		25,44	5,56	6,56	1,44		
Xa x 3La	40 obs	18	13	4	5	+	
	esp	17,05	13,95	4,95	4,05		
Xa x 3Lb	39 obs	21	10	6	2	+	
	esp	21,46	9,54	5,54	2,46		
2 x 3	2Lb x 3Ra	70 obs	16	9	21	24	1,930
		esp	13,22	11,78	23,78	21,22	
	2Lb x 3Rb	68 obs	24	1	32	11	+
		esp	20,59	4,41	35,41	7,59	
	2Lb x 3Rc	68 obs	22	3	37	6	+
		esp	21,69	3,31	37,31	5,69	
2Lb x 3La	69 obs	11	14	30	14	3,876*	
	esp	14,86	10,14	26,14	17,86		
2Lb x 3Lb	67 obs	22	3	31	11	1,903	
	esp	19,78	5,22	33,22	8,78		
2Ra x 3Ra	67 obs	36	31	0	0	+	
	esp	36,00	31,00	0,00	0,00		

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

TABELA 8 — (Continuação)

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
	2Ra x 3Rb	66 obs esp	55 55,00	11 11,00	0 0,00	0 0,00	+
	2Ra x 3Rc	66 obs esp	58 58,00	8 8,00	0 0,00	0 0,00	+
	2Ra x 3La	66 obs esp	39 39,00	27 27,00	0 0,00	0 0,00	+
	2Ra x 3Lb	65 obs esp	53 53,00	12 12,00	0 0,00	0 0,00	+
	2Rb x 3Ra	66 obs esp	23 19,09	12 15,91	13 16,91	18 14,09	3,751
	2Rb x 3Rb	65 obs esp	31 29,08	4 5,92	23 24,92	7 5,08	1,623
	2Rb x 3Rc	65 obs esp	32 30,69	3 4,31	25 26,31	5 3,69	+
	2Rb x 3La	66 obs esp	17 20,68	18 14,32	22 18,32	9 12,68	3,408
	2Rb x 3Lb	64 obs esp	34 28,44	1 6,56	18 23,56	11 5,44	12,794***
	2Rc x 3Ra	63 obs esp	20 18,35	14 15,65	14 15,65	15 13,35	0,700
	2Rc x 3Rb	63 obs esp	29 28,06	5 5,94	23 23,94	6 5,06	0,392
	2Rc x 3Rc	62 obs esp	29 29,27	4 3,73	26 25,73	3 3,77	+
	2Rc x 3La	63 obs esp	20 19,97	14 14,03	17 17,03	12 11,97	0,0002
	2Rc x 3Lb	63 obs esp	31 28,60	3 5,40	22 24,40	7 4,60	+
	2Rd x 3Ra	64 obs esp	31 28,69	23 25,31	3 5,31	7 4,69	+
	2Rd x 3Rb	64 obs esp	48 44,72	6 9,28	5 8,28	5 1,72	+
	2Rd x 3Rc	64 obs esp	47 48,09	7 5,91	10 8,91	0 1,09	+
	2Rd x 3La	63 obs esp	30 31,71	24 22,29	7 5,29	2 3,71	+
	2Rd x 3Lb	63 obs esp	47 45,43	7 8,57	6 7,57	3 1,43	+



TABELA 9 — Associação de inversões intercromossômicas — frequências observadas e esperadas e valores de qui-quadrado nos testes da amostra de novembro de 1981. homo = homozigoto; het = heterozigoto para inversão.

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
X x 2	Xa x 2Ra	27 obs	8	0	18	1	+
		esp	7,70	0,30	18,30	0,70	
	Xa x 2Rb	27 obs	4	4	7	12	+
		esp	3,26	4,74	7,74	11,26	
	Xa x 2Rc	26 obs	0	8	3	15	+
esp		0,92	7,08	2,08	15,92		
Xa x 2Rd	26 obs	3	5	6	12	+	
	esp	2,77	5,23	62,3	11,77		
Xa x 2Lb	27 obs	4	4	9	10	+	
	esp	3,85	4,15	9,15	9,85		
X x 3	Xa x 3Ra	26 obs	6	1	11	8	+
		esp	4,58	2,42	12,42	6,58	
	Xa x 3Rb	26 obs	6	1	9	10	+
		esp	4,04	2,96	10,96	8,04	
	Xa x 3Rc	25 obs	5	1	10	9	+
esp		3,60	2,40	11,40	7,60		
Xa x 3La	25 obs	5	2	12	6	+	
	esp	4,76	2,24	12,24	5,76		
Xa x 3Lb	26 obs	7	0	13	6	+	
	esp	5,38	1,62	14,62	4,38		
2 x 3	2Lb x 3Ra	38 obs	13	6	10	9	0,991
		esp	11,50	7,50	11,50	7,50	
	2Lb x 3Rb	37 obs	11	7	12	7	0,017
		esp	11,19	6,81	11,81	7,19	
	2Lb x 3Rc	51 obs	23	5	10	13	8,258***
		esp	18,12	9,88	14,88	8,12	
	2Lb x 3La	38 obs	13	5	14	6	0,023
esp		12,79	5,21	14,21	5,79		
2Lb x 3Lb	38 obs	13	5	16	4	+	
	esp	13,74	4,26	15,25	4,74		
2Ra x 3Ra	38 obs	23	14	0	1	+	
	esp	22,39	14,61	0,61	0,39		
2Ra x 3Rb	37 obs	22	14	1	0	+	
	esp	22,38	13,62	0,62	0,38		

TABELA 9 — (Continuação)

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x het	het x homo	het x het	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
	2Ra x 3Rc	36 obs esp	22 22,36	13 12,64	1 0,64	0 0,36	+
	2Ra x 3La	39 obs esp	26 26,31	12 11,69	1 0,69	0 0,31	+
	2Ra x 3Lb	39 obs esp	29 29,23	9 8,77	1 0,77	0 0,23	+
	2Rb x 3Ra	37 obs esp	7 8,08	6 4,92	16 14,92	8 9,08	+
	2Rb x 3Rb	37 obs esp	9 8,70	5 5,30	14 14,30	9 8,70	0,046
	2Rb x 3Rc	36 obs esp	9 8,31	4 4,69	14 14,69	9 8,31	+
	2Rb x 3La	37 obs esp	10 9,84	4 4,16	16 16,16	7 6,84	+
	2Rb x 3Lb	37 obs esp	10 10,59	4 3,41	18 17,41	5 5,59	+
	2Rc x 3Ra	35 obs esp	4 4,60	3 2,40	19 18,40	9 9,60	+
	2Rc x 3Rb	35 obs esp	5 4,20	2 2,80	16 16,80	12 11,20	+
	2Rc x 3Rc	34 obs esp	5 4,53	2 2,47	17 17,47	10 9,53	+
	2Rc x 3La	36 obs esp	6 4,67	1 2,33	18 19,33	11 9,67	+
	2Rc x 3Lb	36 obs esp	7 5,25	0 1,75	20 21,75	9 7,25	+
	2Rd x 3Ra	36 obs esp	13 10,67	3 5,33	11 13,33	9 6,67	2,748
	2Rd x 3Rb	35 obs esp	12 9,00	3 6,00	3 12,00	11 8,00	4,375*
	2Rd x 3Rc	34 obs esp	13 9,71	2 5,29	9 12,29	10 6,71	5,654*
	2Rd x 3La	37 obs esp	14 11,24	2 4,76	12 14,76	9 6,24	+
	2Rd x 3Lb	37 obs esp	14 12,11	2 3,89	14 15,89	7 5,11	+

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

## DISCUSSÃO

Polimorfismo cromossômico de inversões paracêntricas freqüentemente ocorre em espécies do gênero *Anopheles* e uma vasta literatura foi acumulada desde os primeiros estudos de Frizzi e colaboradores, em espécies paleárticas do complexo *Anopheles maculipennis* (Kitzmilller 1970, 1976, 1977; White, 1974; White *et al.*, 1975; Coluzzi & Kitzmilller, 1975; Tadei, 1980). Os estudos cromossômicos no gênero *Anopheles* proporcionaram elementos à citotaxonomia, possibilitando a identificação de espécies crípticas, como ocorreu no complexo *Anopheles gambiae* da África. Proporcionaram também dados sobre a variabilidade cromossômica de populações naturais, que permitiram a identificação de espécies com elevado polimorfismo, moderadamente polimórficas e espécies monomórficas (White, 1974; Kitzmilller, 1976; Coluzzi *et al.*, 1979).

Populações naturais de *A. darlingi* são polimórficas para arranjos gênicos em seus cromossomos, em decorrência de 11 inversões independentes e um arranjo complexo, resultante de duas inversões superpostas (Kreutzer *et al.*, 1972; Tadei *et al.*, 1982). As inversões distribuem-se por todos os cromossomos, não havendo ocorrência preferencial em qualquer cromossomo ou mesmo em qualquer dos braços cromossômicos. Estu-

dos em populações brasileiras da Amazônia (Manaus) e do Estado de São Paulo, evidenciaram que populações do norte são altamente polimórficas quando comparadas com populações do sul. Nestas últimas, foram fixados determinados arranjos com reduzido polimorfismo. Os dados de polimorfismo cromossômico de *A. darlingi* corroboram a hipótese de que populações centrais da área de distribuição geográfica de uma espécie são mais polimórficas que as marginais. As populações da Amazônia, ocupando uma área mais central da distribuição da espécie, mostraram elevado polimorfismo e as populações do sul, ocupando área marginal, fixaram arranjos específicos, mostrando baixo polimorfismo.

O caráter polimórfico das populações de *A. darlingi* da Amazônia é novamente evidenciado, a partir dos dados desse trabalho, pois valores elevados foram observados para a média de inversões por indivíduo, no estado heterozigoto. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Tadei *et al.* (1982) que estudaram uma população do Km 137, da mesma Rodovia, cuja amostra foi obtida em 1976. Esses autores verificaram que de 32 fêmeas estudadas, nenhuma produziu descendentes homozigotos para os três pares de cromossomos, simultaneamente. O número de inversões por indivíduo variou de um a sete e 68% das larvas analisadas apresentaram de três a cinco

TABELA 10 — Freqüências das regiões de desapareamentos dos cromossomos X, 2R e 2L e valores de qui-quadrado da comparação das amostras de fevereiro/março (f/m) e junho/julho (j/j) de 1980 e novembro (nov) de 1981. ( ) = percentagem.

Cromossomo	Amostra	Número de larvas analisadas	Número de larvas com desapareamento	Combinação	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
X	f/m	62	4 ( 6)	f/m x j/j	17,369***
	j/j	43	17 (40)	f/m x nov	21,143***
	nov	27	13 (48)	j/j x nov	0,503
2R	f/m	74	2 ( 3)	f/m x j/j	9,713***
	j/j	70	13 (19)	f/m x nov	+
	nov	40	1 ( 2)	j/j x nov	5,917*
2L	f/m	76	22 (29)	f/m x j/j	10,238***
	j/j	72	6 ( 8)	f/m x nov	0,041
	nov	39	12 (31)	j/j x nov	9,389***

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

TABELA 11 — Associação das regiões de despareamento (desp) e as inversões de cada braço cromossômico — frequências observadas e esperadas e valores de qui-quadrado, respectivamente nas amostras de fevereiro/março e junho/julho de 1980 e novembro de 1981. homo = homozigoto; het = heterozigoto para inversão.

Cromosomo	Inversões	larvas analisadas	homo x homo	homo x desp	het x homo	het x desp	X <sup>2</sup> <sub>1</sub>
X	Xa	7 obs	2	2	1	2	
		esp	1,71	2,28	1,28	1,71	+
		26 obs	7	14	2	3	
		esp	7,27	13,73	1,73	3,27	+
2	2Ra	18 obs	2	2	3	11	
		esp	1,11	2,89	3,89	10,11	+
		11 obs	7	2	2	0	
		esp	7,36	1,64	1,64	0,36	+
2	2Ra	34 obs	21	13	0	0	
		esp	21,00	13,00	0,00	0,00	+
		3 obs	2	1	0	0	
		esp	2,00	1,00	0,00	0,00	+
	2Rb	9 obs	2	0	5	2	
		esp	1,55	0,44	5,44	1,55	+
		35 obs	8	7	14	6	
		esp	9,43	5,57	12,57	7,43	1,022
	2Rc	3 obs	2	1	0	0	
		esp	2,00	1,00	0,00	0,00	+
		10 obs	5	1	3	1	
		esp	4,80	1,20	3,20	0,80	+
2Rd	34 obs	10	8	11	5		
	esp	11,12	6,88	9,88	6,12	0,627	
	3 obs	1	0	1	1		
	esp	0,67	0,33	1,33	0,67	+	
2Rd	12 obs	0	2	2	0		
	esp	8,33	1,66	1,66	0,33	+	
	34 obs	14	11	7	2		
	esp	15,44	9,56	5,56	3,44	+	
2Lb	3 obs	1	0	1	1		
	esp	0,67	0,33	1,33	0,67	+	
	49 obs	14	7	13	15		
	esp	11,57	9,43	15,43	12,57	1,989	
2Lb	21 obs	7	3	8	3		
	esp	7,14	2,86	7,86	3,14	+	
	25 obs	7	4	6	8		
	esp	5,72	5,28	7,28	6,72	1,066	

+ = qui-quadrado não calculado.

inversões. Para as três amostragens agora realizadas, obtidas no Km 175, também altos índices foram verificados. Na amostra de fevereiro/março-1980, do mesmo modo que o observado para o Km 137, 68% dos descendentes mostraram de três a cinco inversões; em junho/julho-1980, 65% da amostra apresenta-

vam de duas a quatro inversões; e em novembro-1981 foram observadas três ou quatro inversões em 40% da amostra e sete inversões em 20%.

Assim, em relação às populações de *A. darlingi* da Amazônia, estudadas até o momento, observa-se que são concordantes quanto

ao aspecto de apresentarem elevado polimorfismo cromossômico. Entretanto, diferenciações entre as mesmas podem ser verificadas quanto às freqüências das inversões e quanto aos arranjos presentes. As comparações entre as populações de Manaus e do Km 137, realizadas por Tadei *et al.* (1982), evidenciaram estas características. Porém, quando são comparadas as populações do Km 137 e do Km 175, a diferenciação entre as mesmas é verificar apenas ao nível das freqüências dos arranjos, pois as mesmas inversões ocorrem nas duas localidades. Considerando que a amostra do Km 137 foi obtida em outubro/novembro-1976, período inicial da estação chuvosa na Amazônia, e a terceira amostragem do Km 175 foi obtida em novembro-1981, ou seja, no mesmo período do ano, as duas localidades podem então ser comparadas quanto às freqüências das inversões, nessas amostragens. As populações apresentaram diferenças significativas quanto às freqüências das inversões Xa, 2Rd e 3La (tabela 3). As duas primeiras ocorreram, na população do Km 175, em níveis que são mais que o dobro do verificado no Km 137. Comportamento oposto ocorreu para 3La, cujos níveis maiores ocorreram na população do Km 137. As diferenças verificadas entre a amostra de 1976 e as outras duas amostras do Km 175 (fevereiro/março-1980 e novembro-1981; tabela 3) provavelmente não refletem diferenças entre as populações das duas localidades mas, antes, evidenciam diferenças nas freqüências das inversões que se modificam conforme o período considerado (tabelas 1 e 2).

Desta forma, com base nos arranjos gênicos, pode-se verificar que o nível de diferenciação entre as três populações de *A. darlingi* estudadas é maior entre a população de Manaus em relação às demais do que entre as populações do Km 137 e do Km 175. Entre essas duas últimas, as mesmas inversões ocorreram em ambas, porém em freqüências diferentes; a população de Manaus não apresenta as inversões 2Rd e 3Rc, comum às outras duas populações. Assim, até o momento, as duas inversões mencionadas possibilitam diferenciar as populações. Contudo, como desconhecemos as condições em que a amostra da população de Manaus foi obtida por Kreutzer *et al.* (1972), torna-se necessário o estudo

de populações intermediárias para se conhecer a extensão da ocorrência das inversões mencionadas e verificar a possibilidade dessas inversões se constituírem em um elemento que permita distinguir as duas populações, e ainda de se conhecer também as possibilidades de fluxo gênico entre elas.

No gênero *Anopheles*, as inversões cromossômicas têm sido utilizadas como marcadores para a identificação de populações. Em *A. nuneztovari*, uma inversão no estado homocigoto no cromossomo X possibilita identificar populações vetoras de não vetoras da malária humana (Kitzmiller *et al.*, 1973); três populações distintas de *Anopheles albitarsis* podem ser identificadas com base em arranjos gênicos (Kreutzer *et al.*, 1976); e no complexo *A. gambiae* da África, as inversões do braço longo do cromossomo X possibilitam a identificação de espécies desse complexo (Coluzzi *et al.*, 1979).

Variações das freqüências dos arranjos gênicos, correlacionadas à diferenciação geográfica, altitude e mudanças estacionais, foram extensivamente registradas em espécies do gênero *Drosophila* (entre outros, Dobzhansky, 1943, 1948; Bratic & Koref-Santibañez, 1965; Anderson *et al.*, 1975; Bicudo *et al.*, 1978; Krimbas & Loukas, 1980). Em espécies desse gênero, diferenças polimórficas nos arranjos gênicos têm sido associadas a características fisiológicas que possibilitam aos indivíduos de uma dada população sobreviver e multiplicar sob diferentes condições ambientais, que se modificam em relação às diferentes variáveis.

Os dados observados neste trabalho evidenciam modificações nas freqüências dos arranjos, no decorrer dos períodos de amostragens. Esta situação assemelha-se às variações observadas para algumas espécies de *Drosophila* acima mencionadas, e os vários níveis de ocorrência dos arranjos gênicos, provavelmente resultam de diferentes respostas seletivas a condições ambientais, que se modificaram no decorrer das amostragens.

Diferentes autores têm enfatizado o caráter heterogêneo das florestas amazônicas e a diversidade de habitats que ocorre na região (Moran, 1981). Uma espécie para explorar um grande número deles não pode ser geneticamente pura, devendo ser altamente variável

quanto à sua constituição genética (Kerr, 1978). Em espécies de *Drosophila*, observações em condições naturais e no laboratório têm evidenciado que a manutenção da plasticidade dos sistemas polimórficos está relacionada com as propriedades heteróticas dos heterocariótipos. A mortalidade diferencial favorecendo os heterozigotos, poderia manter o polimorfismo (Dobzhansky, 1973). Neste trabalho, nenhum estudo especial foi desenvolvido no sentido de evidenciar a aptidão superior dos heterocariótipos e os dados resultam de observações de populações da natureza. No entanto, eles evidenciam o aspecto heterótico das inversões sob determinadas condições, pois as freqüências dos heterozigotos estão próximas ou acima de 50%, principalmente para os arranjos do cromossomo 2.

Estudos anteriores em populações de *A. darlingi* de Manaus e da BR-174, realizados por Kreutzer *et al.*, (1972) e Tadei *et al.* (1982), também evidenciaram esta característica das populações da Amazônia. As freqüências elevadas e significativas de heterozigotos, para a maioria das inversões, foram interpretadas, pelos últimos autores, como indicativas de uma adaptabilidade maior dos heterozigotos em relação à heterogeneidade ambiental. Assim, a estrutura genética de populações naturais de *A. darlingi* deve ser semelhante à observada por Dobzhansky & Pavlovsky (1958) para três espécies de *Drosophila*. Esses autores, estudando populações naturais de *D. willistoni*, *D. paulistorum* e *D. tropicalis*, verificaram também freqüências próximas ou acima de 50% de indivíduos heterozigotos para determinadas inversões.

As modificações na composição genética, da população estudadas neste trabalho, no decorrer dos períodos, não se limitaram apenas às freqüências das inversões. Foram verificadas também mudanças quanto às associações de inversões presentes, em cada período de amostragem (figura 1), e alterações quanto às freqüências das regiões de despareamento (tabela 10).

Os testes de associação de inversões realizados evidenciaram diferentes associações, para cada período, quer ao nível intracromossômico, quer ao nível intercromossômico. Em relação às primeiras, as associações podem

ocorrer entre as inversões dos dois braços de cada cromossomo e entre as inversões de cada braço cromossômico. Para estas últimas, considerando que as inversões estão em braços diferentes, existe segmento cromossômico suficientemente grande para permitir a permutação entre elas. O segmento torna-se menor quando são consideradas as inversões dentro de cada braço cromossômico. No entanto, como a figura de pareamento dos heterozigotos evidencia regiões com pareamento normal entre as inversões e as mesmas são registradas isoladamente, admitimos também neste caso existir segmento cromossômico suficientemente grande entre elas, para permitir a permutação. Faz exceção à esta observação, as inversões 2Rc e 2Rd cuja figura dos heterozigotos não mostra o segmento cromossômico entre elas normalmente pareado, dificultando, provavelmente, a permutação.

Assim, com base nas razões acima mencionadas, os casos em que as inversões não se distribuíram ao acaso, tanto ao nível intracromossômico como intercromossômico, evidenciaram que esses arranjos, quando em associação, apresentam vantagens seletivas superiores em relação aos arranjos isoladamente. Em espécies de *Drosophila*, associações de arranjos têm sido registradas e estudos de diferentes localidades, de uma mesma espécie, evidenciaram que ocorrem variações quanto às inversões em associação (cis) e em repulsão (trans) e mostraram também que ocorre variação conforme a espécie considerada (Levitan, 1955, 1958; Levitan & Salzano 1959; Brncic, 1961; Choi, 1977; Bicudo *et al.* 1978). Para *A. darlingi*, associações adaptativas de inversões foram registradas para a população do Km 137, cuja amostra foi obtida em 1976 (Tadei *et al.*, 1982). Os dados deste trabalho, obtidos em diferentes períodos, evidenciaram novas associações e que uma mesma associação não está presente em duas ou em três amostragens ao mesmo tempo. Considerando que a amostra de fevereiro/março-1980 foi obtida na época da estação chuvosa, nos meses em que as precipitações são mais intensas; a de junho/julho-1980 obtida no período de verão; e a de novembro-1981, início do período chuvoso; observa-se que os dados de associação deste trabalho retratam uma situa-

ção em que a seleção favorece a reunião de arranjos específicos, diferentes nos períodos, as quais estariam refletindo a reestruturação da composição genética da população, em decorrência de modificações ambientais. Desta forma, associações de arranjos específicos são adaptativamente vantajosas em determinadas condições ambientais.

As modificações nas freqüências das regiões de desapareamento evidenciaram níveis opostos para os segmentos localizados nos braços cromossômicos 2R e 2L, quando são comparados os períodos das estações chuvosa e seca. Para o cromossomo X, diferenças entre as duas estações foram observadas nas medidas de 1980.

Em relação a essas regiões de desapareamento, Tadei *et al.* (1982), estudando a população de *A. darlingi* do Km 137, admitiram que os segmentos desapareados poderiam representar regiões onde tenha ocorrido diferenciação genética e que, sendo formas alternativas de constituição cromossômica, poderiam exercer algum papel na adaptação das populações. A constatação de alterações das freqüências dessas regiões neste trabalho, principalmente para o cromossomo 2, correlacionadas às modificações ambientais, vêm reforçar a hipótese proposta por aqueles autores do papel que estas regiões exerceriam no processo adaptativo da espécie.

Outro aspecto a ser discutido das alterações na estrutura genética da população, no decorrer dos períodos de amostragens, é o número médio de inversões, por indivíduo, no estado heterozigoto (tabela 4). As médias mostraram valores mais altos para as amostras obtidas em períodos da estação chuvosa do que na estação de verão. Esses valores, tomados como medida para quantificar o polimorfismo, evidenciaram que a população mantém índices mais elevados para aquela estação. A interpretação desses dados, considerando a heterogeneidade das florestas amazônicas, possibilita aventar hipótese relacionada ao processo de adaptação das populações, em decorrência de modificações ambientais.

Moran (1981) ressalta que as características dos habitats em florestas pluviais tropicais são diferentes em comparação com florestas temperadas. São distintos em relação à diver-

sidade de animais, composição florística e distintos também por unidade de espaço. O autor ressalta que "esta diversidade reflete as complexas interações do ecossistema, com altos índices de produtividade e alto poder de recuperação, quando alterado pela natureza ou pela intervenção do homem". Os dados desse trabalho, obtidos na região da Bacia Amazônica, portanto, em região de floresta pluvial tropical, possibilitam propor que as populações de *A. darlingi*, sendo mais polimórficas durante a estação chuvosa, estariam mais aptas para ocupar um número maior de nichos ecológicos que provavelmente aumentam nesta estação, em decorrência do ciclo anual das enchentes que leva a profundas alterações ambientais. Assim, o elevado polimorfismo detectado na população, no referido período, poderia estar refletindo uma estratégia adaptativa da espécie, face às modificações ocorridas nos habitats. As características biológicas da espécie também corroboram esta hipótese, pois a reprodução está na dependência direta de grandes coleções hídricas, nas quais ocorre o desenvolvimento da fase larvária até a eclosão do imago.

Os dados obtidos em outubro/novembro-1976, para a população do Km 137, estão de acordo com a hipótese acima proposta, pois a média obtida para aquela amostra foi também elevada e o período de amostragem coincide com a estação chuvosa. No entanto, como apenas uma amostra foi obtida para o período de verão, permanece para ser verificado se as mudanças nas freqüências observadas realmente refletem ciclos estacionais ou respostas não cíclicas de outros fatores ambientais. Para a região onde as amostras foram obtidas, os períodos secos e chuvosos são delimitados durante o ano. No entanto, nas regiões tropicais, as mudanças estacionais em populações de mosquitos podem ser muito afetadas pela disponibilidade de locais específicos para procriação, os quais estão diretamente relacionados com as condições climáticas, especialmente com o regime pluvial. Ainda, os dados da literatura evidenciam o nível de complexidade das interações entre as espécies e as modificações ambientais nessas regiões. Moran (1981) assinala que em florestas pluviais tropicais a fauna sofre mudanças no tamanho e

na estrutura das populações, como resultado de alterações estacionais na precipitação, alimento disponível, dentre outras; no entanto, Wolda & Galindo (1981), registraram flutuações em populações de mosquitos na região tropical, em uma área relativamente não estacional quanto ao clima.

Um aspecto relevante no estudo de espécies de mosquitos de importância médica é o comportamento em relação ao homem. Diferentes autores têm enfatizado que as espécies apresentam padrões comportamentais que permitem caracterizá-las e que esses padrões são relativamente constantes, desde que as variáveis ambientais não oscilem além de determinados limites (Elliott, 1972; Chowdaiah & Seetharam, 1975; Charlwood, 1980; Lacey & Charlwood, 1980; Tadei & Correia, 1982). *Anopheles darlingi*, como as demais espécies de *Anopheles*, também apresenta um padrão característico de comportamento, em relação à atividade de picar, e variações podem ser observadas quanto à endofilia-exofilia e zoofilia-antropofilia, ao longo da área de distribuição geográfica da espécie (Van Thiel, 1962). No entanto, nenhum estudo ainda foi realizado relacionando esses aspectos e a variabilidade cromossômica e/ou enzimática as quais, correlacionadas, poderiam trazer informações, de importância epidemiológica sobre a capacidade vetorial da espécie. Em relação à variabilidade cromossômica, os dados desse trabalho evidenciaram que existem modificações das variantes genéticas conforme o período considerado, e variações ao longo da área de distribuição geográfica da espécie também podem ser detectadas (Tadei, in prep). Em relação à variabilidade enzimática, Contel, Santos & Tadei (não publicado) encontraram variação quanto às esterases, estudando populações de *A. darlingi* do Pará (PA-422) e de Rondônia (Ariquemes). Variação quanto às esterases, também foi registrada na rodovia BR-174 (Santos, 1979).

Estudos em espécies de *Anopheles*, polimórficas para diferentes inversões, evidenciaram que divergências podem ser observadas entre portadores de diferentes arranjos. Variações têm sido registradas em relação ao ciclo circadiano, propensão a cruzamentos, período de pupação e emergência do imago, entre outras características (Jones *et al.*, 1967,

1972; Coluzzi, 1972; Jones, 1974; Coluzzi *et al.*, 1972, 1974). No complexo *A. gambiae* da África, os estudos do polimorfismo cromossômico, envolvendo as duas espécies mais importantes do ponto de vista de vetores da malária humana naquele continente — *A. gambiae* e *Anopheles arabiensis*, mostraram que arranjos gênicos específicos estão associados a variações no comportamento quanto à exofilia e endofilia, levando a consequências evolutivas e epidemiológicas relevantes (Coluzzi *et al.*, 1979). A análise de amostras obtidas em condições extra e intradomiciliares evidenciaram que as inversões não se distribuíram ao acaso, sendo mais freqüentes, no primeiro caso, os arranjos adaptados a ambientes relativamente mais úmidos; e, no segundo caso, os arranjos adaptados a ambientes mais secos. Foi admitido que seleção de habitat parece estar envolvida no comportamento de repouso nas casas e que a endofilia diferencial de cariótipos alternativos é, primariamente, uma expressão de diferentes adaptações climáticas. Portanto, indivíduos transportando arranjos gênicos alternativos, em uma população polimórfica, teriam probabilidades diferentes de contato com o homem, em ambientes domésticos e, conseqüentemente, aos inseticidas residuais utilizados no controle das populações de anofelinos. Assim, a exposição não uniforme do vetor aos inseticidas poderia explicar os resultados não satisfatórios das campanhas de controle da malária em regiões de savana do continente Africano.

Os dados do presente trabalho não possibilitam correlacionar as freqüências dos arranjos gênicos detectados com padrões comportamentais de *A. darlingi*, enfocando os parâmetros exofilia e endofilia, em decorrência das condições em que os dados foram obtidos. Os exemplares foram capturados em uma casa que apresentava apenas duas paredes laterais, impossibilitando a distinção entre amostras obtidas em condições intra e extradomiciliares. As fêmeas, neste local, após o repasto sanguíneo, repousavam nos arbustos que circundavam a casa. Porém, os nossos dados, constituem-se nas primeiras informações sobre a dinâmica do polimorfismo cromossômico de *A. darlingi*, em condições naturais. Essas modificações observadas na composição



genética da população, no decorrer dos períodos, poderiam, em algum nível, afetar as características do comportamento e interferir, dessa maneira, nos parâmetros da capacidade vetorial da espécie. Dentre estas, destacamos primeiramente uma situação similar a que ocorre em *A. gambiae* e *A. arabiensis* acima mencionada, pois as populações de *A. darlingi* da Amazônia são altamente polimórficas; uma outra, já ressaltada em trabalhos anteriores (Tadei, 1980; Tadei *et al.*, 1982), trata-se da susceptibilidade diferencial a infecções por *Plasmodium*, correlacionada à constituição cariotípica dos espécimes; e, uma terceira, interrelacionando esses fatores às modificações na densidade populacional de anofelinos e às diferentes taxas de malária que são registradas no decorrer do ano, conforme os períodos das estações chuvosa e seca. Portanto, além dos aspectos evolutivos, os dados de polimorfismo cromossômico de *A. darlingi*, correlacionados a aspectos comportamentais, devem fornecer outros níveis de informações, os quais poderão constituir-se em subsídios para um programa de controle da malária, por métodos primordialmente biológicos.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Professor Doutor Warwick E. Kerr pelas discussões e leitura do manuscrito, ao Professor Doutor Paulo S. Martins pelas sugestões e à Professora Tania M.S.R. Carmo pela revisão do abstract.

#### SUMMARY

Three samples of natural populations of *Anopheles darlingi* from Km 175 of BR-174 Highway (Manaus/Boa Vista) are here analysed concerning the frequency of the inversions. Two samples were collected during the rainy period and a third one in the dry season. The results showed a highly polymorphic character of the *Anopheles darlingi* Amazonia populations and also modifications of the genetic variants, during the samplings. There were changes, in different levels, in the frequencies of the inversions of the three pairs of chromosomes and also as to the frequencies of the three asynapsed regions, one being in chromosome X and two in chromosome 2. Tests of intra and interchromosomal inversion association were made and the checking of the results of each test, in the three samples simultaneously, showed that the same association is not

present in two or three samplings at the same time. These changes in different periods were seen as result of a rearrangement in the structure of the genetic composition of the populations because of environmental modifications.

High frequencies of heterozygotes (near or above 50%) were observed in most of the inversions, but in different levels depending on the inversion and the period of sampling. The mean number of inversions, per individual, in the heterozygote state, also changed during the periods, the highest rate being observed in the rainy season. The results were discussed in relation to the heterogeneity of the Amazonia forests and the species adaptation strategy. The hypothesis the cariotypic constitution of the species could interfere in the parameter of the vector capacity of the species is also discussed.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, W.; DOBZHANSKY, Th.; PAVLOVSKY, O.; POWELL, J.; YARDLEY, D.  
1975 — Genetics of natural populations XLII. Three decades of genetic change in *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution*, 29 (1): 24-36.
- BICUDO, H.E.M.C.; HOSAKI, M.K.; MACHADO, J.; MARQUES, M.C.M.  
1978 — Chromosomal polymorphism in the *saltans* group of *Drosophila* II. Further study on *D. prosaltans*. *Genetics*, 48: 5-15.
- BRNCIC, D.  
1961 — Non random association of inversion in *Drosophila pavani*. *Genetics*, 46: 401-406.
- BRNCIC, D. & KOREF-SANTIBANEZ, S.  
1965 — Geographical variation of chromosomal structure in *Drosophila gasici*. *Chromosoma*, 16: 47-57.
- COLUZZI, M.  
1972 — Inversion polymorphism and adult emergence in *Anopheles stephensi*. *Science*, 176: 59-60.
- COLUZZI, M.; CANCRINI, G.; Di DECO, M.  
1972 — Polimorfismo Cromosomico e Lunghezza dell' uovo in *Anopheles stephensi*. *Parasitologia*, 14: 18-21.
- COLUZZI, M.; Di DECO, M.; CANCRINI, G.  
1974 — Ulteriori osservazioni sulla lunghezza dell' uovo in *Anopheles stephensi* in relazione al polimorfismo cromosomico. *Parasitologia*, 16: 107.
- COLUZZI, M. & KITZMILLER, J.B.  
1975 — *Anopheles* mosquitoes. In: *Handbook of Genetics* — King, R.C. ed. New York, Plenum. v. 3, chapter 12, p. 289-309.

- COLUZZI, M.; SABATINI, A.; PETRARCA, V.; Di DECO, M.A.  
1979 — Chromosomal differentiation and adaptation to human environments in the *Anopheles gambiae* complex. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, 73 (5): 483-497.
- CHARLWOOD, J.D.  
1980 — Observations on the bionomics of *Anopheles darlingi* Root (Diptera, Culicidae) from Brazil. **Bull. Ent. Res.**, 70: 685-693.
- CHOI, Y.  
1977 — Chromosomal Polymorphism in a Korean Natural Population of *Drosophila melanogaster*. **Genetica**, 47 (2): 155-160.
- CHOWDAIAH, B.N. & SEETHARAM, P.L.  
1975 — Chromosome studies of oriental anophelines. IV. Polytene chromosomes of *Anopheles fluviatilis*. **Mosquito News**, 35: 495-500.
- DOBZHANSKY, Th.  
1943 — Genetics of natural populations. IX. Temporal changes in the composition of populations of *Drosophila pseudoobscura*. **Genetics**, 28: 162-186.  
1948 — Genetics natural populations. XVI. Altitudinal and seasonal changes produced by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*. **Genetics**, 33 158-176.  
1973 — **Genética do Processo Evolutivo** São Paulo, EDUSP.
- DOBZHANSKY, Th. & PAVLOVSKY, O.  
1958 — Interracial hybridization and breakdown of coadapted gene complexes in *Drosophila paulistorum* and *Drosophila willistoni*. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 44: 622-629.
- ELLIOTT, R.  
1972 — The influence of vector Behaviour on Malaria Transmissor. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 21: 755-763.
- FERRARONI, J.J. & HAYES, J.  
1979 — Aspectos epidemiológicos da malária no Amazonas. **Acta Amazonica**, 9 (3): 471-479.
- FERRARONI, J.J.; WAKI, S.; SUZUKY, M.  
1977 — Resistência do *Plasmodium falciparum* às cloroquinas no Estado do Amazonas detectada pelo método in vitro. **Acta Amazonica**, 7 (1): 147-148.
- FERREIRA, E.  
1964 — Distribuição geográfica dos anofelinos no Brasil e sua relação com o estado atual da erradicação da malária. **Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais**, 16: 329-348.
- FRENCH, W.L.; BAKER, R.H. & KITZMILLER, J.B.  
1962 — Preparation of mosquito chromosomes. **Mosquito News**, 22: 377-383.
- FORATTINI, O.P.  
1962 — **Entomologia Médica**. São Paulo, Ed. Univ. São Paulo. 1.ª v.
- HAYES, J. & CHARLWOOD, D.C.  
1977 — O *Anopheles darlingi* evita o DDT numa área de malária resistente a drogas. **Acta Amazonica**, 7 (2): 289.  
1980 — Observações sobre a biologia do *Anopheles darlingi* numa área endêmica de malária. **Ciência e cultura, Simpósio III**: 120-122.
- JONES, N.D.R.  
1974 — Inversion polymorphism and circadian flight activity in the mosquito *Anopheles stephensis* List. (Diptera, Culicidae) **Bull. Ent. Res.**, 64: 305-311.
- JONES, M.D.R.; HILL, M.; HOPE, A.M.  
1967 — The circadian flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae*: phase setting by the light regime. **J. Exp. Biol.**, 47: 503-511.
- JONES, M.D.R.; CUBBIN, C.M.; MARSH, D.  
1972 — The circadian rhythm of flight activity of the mosquito *Anopheles gambiae*: the light-response rhythm. **J. Exp. Biol.**, 57: 337-346.
- KERR, W.E.  
1978 — Papel das abelhas sociais na Amazônia. In: **Apicultura em Clima quente**. p. 119-129. In: **Simpósio Internacional**. Flórida.
- KITZMILLER, J.B.  
1970 — Mosquito cytotaxonomy. **J. Parasitol.**, 56 (4): sect. 02, pte 01: 188-189.  
1976 — Genetics, cytogenetics and evolution of mosquitoes. **Advances in Genetics**, 18: 315-433.  
1977 — Chromosomal differences among species of *Anopheles* mosquitoes. **Mosquito Systematics**, 9: 112-122.
- KITZMILLER, J.B.; KREUTZER, R.D.; TALLAFERRO, E.  
1973 — Chromosomal differences in populations of *Anopheles nuneztovari*. **Bull. Wild. Hlth. Org.**, 48: 435-455.
- KREUTZER, R.D.; KITZMILLER, J.B.; FERREIRA, E.  
1972 — Inversion polymorphism in the salivary gland chromosomes of *Anopheles darlingi* Root. **Mosquito News**, 32: 355-365.
- KREUTZER, R.D.; KITZMILLER, J.B.; RABBANI, M.G.  
1975 — The salivary gland chromosomes of *Anopheles argyritarsis* compared with those of certain other species in the subgenus *Nyssorhynchus*. **Mosquito News**, 35 (3): 354-365.  
1976 — Cytogenetically distinguishable sympatric and allopatric populations of the mosquito *Anopheles albitarsis*. **Acta Amazonica**, 6 (4): 473-481.

- KRIMBAS, C.B. & LOUKAS, M.  
1980 — The inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. *Evolutionary Biology*, 12: 163-234.
- LACEY, L.A. & CHARLWOOD, J.D.  
1980 — On the biting activities of some anthropophilic Amazonian Simuliidae (Diptera) *Bull. Ent. Res.*, 70: 495-509.
- LEVITAN, M.  
1955 — Studies of linkage in populations. I. Associations of second chromosome inversions in *Drosophila robusta*. *Evolution*, 9: 62-74.  
1958 — Non-random associations of inversions. *Cold. Spreng Harbor Symp. Quant. Biol.*, 23: 251-268.
- LEVITAN, M. & SALZANO, F.M.  
1959 — Studies of linkage in populations. III. An association of linked inversions in *Drosophila guaramunu*. *Heredity*, 13: 243-248.
- MORAN, E.F.  
1981 — *Developing the Amazonon*. Bloomington, Indiana University Press.
- NARANG, S.; SANTOS, J.M.M.; GARCIA, J.C.; CRISTOKOU, H.D.; NARANG, N.  
1979 — Genética de populações naturais de *Anopheles nuneztovari* e *Anopheles darlingi*. Correlação genética entre espécies *Acta Amazonica*, 9 (3): 529-542.
- SANTOS, J.M.M.  
1979 — *Aspectos biológicos e isoenzimáticos de Anopheles (N) darlingi* Root, 1926 (Diptera, Culicidae). Dissertação de mestrado do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Fundação Universidade do Amazonas.
- SANTOS, J.M.M.; CONTEL, E.P.B.; KERR, W.E.  
1981 — Biologia de anofelinos amazônicos. 2. Fêmeas de *Anopheles darlingi* produzem filhos de um só macho. *Acta Amazonica*, 11 (2): 413-414.
- TADEI, W.P.  
1980 — Diferenças cromossômicas entre espécies e populações de *Anopheles*. *Acta Amazonica*, 10 (2): 369-377.
- TADEI, W.P. & CORREIA, J.M.  
1982 — Biologia de anofelinos Amazônicos. IV. Observações sobre a atividade de picar de *Anopheles nuneztovari* Gabaldon (Diptera, Culicidae). *Acta Amazonica*, 12 (1): 71-74.
- TADEI, W.P.; SANTOS, J.M.M.; RABBANI, M.G.  
1982 — Biologia de anofelinos Amazônicos. V. Polimorfismo cromossômico de *Anopheles darlingi* Root (Diptera, Culicidae). *Acta Amazonica*, (no prelo).
- VAN-THIEL, P.H.  
1962 — Malaria problems arising from the construction of a reservoir in the interior of Surinam. *Trop. Geog. Med.*, 14: 259-278.
- WHITE, G.B.  
1974 — Biological effects of intraspecific chromosomal polymorphism in malaria vector populations. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 50: 299-306.
- WHITE, G.B.; COLUZZI, M.; ZAHAL, A.R.  
1975 — *Review of cytogenetic studies on anopheline vectors of malaria*. WHO/MAL/75.849-WHO/VBC/75.538.
- WOLDA, H. & GALINDO, P.  
1981 — Population Fluctuations of mosquitoes in the non-seasonal tropics. *Ecological Entomology*, 6: 99-106.

(Aceito para publicação em 03/11/82)