Biologia de Anofelinos amazônicos. V. Polimorfismo cromossômico de **Anopheles darlingi** Root (Diptera, Culicidae)⁽¹⁾

Wanderli Pedro Tadei (²)
Joselita Maria Mendes dos Santos (³)
Mohammad Ghulan Rabbani (⁴)

Resumo

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

INTRODUÇÃO

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

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

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

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

MATERIAL E MÉTODOS

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

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

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

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

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

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

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

RESULTADOS

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

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

No presente trabalho, a análise da amostra da população do Km 137 da BR-174 revelou duas novas inversões e três regiões de despareamento (Fig. 1). Uma inversão está localizada no cromossomo 2R, na região proximal e a outra no cromossomo 3R, entre as inversões (3R)1 e (3R)2. Uma das regiões de despareamento está localizada na extremidade proximal do cromossomo X; a segunda na extremidade distal do 2R e a terceira no início do último terço na extremidade proximal do cromossomo 2L. Na determinação dos limites das duas inversões e das regiões de despareamento foi utilizado o mapa cromossômico proposto por Kreutzer et al. (1972), o qual é considerado como arranjo padrão tendo sido preparado pelos autores a partir de uma população de Manaus.

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

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

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

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

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

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

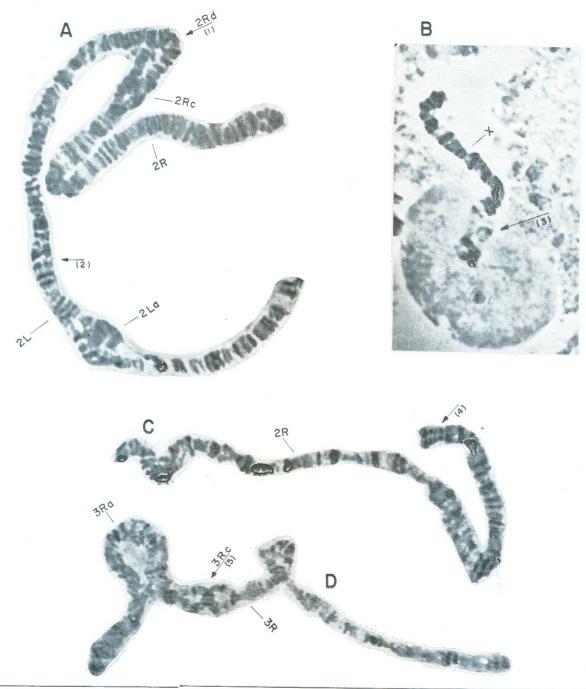


Fig. 1 — A — Inversão 2Rd do braço 2R (seta 1) e região de despareamento do braço 2L (seta2). B — Despareamento da região proximal do cromossomo X (seta 3) e associação ao nucléolo, indicando que este cromossomo é organizador do nucléolo. C — Despareamento da região distal do braço 2L (seta4). D — Inversão 3Rc do braço 3R (seta5).

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

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

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

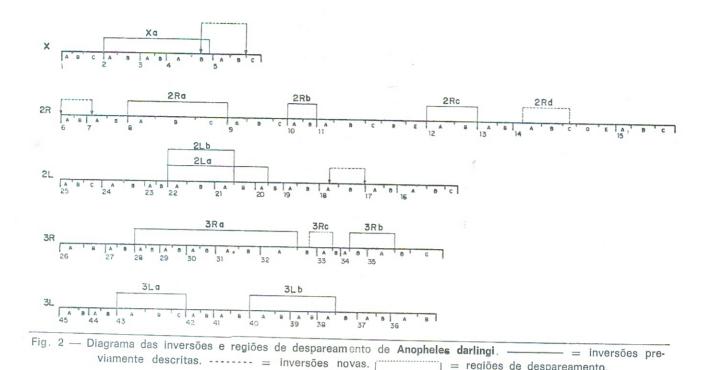
TABELA 1 — Inversões de Anopheles darlingi com as denominações de Kreutzer et al. (1972) e as adotadas neste trabalho.

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

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

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

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



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

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

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

| = regiões de despareamento.

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

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

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

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

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

			descendentes	descendentes		
Cromossomo	total de fêmeas analisadas	fêmeas que produ- ziram descendentes com despareamento	analisados em cada caso	pareamento normal	despareamento	
		13(41)	3	1	2	
X	32	13(41)	6	1	5	
			2	0	2	
			5	3	2	
			3	1	2	
			5	4	1	
			6	0	6	
			4	3	1	
			5	4	1	
			2	1	1	
			4	3	1	
			4	3	1	
			1	0	1	
			total 50	24(48)	26(52)	
		7(24)	5	1	4	
2R	29	1(24)	5	3	2	
			4	3	1	
			5	4	1	
			4	2	2	
			5	0	5	
			4	3	1	
			total 32	16(50)	16(50)	
		16(52)	4	2	2	
2L	31	10(02)	5	4	1	
			5	4	1	
			3	2	1	
			7	4	3	
			5	2	3	
			5	4	1	
			5	4	1	
			5	3	2	
			4	3	1	
			4	3	1	
			4	2	2	
			3	2	1	
			5	3	2	
			5	2	3	
			4	0	4	
			total 73	44(60)	29(40)	
			total 13	44(00)		

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

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

(Xi² = 5,557; P < 0,05). Para as combinações 2Ra x 2Rb (dentro de cada braço cromossômico) e 2Ra x 2Lb (entre os braços de cada cromossomo) o qui-quadrado não foi calculado pois existem freqüências esperadas abaixo de 5. Entretanto, os valores observados e esperados são próximos, tornando evidente que não existem diferenças significativas. Porém em relação a 2Ra x 2Rc os dados não permitem conclusões.

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

tre os cromossomos X e 2 não ocorreram combinações significativas. Das quatro combinações possíveis entre os cromossomos X e 3. duas apresentaram desvios significativos - $Xa \times 3Rb (X_1^2 = 4,549; P < 0,05) e Xa \times 3lb$ $(X_1^2 = 4.933; P < 0.05)$. Os testes entre as 16 combinações para os cromossomos 2 e 3 evidenciaram que 2Rc x 3Ra e 2Lb x 3Ra não se distribuem ao acaso e os valores de quiquadrado foram, respectivamente, 5,135; P < 0,05 e 5,754; P < 0,05. Pelas mesmas razões já expostas quando da descrição da tabela 6, o qui-quadrado não foi calculado para as combinações Xa x 2Ra, Xa x 2Rc, 2Ra x 3Ra, 2Ra x 3Rb, 2Ra x 3La, 2Ra x 3Lb e 2Rc x 3Lb. Contudo, a observação dos dados possibilita verificar que não existem desvios estatisticamente sig-

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

Cromossomo	Inversão	Número de descendentes	Arranjo	Arranjos observados		
	mversao	analisados	PP	PI	11	
X	Xa	77	75	25	0	
2R	2Ra	94	85	5	10	
	2Rb	98	37	63	0	
	2Rc	105	13	84	3	
	2Rd	105	_	24		
2L	2Lb	118	29	63	8	
3R	3Ra	111	49	48	3	
	3Rb	89	46	54	0	
	3Rc	89	_	18	_	
3L	3La	111	39	60	1	
	3Lb	100	65	32	3	

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

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

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

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

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

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

DISCUSSÃO

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

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

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

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

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

Cromossomo	Inversões	Larvas computadas		PxP	РхН	HxP	НхН	χ_1^2
2R	2Ra x 2Rb	82	obs.	33	45	3	1	
			esp.	34,24	43,76	1,76	2,24	+
	2Ra x 2Rc	83	obs.	9	70	3	1	
			esp.	11,42	67,58	0,58	3,42	+
	2Rb x 2Rc	95	obs.	6	30	5	54	
			esp.	4,17	31,83	6,83	52,17	1,463
3R	3Ra x 3Rb	84	obs.	21	28	19	16	
			esp.	23,33	25,67	16,67	18,33	1,066
3L	3La x 3Lb	95	obs.	32	9	33	21	,,,,,,
			esp.	28,05	12,95	36,95	17,05	3,098
2	2Ra x 2Lb	83	a.b.a					0,000
-	ZIIG X ZED	03	obs. esp.	26 26,65	53 52,35	2	2	
	aph v alh	00				1,35	2,65	+
	2Rb x 2Lb	92	obs.	12	24	17	39	
	North Table		esp.	11,35	24,65	17,65	38,35	0,089
	2Rc x 2Lb	97	obs.	4	9	30	54	
			esp.	4,56	8,44	29,44	54,56	0,122
3	3Ra x 3La	99	obs.	20	28	24	27	
			esp.	21,33	26,67	22,67	28,33	0,290
	3Ra x 3Lb	91	obs.	28	21	31	11	
			esp.	31,77	17,23	27,23	14,77	2,756
	3Rb x 3La	84	obs.	19	21	24	20	,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,,
			esp.	20,48	19,52	22,52	21,48	0,418
	3Rb x 3Lb	84	obs.	30	10	22		0,170
	100 CT 00 CT		esp.	24,76	15,24	27,24	22 16,76	5,557*

^{*} = P < 0.05; + = qui-quadrado não calculado.

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

Cromossomo	Inversões	Larvas computadas		PxP	РхН	НхР	H×H	X ₁ ²
X × 2	Xa x 2Ra	55	obs.	41	1	10	3	
X X Z	12		esp.	38,95	3,05	12,05	0,95	+
	Xa x 2Rb	65	obs.	22	29	8	6	
			esp.	23,54	27,46	6,46	7,54	0,869
	Xa x 2Rc	66	obs.	4	47	5	1.0	
			esp.	6,95	44,05	2,05	12,95	+
	Xa x 2Lb	68	obs.	17	35	5	11	
			esp.	16,82	35,18	5,18	10,82	0,012
X x 3	Xa x 3Ra	70	obs.	31	20	10	9	
			esp.	29,87	21,13	11,13	7,87	0,380
	Xa x 3Rb	68	obs.	35	17	6	10	
			esp.	31,35	20,65	9,65	6,35	4,549*
	Xa x 3La	72	obs.	25	28	7	12	
			esp.	23,56	29,44	8,44	10,56	0,600
	Xa x 3Lb	67	obs.	38	12	8	9	
	/\land		esp.	34,33	15,67	11,67	5,33	4,933
2 x 3	2Ra x 3Ra	66	obs.	27	36	2	1	
			esp.	27,68	35,32	1,32	1,68	+
	2Ra x 3Rb	73	obs.	38	30	3	2	
			esp.	38,19	29,81	2,81	2,19	+
	2Ra x 3La	82	obs.	37	40	3	2	
	Ziid X GZd		esp.	37,56	39,44	2,44	2,56	+
	2Ra x 3Lb	79	obs.	55	19	5	0	
	ZIIA X OLD		esp.	56,20	17,80	3,80	1,20	+
	2Rb x 3Ra	97	obs.	18	18	35	26	
	2110 X 311a		esp.	19,67	16,33	33,33	27,67	0,497
	oph w oph	85	obs.	17	16	24	28	
	2Rb x 3Rb	65	esp.	15,92	17,08	25,08	26,92	0,231
	0.01 01 -	00	obs.	20	16	24	32	
	2Rb x 3La	92	esp.	17,22	18,78	26,78	29,22	1,413
	12. 1	0.0		29	7	36	18	
	2Rb x 3Lb	90	obs.	26,00	10,00	39,00	15,00	2,077
	1.51 1.21	440	esp.		3	41	45	_,
	2Rc x 3Ra	110	obs.	11 6,62	6,11	45,38	41,89	5,135
		200	esp.		5	36	33	0,.50
	2Rc x 3Rb	79	obs.	5 5 10	4,81	35,81	33,19	0,017
	3723 1227		esp.	5,19	7	37	38	0,011
	2Rc x 3La	89	obs.	7	7,08	37,08	37,92	0,002
		1277	esp.	6,92				0,000
	2Rc x 3Lb	91	obs.	9	5	56 55.00	21 22,00	_1
		67228	esp.	10,00	4,00	55,00		+
	2Lb x 3Ra	101	obs.	12	21	42	26	5,75
			esp.	17,64	15,36	36,36	31,64	5,75
	2Lb x 3Rb	85	obs.	10	16	31	28	4 404
			esp.	12,54	13,46	28,46	30,54	1,432
	2Lb x 3La	94	obs.	16	14	26	38	4.00
			esp.	13,40	16,60	28,60	35,40	1,33
	2Lb x 3Lb	94	obs.	23	6	42	23	
			esp.	20,05	8,95	44,95	20,05	2,03

 $^{^{\}bullet}$ = P < 0,05; + = qui-quadrado não calculado.

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

Inversão	Larvas computadas		P X desp	P x homo	H x desp	H x homo	χ_1^2
Xa	77	obs. esp.	15 17,32	43 40,68	8 5,68	11 13,32	1,795
2Ra	84	obs. esp,	11 11,28	68 67,71	1 0,72	4 4,29	+
2Rb	92	obs. esp.	6 5,09	30 30,91	7 7,91	49 48,09	0,311
2Rc	96	obs. esp.	2 1,25	10 10,75	8 8,75	76 75,25	+
2Lb	108	obs. esp.	11 7,94	22 25,06	15 18,06	60 56,94	2,236

^{+ =} qui-quadrado não calculado

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

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

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

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

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

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

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

As variações acima mencionadas podem ser interpretadas como respostas seletivas diferentes das variantes genéticas, que não são Igualmente adaptativas para os vários nichos ecológicos explorados pela espécie. Variações nas freqüências de arranjos gênicos, ao longo da área de distribuição de uma determinada espécie, têm sido extensivamente observadas em Drosophila. Diferenças, quer qualitativas, quer quantitativas, foram verificadas em D. guaramunu (Brncic, 1953; Salzano, 1955), D. pseudoobscura e D. persimilis (Dobzhansky, 1956; Anderson et al., 1975), D. robusta (Carson, 1958), D. athabasca (Miller & Volker, 1972), D. prosaltans (Bicudo, 1973; Bicudo et al., 1978), D. subobscura (Krimbas & Loukas, 1980) e outras. No gênero Anopheles, diferenças quanto ao polimorfismo cromossômico têm sido utilizadas para caracterização de espécies como, por exemplo, no complexo A. maculipennis da Europa, complexo A. gambiae da África. Em A. albitarsis, Kreutzer et al. (1976) identificaram três populações dessa espécie que diferem quanto aos arranjos gênicos.

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

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

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

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

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

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

A observação das frequências dos arranjos das inversões possibilita verificar a ocorrência de heterozigotos em freqüências superiores a $50\,\%$ e os números são estatisticamente significativos, na maioria dos casos. Estes resultados são indicativos de que em populações naturais de Anopheles darlingi, os heterozigotos apresentam valor adaptativo superior, ocorrendo seleção contra os homozigotos. A seleção natural estabeleceria então uma situação de polimorfismo balanceado. Estudos em populações naturais de Drosophila têm proporcionado evidências de que o polimorfismo cromossômico é usualmente balanceado. Dobzhansky & Pavlovsky (1958) estudando populações de Drosophila willistoni, D. paulistorum e D. tropicalis verificaram que em algumas populações dessas espécies da América do Sul, mais da metade dos indivíduos encontrados na natureza são heterozigotos para certas inversões. No presente trabalho, embora os dados apresentados resultem da análise de 118 indivíduos que não foram coletados diretamente da natureza, mas são descendentes F1 de 32 fêmeas inseminadas na natureza, constituem elementos indicativos de que em populações naturais de Anopheles darlingi poderia ocorrer uma estrutura genética semelhante à verificada por Dobzhansky & Pavlovsky para as três espécies de Drosophila acima citadas.

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

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

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

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

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

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

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

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

AGRADECIMENTOS

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

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

SUMMARY

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

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

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

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, W.; DOBZHANSKY, Th.; PAVLOVSKY, O.; POWELL, J.R. & YARDLEY, D.

1975 — Genetics of natural populations. XLII. Three decades of genetic change in Drosophila pseudoobscura. Evolution, 29: 24-36.

BICUDO, H.E.M.C.

1973 — Chromosomal polymorphism in the saltans group of **Drosophila**. I. The saltans subgroup. **Genetica**, 44: 520-552.

BICUDO, H.E.M.C.; HOSAKI, M.K.; MACHADA, J. & MARQUES, M.C.N.

1978 — Chromosomal polymorphism in the saltans group of Drosophila. II Further study on D. prosaltans. Genetica, 48: 5-15.

BRNCIC, D.

1953 — Chromosomal variation in natural populations of Drosophila guaramunu. Z. indukt. Abstamm.-u, Vererblehre, 85: 1-11.

CARSON, H.L.

1953 — The effects of inversions on crossing over in **Drosophila robusta**. **Genetics**, 38: 168-186.

1958 — The population genetics of Drosophila robusta. Adv. Genet., 9: 1-40.

CARSON, H.L.; CLAYTON, F.E. & STALKER, H.D.

1967 — Karyotype stability and speciation in Hawaiian Drosophila. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash), 57, 1280.

COLUZZI, M.; DI DECO, M. & CANCRINI, G.

1973 — Chromosomal inversions in Anopheles stephensi. Parassitologia, 15: 129.

COLUZZI, M. & KITZMILLER, J.B.

1975 — Anopheline mosquitoes. In: Handbook of Genetics (R.C. King. ed.) vol. 3, Chapter 12, pp. 289-309. New York. Plenum. DA CUNHA, A.B.

1955 — Sobre duas raças de Drosophila neocardini Streisinger. Rev. Brasil. Biol., 15: 117-125.

DA CUNHA, A.B.; BURLA, H. & DOBZHANSKY, Th.

1950 — Adaptive chromosomal polymorphism in Drosophila willistoni. Evolution, 4 212-235.

DA CUNHA, A.B. & DOBZHANSKY, Th.

1954 — A further study of chromosomal polymerphism in Drosophila willistoni in its relation to the environmen. Evolution, 8, 119-134.

DEANE, L.M.

1947 — Observações sobre a malária na Amazônia brasileira. Rev. Serv. Esp. Saúde Pub., 1:

DOBZHANSKY, Th.

1956 — Genetics of natural populations XXV. Genetic changes in populations of Drosophila pseudoobscura and Drosophila persimilis in some localities of California. Evolution, 10:

1973 — Genética do Processo Evolutivo. São Paulo, EDUSP.

DOBZHANSKY, Th. & EPLING, C.

1948 — The suppression of crossing over in inversion heterozigotes of Drosophila pseudoobscura Proc. Nat. Acad. Sci., 34: 137-141.

DOBZHANSKY, Th. & PAVLOVISKY, O.

1958 — Interracial hybridization and breakdown of coadapeted gene complexes in Drosophila paulistorum and Drosophila willistoni Proc. Natl. Acad. Sci., 44: 622-629.

EUGENEV, M.B.

1970 — The interchromosomal effect of inversions on crossing over in the interspecific D. virilus x D. texana hybrids Genetika (USSR), 2: 68-72.

1971 — The pattern of polytene chromosome conjugation and crossing-over in interspecific hybrids of Drosophila. Theoret. Appl. Genetics, 41: 249-254.

FERRARONI, J.J. & HAYES, J.

1979 — Aspectos epidemiológicos da malária no Amazonas. Acta Amazonica, 9: 471-479.

FERRARONI, J.J.; WAKI, S. & SUZUKY, M.

1977 — Resistência do **Plasmodium falciparum** às cloroquinas no Estado do Amazonas detectada pelo método in vitro. Acta Amazonica, 7: 147-148.

FERREIRA, E.

1964 — Distribuição geográfica dos anofelinos no Brasil e sua relação com o estado atual da erradicação da malária. Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais, 16: 329-348.

FORATTINI, O.P.

1962 — Entomologia Médica. 1.º volume. São Paulo, Editora Univ. São Paulo.

FRENCH, W.L.: BAKER, R.H. & KITZMILLER, J.B.

1962 — Preparation of mosquito chromosomes. Mosquito News, 22: 377-383.

GUEDES, A.S.; AMORIM, E.M. & SCHRÜBER, G.

1957 — Análise dos cromossomos salivares em anofelinos brasileiros. Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais, 9: 247-250.

HAYES, J. & CHARLWOOD, D.C.

1977 — O Anopheles darlingi evita o DDT numa área de malária resistente a drogas. Acta Amazonica, 7: 289.

KITZMILLER, J.B.

1976 — Genetics, cytogenetics and evolution of mosquitoes. Advances in Genetics, 18: 315-433.

1977 — Chromosomal differences among species of Anopheles mosquitoes Mosquito Systematics, 9: 112-122.

KREUTZER, R.D.; KITZMILLER, J.B. & FERREIRA, E.

1972 — Inversion polymorphism in the salivary gland chromosomes of Anopheles darlingi Root. Mosquito News, 32: 355-365.

KREUTZER, R.D.; KITZMILLER, J.B. & RABBANI, M.G.

1976 — Cytogenetically distinguishable sympatric and allopatric populations of the mosquito Anopheles albitarsis Acta Amazonica, 6 (4): 473-481.

KRIMBAS, C.B. & LOUKAS, M.

1980 — The inversion polymorphism of Drosophila subobscura Evolutionary Biology, 12: 163-

LEVITAN, M.

1958 — Non-random associations of inversions. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 23: 251-268.

LEVITAN, M. & SALZANO, F.M.

1959 — Studies of linkage in populations. III. An association of linked inversions in Drosophila guaramunu. Heredity, 13: 243-248.

MILLER, D.D. & VOLKER, R.A.

1972 — Salivary gland chromosome variantion in the Drosophila affinis sub-group. V. The B and E chromosomes of "Western" and "Eastern" Drosophila athabasca. J. Hered. 63: 2-10.

MORGAN, T.H.; BRIDGES, C.B. & SCHULTZ, J.

1930 — The constitution of the germinal material Yearb. Carneg. in relation to heredity. Inst. Wash., 29: 352-359.

PESSOA, S.B. & MARTINS, A.V.

1978 — Parasitologia Médica. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A.

RACHOU, R.G.

1958 — Algumas manifestações de resistência de comportamento de insetos aos inseticidas no Brasil. Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais, 10: 277-290.

SALZANO, F.M.

1955 — Chromosomal polymorphism in two species of the guarani group of Drosophila. Chromosoma, 7: 39-50.

SCHREIBER, G. & GUEDES, A.S.

- 1960 Perspectivas citológicas na sistemática dos anofelinos (S.G. Nyssorhynchus). Rev. Bras. Malariol. D. Tropicais, 12: 355-358.
- 1961 Cytological aspects of the taxonomy of anophelinos (subgenus Nyssorhynchus). Bull. WLD. Hith. Org., 24: 657-658.

SCHULTZ, J. & REDFIELD, H.

1951 — Interchromosomal effects on crossing over in Drosophila. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16: 175-197.

STURTEVANT, A.H. & BEADLE, G.W.

1936 — The relations of inversions in the X-chromosome of Drosophila melanogaster to crossing over and disjunction. Genetics, 21: 554-604.

WASSERMAN, M.

1963 — Cytology and phylogeny of Drosophila. Amer. Nat., 896: 333.

WHITE, G.B.

1974 — Biological effects of intraspecific chromosomal polymorphism in malaria vector populations. Buil Wld Hlth Org., 50: 299-306.

(Aceito para publicação em 05/08/81)

INSTITUTO NACIONAL DE - 369 PESQUISAS DA AMAZÔNIA INPA - CODC