

**ANÁLISES DE ISOENZIMAS ESTERÁSICAS EM LINHAGENS BRASILEIRAS
DE *Drosophila immigrans* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)**

**ANALYSES OF ESTERASE ISOZYMES IN BRAZILIAN STRAINS
Drosophila immigrans (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)**

Muracy BÉLO¹
Carlos Roberto CERON²
João Ademir de OLIVEIRA³

RESUMO

*Análises em géis de poliacrilamida de dez linhagens brasileiras de *Drosophila immigrans*, coletadas nos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo e Distrito Federal, mostraram que esta espécie apresenta 18 bandas com atividade esterásica, as quais foram incluídas em nove sistemas de isoenzimas. Algumas bandas foram específicas de larvas, enquanto outras ocorreram preferencialmente nos adultos. Esterases sexo-específicas também foram detectadas. Algumas bandas foram consideradas obrigatórias e outras facultativas. Os dados indicam que populações de laboratório não apresentaram diferenças específicas em relação aos padrões das isoenzimas esterásicas, comparadas às linhagens selvagens. Foram propostos padrões de herança para cada um dos sistemas das isoenzimas esterásicas e discutidos os efeitos da seleção natural nas populações das linhagens analisadas, apesar de que apenas três linhagens apresentaram diferenças significativas para as proporções de Hardy-Weinberg.*

Palavras-chave: *D. immigrans*, esterases, polimorfismos.

ABSTRACT

*Analyses in polyacrylamide gels of ten Brazilian strains of *Drosophila immigrans*, collected in the states of Rio Grande do Sul, São Paulo and Federal District, showed that this species HAS bands with esterase activity, which were included in nine isozyme systems. Some bands were specific for larvae, while others tended to occur primarily in adults. Also, sex-specific bands were found among the esterases. Some bands were considered as obligatory, while others were optional. The data indicates that laboratory populations did not present specific differences in esterase isozyme patterns in comparison*

¹ Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária – FCAV-UNESP – 14884-900 – Jaboticabal – SP – Brasil – Autor para correspondência: E-mail: mbelo@fcav.unesp.br

² Departamento de Química e Ciências Ambientais – IBILCE-UNESP – 15054-000 – São José do Rio Preto – SP – Brasil.

³ Departamento de Ciências Exatas – FCAV-UNESP – 14884-900 – Jaboticabal – SP – Brasil.

to wild populations. Inheritance patterns were proposed for each one of the esterase isozyme systems analysed, and a discussion about the role of natural selection was made, in spite of only three strains presenting significant differences according to Hardy-Weinberg proportions.

Key words: *D. immigrans*, esterases, polymorphisms.

INTRODUÇÃO

Drosophila immigrans é uma espécie que apresenta bom desenvolvimento nos meios de cultura comumente usados nos laboratórios, mas que tem sido pouco empregada em pesquisas, apesar do seu fácil manejo. Segundo THROCKMORTON (1975) sua origem, juntamente com outras espécies do grupo, deve ser de regiões tropicais ou subtropicais da Ásia, de onde se espalhou, tornando-se cosmopolita (BRNCIC, 1970).

No Brasil, esta espécie não foi capturada em localidades do estado do Pará (MARTINS, 1989) parecendo ser mais adaptada aos períodos e regiões mais frias (FREIRE-MAIA *et al.*, 1953). Em coletas realizadas no estado de São Paulo por BÉLO & GALLO (1977), BÉLO & OLIVEIRA^F (1978), MOURÃO (1966) e PAVAN (1957), não foi uma espécie comum, sendo encontrada em associações com o homem, em jardins, quintais, pomares e plantações de frutíferas. Na ilha de Santa Catarina, exemplares foram capturados na mata Atlântica por TONI & HOFMANN (1995). A sua presença foi assinalada por SENE *et al.* (1980) em florestas, áreas de restinga e cerrados, mas não em caatingas e nas regiões costeiras do Rio Grande do Sul. Neste estado, a sua presença foi detectada no Parque de Itapuã e no Parque do Turvo por VALENTE & ARAÚJO (1995).

A distribuição de *D. immigrans*, em pomares, mostrou segundo OAKESHOTT *et al.* (1989) que os aumentos das suas populações estavam relacionadas com os aumentos de bactérias e leveduras não fermentadoras nos frutos. A coexistência de *D. immigrans* com outras espécies de *Drosophila* foi verificada em plantações de laranjas na Califórnia, onde os fatores importantes para o sucesso das associações foram: a podridão dos frutos e a colonização precoce (NUNNEY, 1990). A análise da invasão de espécies de *Drosophila* em plantações de morangos, na Espanha, mostrou que a idade dos frutos relativamente mais frescos e os efeitos estocásticos das chegadas das moscas afetaram o sucesso da colonização das espécies mais comuns, como *D. simulans*, *D. immigrans* e *D. obscura* (HODGE & ARTHUR, 1996).

No Equador, a presença de *D. immigrans* foi detectada em Galápagos, Guayas, Chimborazo e Pichinchapor VIOLETA & VELA (2000). No Chile, a espécie é bem distribuída e comum, ocorrendo em ambientes naturais, como matas e regiões desérticas, sob condições ecológicas adversas, tolerando baixas temperaturas. A distribuição vertical, nos Andes (BRNCIC, 1970), mostra a sua presença desde o nível do mar até altitudes de 1500 m. Em duas localidades da cidade de Montevideo, no Uruguai, GOÑI *et al.* (1997) verificaram que *D. immigrans* foi dominante no outono e *D. simulans* na primavera, em um local; em outro, ambas espécies tiveram períodos de dominância no inverno e *D. immigrans* predominou no verão e inverno. No Havaí, populações de *D. immigrans* mostraram possuir variabilidade enzimática equivalente às populações endêmicas (STEINER *et al.*, 1976).

Na parte central do Japão, populações de *D. immigrans* não tiveram capacidade de sobreviver às temperaturas abaixo de 1,5 °C, mesmo em regiões de baixa altitude. Entretanto, em regiões de alta altitude, foram encontrados indivíduos sobreviventes, os quais foram originados de moscas que se refugiaram em habitações humanas (KIMURA & BEPPU, 1993). Estudos posteriores relataram mudanças qualitativas e quantitativas nos lipídeos de reserva em relação à adaptação à temperatura, em uma espécie de região temperada (*D. curviceps*) e em outras duas de origem subtropical (*D. immigrans* e *D. albomicans*), sendo que *D. immigrans* mostrou um comportamento adaptativo intermediário em relação ao frio e ao calor (OHTSU *et al.*, 1999).

Análises em amostras de moscas provenientes dos estados de Minas Gerais, Paraná e Rio Grande do Sul, revelaram a existência de apenas um tipo de inversão cromossômica (FREIRE-MAIRA *et al.*, 1953). A existência de três tipos destes arranjos cromossômicos nas populações chilenas, uma no braço esquerdo (A), como a encontrada nas populações brasileiras e duas (B e C) no braço direito do cromossomo II, sugeriram que as inversões de *D. immigrans* poderiam estar correlacionadas com

diferentes adaptações para o meio ambiente (BRNCIC, 1955).

Os objetivos deste trabalho foram caracterizar os padrões das isoenzimas esterásicas presentes em diferentes populações brasileiras de *D. immigrans*, analisar a sua herança e variabilidade, comparar as relações de similaridades e as diferenças entre larvas e adultos, entre e dentro das linhagens.

MATERIAL E MÉTODOS

Duas linhagens empregadas neste trabalho foram capturadas no Rio Grande do Sul, uma na cidade de Porto Alegre e outra em área de preservação ambiental do Parque Florestal do Turvo (17,941 ha), constituída por floresta densa, úmida, subtropical. Outras linhagens foram coletadas em uma fazenda no cerrado, próxima a Brasília (DF), em plantação de laranjas no município de Olímpia (SP), e em uma pequena mata (capão) com árvores altas, localizada no Câmpus da FCAV-UNESP, no município de Jaboticabal (SP). Estas linhagens foram denominadas de selvagens e analisadas logo após as suas coletas. Em mata maior que a anterior, mas também dentro do câmpus universitário, outras linhagens foram capturadas e designadas de Lab-8, Lab-10, Lab-II, Lab-15 e Lab-25, sendo denominadas de linhagens de laboratório, pois foram mantidas em câmara a 25°C, por cerca de três anos, antes de serem analisadas.

Para análise eletroforética a metodologia empregada foi a de DAVIS (1964) e LAEMMLI (1970), a qual foi ligeiramente modificada por CERON (1988) para análise dos padrões das isoenzimas esterásicas. As soluções e tampões empregados no preparo dos géis foram os seguintes: solução de acrilamida/bis (30 g de acrilamida e 0,8 g de bisacrilamida, para 100 ml de água), tampão do gel 4x (Tris 1,5 M, pH 8,8, ajustado com HCl 6 M), solução de persulfato de amônio a 2% e Temed. Os componentes dos géis montados a 10% de concentração foram os seguintes: água (21 ml), tampão do gel (12,5 ml), solução acrilamida/bis (16 ml), solução de persulfato de amônia (0,8 ml) e Temed (50 µl). As moscas foram maceradas a 0°C, em 50 µl do tampão da amostra (Tris 0,1 M, 2 ml de glicerol, 0,2 ml de sol. de azul de bromofenol a 0,01% e água para 20 ml) e centrifugadas por quatro minutos a 4000xg, sendo empregados 20 µl do sobrenadante de cada indivíduo. O número de moscas analisadas em cada gel foi 15.

A eletroforese deu-se por quatro horas, a 200 V. Para revelação das isoenzimas esterásicas empregou-se 100 ml de tampão fosfato (0,1 M, pH 6,2), 10 ml de n-propanol, 150 mg de Fast Blue BB salt, 80 mg de α-naftil acetato e 60 mg de β-naftil acetato. A coloração foi realizada durante 60 minutos.

As bandas foram identificadas por números (COELHO-RITS, 1997 e NARANG et al., 1976) e também reunidas em grupos ou zonas do gel. A banda mais rápida, resultante da maior migração, recebeu a numeração 1 e as que se seguiram foram numeradas consecutivamente de acordo com a posição ocupada no gel.

As bandas que apresentaram características similares nos padrões de migração, espessura e coloração foram incluídas no mesmo grupo ou zona, sendo diferenciadas com letras maiúsculas de A até I. Assim, em um grupo ou zona, foram incluídas bandas semelhantes que, devido a migração, geralmente estavam próximas no gel. Outro aspecto que serviu para diferenciar as bandas e caracterizar grupos ou zonas, foi a especificidade de coloração para o α ou β-naftil acetatos ou a ambos, apresentando, respectivamente, as colorações preta ou/e vermelha.

A diversidade das isoenzimas esterásicas foi analisada de acordo com o índice de Shannon-Weiner: $H' = -\sum p_i/N \cdot \log_2 p_i/N$, onde P_i é o número de indivíduos com uma banda determinada, e N é o número de moscas analisadas.

As avaliações das relações entre as linhagens de *D. immigrans* foram baseadas nas frequências dos padrões apresentados pelas bandas das isoenzimas esterásicas, através da análise multivariada de agrupamentos, o que permitiu a construção de dendogramas, nos quais estão representadas as similaridades das distribuições dos grupos formados (SNEATH & SOKAL, 1973).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As comparações entre os zimogramas das isoenzimas esterásicas encontradas em larvas e imagos (Figura 1) das linhagens de *D. immigrans* mostraram a existência de 18 bandas, que foram reunidas em nove grupos ou zonas. As frequências das isoenzimas, em larvas e imagos, o número de indivíduos analisados e os valores obtidos para o índice de diversidade das esterases estão nas Tabelas 1 e 2.

Os zimogramas da Figura 1, representam todas as bandas esterásicas detectadas nas larvas e adultos de todas as linhagens avaliadas neste trabalho. Os sistemas monomórficos estão representados pelas bandas 18 (I), 17 (H), 6 (D) e 5 (C). As duas primeiras bandas só ocorreram nos adultos. A banda 17 mostrou-se com coloração escura, existindo só nas linhagens de Brasília (25%), Lab-II (13%) e Turvo (9%). A banda 18 é de coloração vermelha e fina, esteve presente em todas linhagens. Esta banda ocorreu em 48% dos machos, não sendo detectada nas fêmeas.

A banda 5 apresentou especificidade de coloração para o β naftil acetato. É uma banda obrigatória, pois esteve presente em todos os indivíduos (Tabelas 1 e 2). Nos adultos, apresentou-se de forma espessa e distinta, com coloração vermelho-forte; nas larvas, a sua coloração foi bem fraca e discreta, devido provavelmente à menor atividade fisiológica. A banda 6 apresentou coloração diferencial, amarelo-avermelhada, ocorreu em 99% das larvas, não sendo detectada nos adultos. Os mecanismos de herança dos sistemas monomórficos estão provavelmente relacionados à presença de um

locus invariante (C e D), ou em alguns casos (I e H) deve ter a presença de dois alelos, sendo um “nulo”. Tem sido enfatizada por NARANG *et al.* (1976) a necessidade de estudos sobre estes alelos, onde a falta de bandas nos homozigotos, provavelmente, deve-se a uma proteína inativa ou de forma tal que implicaria a falta da mesma.

As bandas 13, 14, 15 e 16 foram incluídas no grupo G, são finas e apresentam especificidade de coloração para o β naftil acetato. A banda 13 só foi encontrada em larvas da linhagem Lab-10 (81%), Porto Alegre (85%) e Olímpia (7%). A banda 14 ocorreu em larvas da linhagem Lab-10 (2%) e nas larvas (12%) e adultos (11%) da linhagem de Porto Alegre. A 15 foi comum nas larvas e adultos; enquanto que a banda 16 ocorreu apenas nas larvas das linhagens de Jaboticabal (33%) e Lab-10. Nos adultos, com exceção da linhagem Lab-11, ocorreram em representantes de todas as linhagens (Tabelas 1 e 2). Como não foi encontrado nenhum indivíduo com mais de duas bandas, o tipo de herança destas enzimas pode ser proposto como modelo de um locus com quatro alelos.

Tabela 1. Números de larvas analisadas (N°), índice de diversidade para as isoenzimas (\bar{H}) e freqüências das bandas esterásicas das linhagens de *Drosophila immigrans*.

Sistemas	Bandas	Linhagens Analisadas					
		Brasília	Jaboticabal	Lab-10	Olímpia	Porto Alegre	Turvo
A	1	0,0000	0,0000	0,0000	0,3654	0,0192	0,0128
	2	0,0000	0,0000	0,0000	0,0096	0,0000	0,0128
B	3	1,0000	0,0000	0,0000	0,4423	0,6346	0,0000
	4	0,2115	0,0000	0,0000	0,0000	0,1346	0,0128
C	5	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000
D	6	1,0000	0,9808	1,0000	1,0000	0,9808	0,9743
E	7	0,1154	0,0000	0,0000	0,0096	0,0961	0,0256
	8	0,1154	0,0000	0,0576	0,0385	0,0769	0,0512
	9	0,1346	0,1346	0,0192	0,3461	0,0192	0,0256
	10	0,0769	0,0962	0,0576	0,2401	0,0192	0,0128
F	12	1,0000	1,0000	0,9807	0,9904	0,9615	1,0000
G	13	0,0000	0,0000	0,0876	0,0673	0,8462	0,0000
	14	0,0000	0,0000	0,0192	0,0000	0,1154	0,0000
	15	1,0000	0,9803	1,0000	0,9038	0,8269	1,0000
	16	0,0000	0,3269	0,0961	0,0000	0,0000	0,0000
	N°	52	52	52	104	52	78
	\bar{H}	1,1074	0,8750	0,9693	1,1043	1,1532	0,7835

Tabela 2. Números de moscas analisadas (N°), valores dos índices de diversidade para as isoenzimas (H) e frequências das bandas esterásicas das linhagens de *Drosophila immigrans*.

Sistemas	Bandas	Linhagens Analisadas									
		Brasília	Jaboticabal	Lab-8	Lab-10	Lab-11	Lab-15	Lab-25	Olímpia	Porto Alegre	Turvo
A	1	0,9444	0,9889	0,9333	0,8777	0,5333	1,0000	0,0632	0,9667	0,8000	0,9250
	2	0,7000	0,3444	0,8666	0,7444	1,0000	0,0000	1,0000	0,5333	0,6083	0,3166
B	3	0,3111	0,3111	0,0000	0,4666	0,4000	1,0000	0,1521	0,2000	0,4500	0,0333
	4	0,8778	0,2444	0,0000	0,0000	0,0000	0,3666	0,0000	0,3500	0,3750	0,0333
C	5	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,000	1,0000
	7	0,0000	0,0000	0,0000	0,0777	0,7333	0,5000	0,0000	0,0000	0,4833	0,2833
E	8	0,0000	0,0000	0,0000	0,0888	0,5333	0,4666	0,0000	0,0000	0,5333	0,3000
	9	0,0000	0,0000	0,0666	0,0777	0,2666	0,1000	0,0217	0,1111	0,1583	0,5083
F	10	0,0000	0,0000	0,0666	0,0000	0,1333	0,3000	0,0217	0,0167	0,2583	0,4750
	11	0,4444	0,5222	1,0000	0,5777	0,6000	0,6000	1,0000	0,5667	0,4583	0,4917
G	12	1,0000	0,8667	1,0000	0,9888	1,0000	1,0000	1,0000	0,9167	0,9416	1,0000
	14	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,1083	0,0000
H	15	0,9222	0,9222	0,1000	1,0000	1,0000	1,0000	0,6956	0,9333	0,9417	0,9917
	16	0,0111	0,0111	0,1000	0,0111	0,0000	0,0666	0,0652	0,2333	0,3583	0,2000
I	17	0,2556	0,0000	0,0000	0,0000	0,1333	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0917
	18	0,0667	0,3667	0,5000	0,3777	0,2333	0,3000	0,4782	0,2333	0,1583	0,2167
N°	90	90	90	90	30	30	30	46	60	120	120
H	1,2324	1,0940	1,0608	1,2184	1,4510	1,4167	0,9852	1,2039	1,5912	1,3965	1,3965

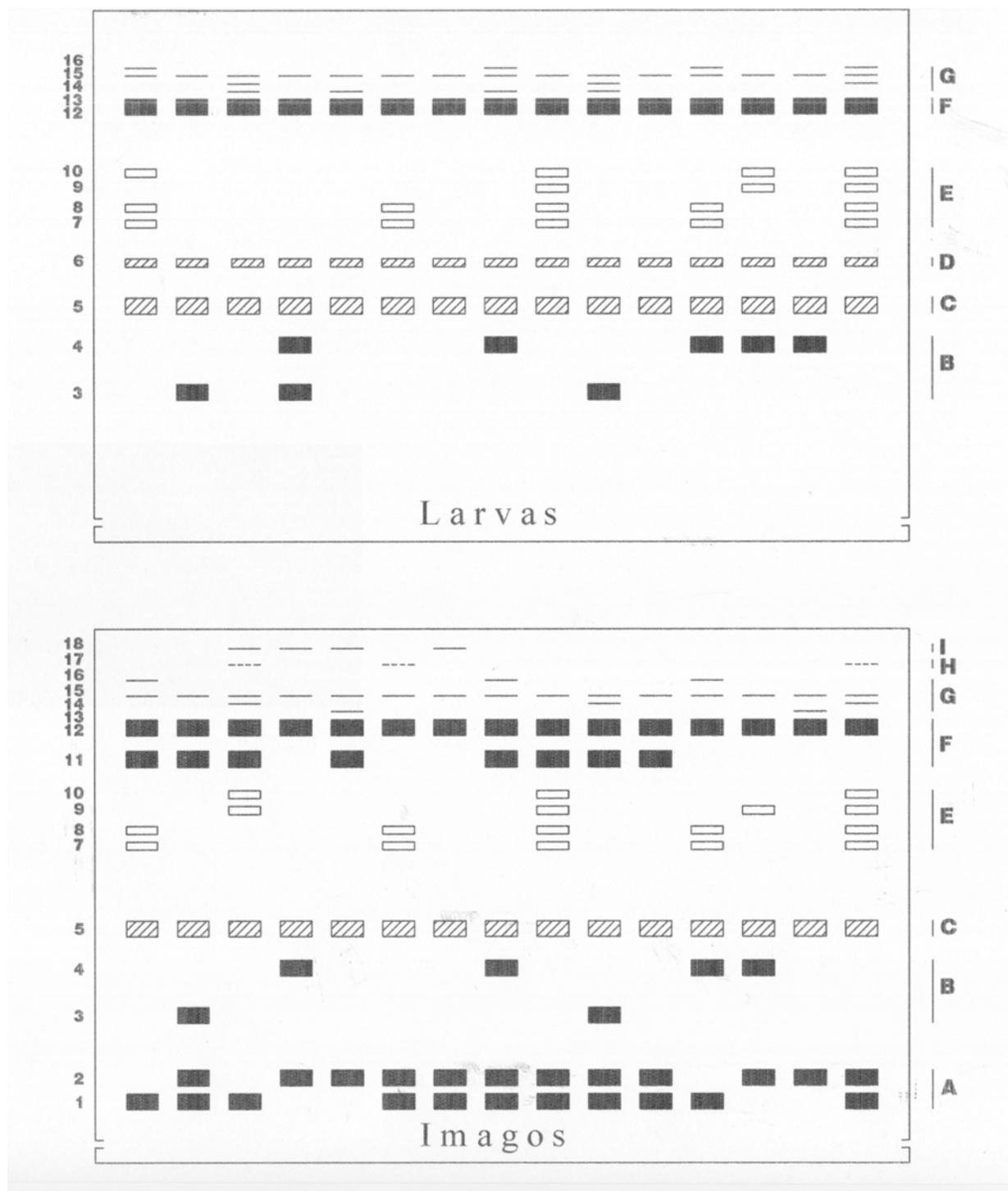


Figura 1. Zimogramas representativos de todas bandas e dos sistemas das esterases, encontrados nas larvas de terceiro instar e nos imagos de linhagens de *Drosophila immigrans*.

As bandas 11 e 12 (grupo F) apresentaram coloração com o α naftil acetato. Todas as larvas analisadas não apresentaram a banda 11. A Tabela 3 apresenta o número de moscas de cada sexo, que mostraram as bandas 11 e 12, com exceção das linhagens Lab-8 e Lab-25, cujos números de machos e fêmeas com a banda 11 foram estatisticamente iguais; as demais linhagens apresentaram números de machos significativamente maiores contendo a banda 11. Para a banda 12, diferenças entre os sexos não foram detectadas e todas as linhagens, na fase de larva ou de imagos, apresentaram esta banda com frequências superiores a 86%. Entre todos imagos analisados que apresentaram a banda 12, não foi detectada diferenças nas frequências da mesma, entre machos e fêmeas. Nos adultos e em todas as linhagens, a frequência de indivíduos com esta banda foi superior a 87%. A regulação genética destas bandas pode ser atribuída a um locus, entretanto, a natureza nula da banda 11 nas larvas, deve ser levada em consideração. De acordo com PASTEUR *et al.* (1988) certas enzimas como as esterases, fosfatases e peptidases têm atividades que podem variar com o desenvolvimento do organismo. Possivelmente, deve existir algum sistema de repressão ou supressão de enzimas nas larvas e nos adultos.

O grupo E é constituído por quatro bandas facultativas (7, 8, 9 e 10), todas apresentando coloração discreta e com pouca visibilidade no gel. Parece haver correspondência entre as bandas 7 e 8 e entre as de números 9 e 10, as quais se apresentaram juntas. A natureza genética das isoenzimas do grupo E, por aparecerem juntas e apresentarem frequências baixas, é difícil de ser explicada, sendo raro a ocorrência de uma banda única para estes fenótipos.

As bandas do grupo B (3 e 4) são facultativas e apresentaram especificidade de coloração para o α e β naftil acetatos. A banda 3 foi frequente nas larvas (33%) de três linhagens (Brasília, Olímpia e Porto Alegre) e nos adultos (31%), enquanto que a banda 4 apresentou baixa frequência nas larvas (5%) e intermediária (24%) nos adultos. Todas as larvas da linhagem de Brasília, como todos os adultos da linhagem Lab-15, apresentaram a banda 3. As larvas da linhagem de Jaboticabal e Lab-10 e os adultos da linhagem Lab-8 não mostraram estas bandas. Estas enzimas parecem estar reguladas por um locus com três alelos, sendo um considerado "nulo". É possível que outros alelos possam existir; entretanto não foram detectados nas populações analisadas.

O grupo A incluiu enzimas que mais migraram no gel, apresentam padrão de coloração escura.

Tabela 3. Números de moscas de ambos os sexos que apresentaram em bandas 11 e 12 e resultados do teste do qui-quadrado.

Linhagens	Números de Moscas com a Banda 11			Números de Moscas com a Banda 12		
	Machos	Fêmeas	Valor do X ²	Machos	Fêmeas	Valor do X ²
Brasília	39	7	22,66***	45	45	0,00 ^{ns}
Jaboticabal	44	3	35,76***	33	45	1,84 ^{ns}
Lab-8	15	15	0,00 ^{ns}	15	15	0,00 ^{ns}
Lab-10	45	9	24,00***	44	45	0,01 ^{ns}
Lab-11	14	4	5,56*	15	15	0,00 ^{ns}
Lab-15	15	3	8,00**	15	15	0,00 ^{ns}
Lab-25	23	23	0,00 ^{ns}	23	23	0,00 ^{ns}
Olímpia	30	4	19,88***	25	30	0,46 ^{ns}
Porto Alegre	56	3	47,60***	57	60	0,76 ^{ns}
Turvo	59	10	34,80***	60	60	0,00 ^{ns}

^{ns} = não significativo.

* = significativo ao nível de 5%.

** = significativo ao nível de 1%.

*** = significativo ao nível de 0,1%.

Estas enzimas foram raras nas larvas, sendo que apenas 10% (40) delas apresentaram a banda 1; destas, 38 foram de Olímpia. Apenas duas larvas mostraram a banda 2, sendo uma de Olímpia e outra do Turvo. Estas isoenzimas apresentaram todas as características descritas por PASTEUR *et al.* (1988) para serem consideradas como sendo reguladas por um par de alelos, em um mesmo locus. Provas a favor residem nos cruzamentos realizados entre as linhagens Lab-15 e Lab-12, linhagens que fixaram respectivamente os alelos A^1 e A^2 , mostrando todos os descendentes heterozigotos.

Assim, foi possível analisar as frequências genotípicas observadas nos adultos, em relação aos genes codificadores (A^1 e A^2). Em oito populações, as linhagens mostraram maior frequência do alelo A^1 e as duas restantes não apresentaram indivíduos com genótipo A^1A^1 . Os valores obtidos para frequência de heterozigotos observados, com exceção da população da linhagem de Porto Alegre, sempre apresentaram valores superiores aos esperados.

Na linhagem Lab-11, a frequência de heterozigotos (A^1A^2) foi de 53% e a Lab-25 parece estar num processo de fixação do alelo A^2 e eliminação de A^1 , ambas linhagens não apresentaram moscas A^1A^1 . Na linhagem Lab-25, a frequência do alelo A^2 foi de 96%. A linhagem Lab-15 fixou o genótipo A^1A^1 , e

nas linhagens Lab-10 e Lab-8, os genótipos favorecidos foram os heterozigotos, mostrando tendência à heterozigosidade; enquanto as linhagens do Turvo, Lab-15 e Lab-11 sofreram um processo de fixação de algum alelo.

As alterações mencionadas indicam diferenças na atuação das forças seletivas que atuavam sobre estas populações, entretanto somente três linhagens mostraram que a distribuição das frequências de seus genótipos não estavam de acordo com as proporções de Hardy-Weinberg. Assim, mesmo linhagens consideradas sujeitas a este equilíbrio podem estar sofrendo algum processo seletivo (WORKMAN, 1969). Deste modo, várias forças afetando as frequências genotípicas podem se anular e resultar nas proporções de Hardy-Weinberg.

A razão pela qual as isoenzimas foram incluídas em um mesmo grupo reside no fato de apresentarem maior proximidade bioquímica, ou seja, maior semelhança dos seus aminoácidos, as quais, quando caracterizadas corretamente, devem ter funções parecidas. A inibição de uma enzima por algum fator poderia permitir a ação de outra do mesmo grupo, em condições ligeiramente diferentes. Assim, o polimorfismo enzimático aumenta o valor adaptativo, promovendo um mecanismo compensador em ambientes diferentes, sendo que a variação

Tabela 4. Distribuição dos genótipos das bandas 1 e 2, frequências alélicas, heterozigotos (obs./esp.) e valores do qui-quadrado para as expectativas das distribuições de Hardy-Weinberg.

Linhagens	Genótipos Observados			Tamanho da Amostra	Frequência de		Heterozigotos		Valores do X^2
	A^1A^1	A^1A^2	A^2A^2		A^1	A^2	Obs.	Esp.	
Brasília	30	50	10	90	0,61	0,39	0,56	0,48	2,56 ^{ns}
Jaboticabal	60	29	1	90	0,83	0,17	0,32	0,28	2,04 ^{ns}
Lab-8	5	23	2	30	0,55	0,45	0,77	0,50	8,71 ^{**}
Lab-10	23	50	17	90	0,53	0,47	0,56	0,50	1,67 ^{ns}
Lab-11	0	16	14	30	0,27	0,73	0,53	0,39	3,94 [*]
Lab-15	30	0	0	30	1,00	-	-	-	-
Lab-25	0	4	42	46	0,04	0,96	0,09	0,08	0,22 ^{ns}
Olímpia	19	30	11	60	0,57	0,43	0,50	0,49	0,08 ^{ns}
Porto Alegre	49	49	22	120	0,61	0,39	0,41	0,50	2,37 ^{ns}
Turvo	75	35	10	120	0,77	0,23	0,29	0,13	4,06 [*]

^{ns} = não significativo.

^{*} = significativo ao nível de 5%.

^{**} = significativo ao nível de 1%.

polimórfica nos loci enzimáticos está correlacionada com a variabilidade fisiológica com que a enzima deve interagir em funcionamento (JOHNSON, 1974). Deste modo, parece claro que, os fatos são contra a hipótese neutralista (KIMURA, 1969 e KIMURA & OHTA, 1969).

A avaliação da diversidade genética apresentada pelas isoenzimas esterásicas nas populações foi feita como LEWONTIN (1972), utilizando o índice de Shannon-Weaner. Os valores

obtidos pelas linhagens, na fase de larva (Tabela 1) e de adultos (Tabela 2), mostraram que os indivíduos imaturos apresentaram os menores valores para \bar{H} . A linhagem de Porto Alegre foi a que apresentou os maiores valores, tanto na fase de larva, como na fase de imago. A seqüência da classificação das linhagens, tendo por base aquela que apresentou o maior valor para a diversidade das isoenzimas esterásicas, para aquelas com menor valor, na fase de larva, foi a seguinte: Porto Alegre>Brasília>Olímpia>Lab-

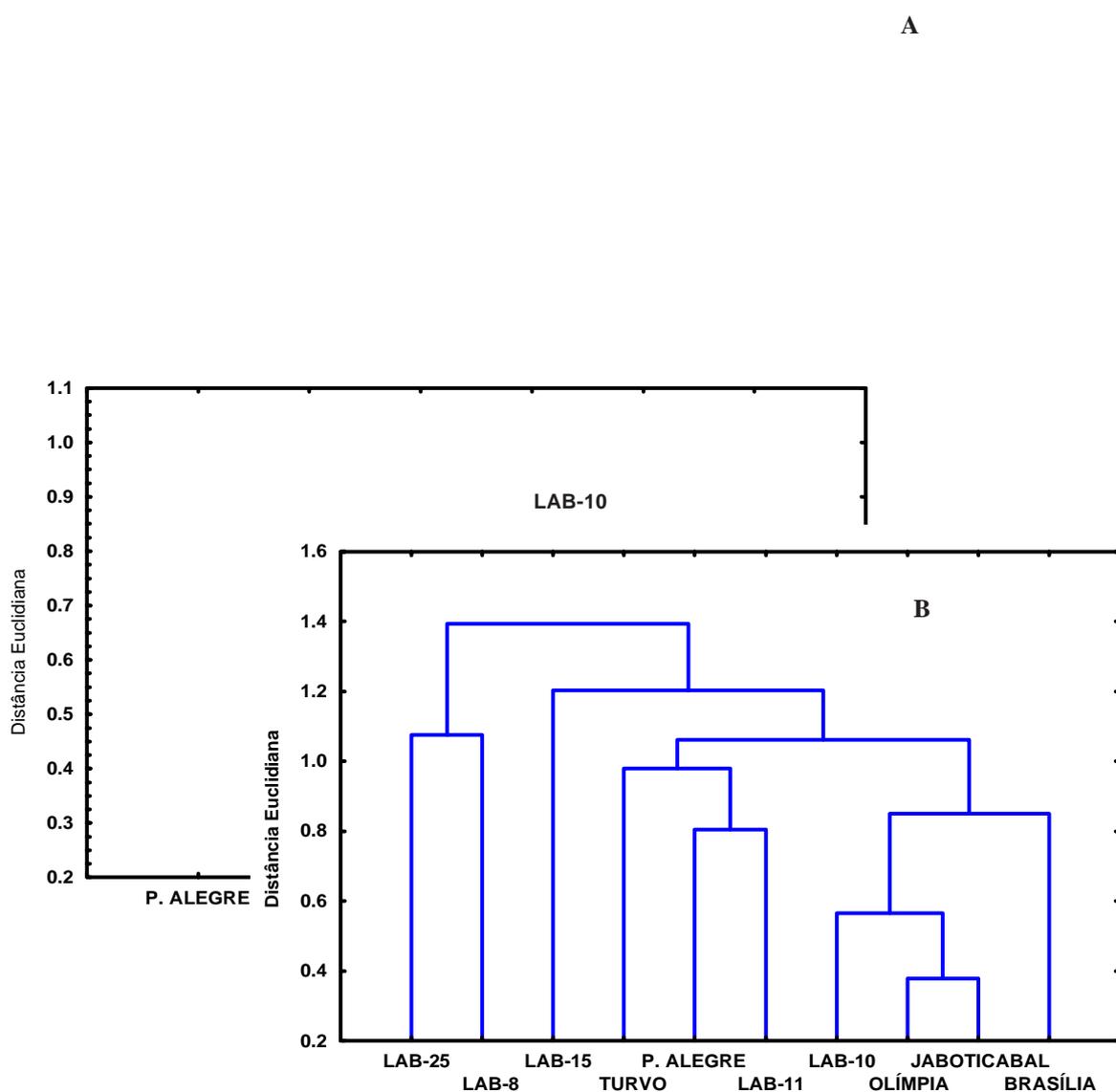


Figura 2. Dendrogramas mostrando as relações de similaridades entre linhagens, baseadas nas frequências das isoenzimas esterásicas, nas larvas (A) e nos adultos (B) de *D. immigrans*.

10>Jaboticabal>Turvo. Por outro lado, os adultos apresentaram a seqüência: Porto Alegre>Lab-11>Lab-15>Turvo>Brasília>Lab-10>Olímpia>Jaboticabal>Lab-8>Lab>25.

As enzimas esterásicas apresentadas pelas moscas mostraram relações de similaridade entre as linhagens, nas duas fases analisadas do ciclo do inseto. Assim, nas larvas (Figura 2A) as moscas de Olímpia e Jaboticabal estão relacionadas e, nos adultos, (Figura 2B) elas formam um subgrupo definido, estando Jaboticabal ao lado da linhagem de Brasília, nos dois dendogramas. Nas larvas, desde o início da formação dos agrupamentos, as linhagens de Porto Alegre e Lab-10 formaram um sub-grupo isolado das outras quatro linhagens (Olímpia, Turvo, Jaboticabal e Brasília). Estas quatro linhagens, nos adultos, estão relacionadas, mas com diferenças em suas manifestações, especialmente as moscas do Turvo, que estão mais distanciadas das outras três (Olímpia, Jaboticabal e Brasília).

Foram obtidas coerências nas variações apresentadas para o índice de diversidade. Uma delas diz respeito à distribuição dos valores entre as linhagens na fase de larva e de adultos. A exceção foi a linhagem do Turvo que mostrou o menor valor na fase de larva e, nos adultos, ocupou o quarto lugar. É possível que, na fase de larva, os indivíduos devam apresentar um nicho mais estreito, ou seja, menos diversificado para a exploração, que na fase adulta. Os dados obtidos mostraram uma concordância com esta observação. Entretanto, na fase adulta, os fatores físicos e biológicos, devem ter maior pressão seletiva, podendo exercer influências sobre o comportamento sexual, no ritual de corte e também nos locais onde fêmeas devem depositar ovos (PALOMINO & DEL SOLAR, 1971). Talvez, as localidades das linhagens do Sul do Brasil sejam áreas onde a diversidade isoenzimática seja favorecida, simulando nesta espécie, as condições ecológicas do local de sua origem (THROCKMORTON, 1975). Fato análogo foi descrito por ALVES & BÉLO (2002) para *Musca domestica*, em relação a características morfológicas.

As similaridades para os sistemas de enzimas esterásicas apresentado pelas linhagens de moscas revelou relações com os valores obtidos para o índice de diversidade. Assim, nas larvas, o sub-grupo formado pelas linhagens de Jaboticabal e Turvo apresentou os dois menores valores para \bar{H} ; enquanto que as linhagens de Olímpia e Brasília, que estão ao lado deste subgrupo, apresentaram valores praticamente iguais para a diversidade das isoenzimas.

Nos adultos, o primeiro subgrupo (linhagens Lab-25 e Lab-8), isolado das demais linhagens, apresentou valores baixos, mas semelhantes para \bar{H} . Os maiores valores obtidos para este índice coincidiram para as linhagens de Porto Alegre e Lab-11, que formaram outro subgrupo. As linhagens Lab-10 e Brasília, que apresentaram valores semelhantes para o índice, estão associadas (Figura 2B) às linhagens de Olímpia e Jaboticabal, que formaram novo subgrupo.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dra. Rosana Tidon-Sklorz da Universidade de Brasília e ao Dr. Luciano Basso da Silva da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, por terem enviado linhagens de moscas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.M. & BÉLO, M. 2002. Morphometric variations in the housefly, *Musca domestica* (L.) with latitude. **Genetica**, 115: 243-251.
- BÉLO, M. & GALLO, A.J. 1977. Domestic *Drosophila* species. I. Flies collected in Olímpia, S.P., Brazil. **D.I.S.**, 52: 137-138.
- BÉLO, M. & OLIVEIRA Fº, J.J. de. 1978. Espécies domésticas de *Drosophila*. II, Flutuações de espécies atraídas para isca de banana fermentada naturalmente. **Científica**, 6: 269-278.
- BRNCIC, D. 1955. Chromosomal variation in Chilean populations of *Drosophila immigrans*. **Jour. Hered.**, 46: 59-63.
- BRNCIC, D. 1970. Studies on the evolutionary biology of Chilean species of *Drosophila*. 401-432. In **Essays in evolution and genetics in honor of Theodosius Dobzhansky**. Ed. M. K. HECHT, W. C. STEERE. Appleton Century Crofts. New York.
- CERON, C.R. 1988. **Padrão de esterases no desenvolvimento de *Drosophila mulleri*, *D. arizonensis*** e seus híbridos. São Paulo. 142p. Tese de Doutorado – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo.
- COELHO-RITS, F.R. 1997. **Padrão de esterases em *Megaselia scalaris***. São José do Rio Preto. 128p. Tese de Doutorado – Instituto de Biologia, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista.
- DAVIS, B.J. 1964. Disc electrophoresis II. Methods and application to human serum proteins. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, 121: 404-427.

- FREIRE-MAIA, N., ZANARDINI, I. F. & FREIRE-MAIA, A. 1953. Chromosome variation in *Drosophila immigrans*. **Dusenía**, 4: 303-311.
- GOÑI, B., MARTINEZ, M.E. & DAGUER, P. 1997. Studies of two *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) communities from urban Montevideo, Uruguay. **Rev. Brasil. Entomol.**, 41: 89-93.
- HODGE, S. & ARTHUR, W. 1996. Insect invasion sequences: systematic or stochastic. **Ecol. Entomol.**, 21:150-154.
- JOHNSON, G.B. 1974. Polymorphism among enzyme loci is related to metabolic function. **Science**, 184: 28-37.
- KIMURA, M. 1969. The rate of molecular evolution considered from the standpoint of population genetics. **P.N.A.S. – USA**, 63: 1181-1188.
- KIMURA, M. & OHTA, T. 1969. Protein polymorphism as a phase of molecular evolution. **Nature**, 229: 467-469.
- KIMURA, M. & BEPPU, K. 1993. Climatic adaptations in the *Drosophila immigrans* species group: seasonal migrations and thermal tolerance. **Ecol. Entomol.**, 18: 141-149.
- LAEMMLI, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. **Nature**, 227: 680-685.
- LEWONTIN, R.C. 1972. The apportionment of human diversity. **Evol. Biol.**, 6: 381-398.
- MARTINS, M.B. 1989. Invasão de fragmentos florestais por espécies oportunistas de *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae). *Acta Amazonica*, 19: 265-271.
- MOURÃO, C.A. 1966. **Estudos ecológicos e taxonômicos em populações naturais do gênero *Drosophila* Fálle (1823) que habitam duas matas de Mirassol**. São José do Rio Preto. Tese de Doutorado – Instituto de Biologia, Letras e Ciências Exatas – Universidade Estadual Paulista.
- NARANG, S., TERRANOVA, A.C., MCDONALD, D.C. & LEOPOLD, R.A. 1976. Esterases in the house fly. **Jour. Hered.**, 67: 30-38.
- NUNNEY, L. 1990. *Drosophila* on oranges: colonization, competition, and coexistence. **Ecology**, 7: 1904-1915.
- OAKESHOTT, J.G., VACEK, D.C. & ANDERSON, P.R. 1989. Effects of microbial floras on the distributions of five domestic *Drosophila* species across fruit resources. **Oecologia**, 78: 533-541.
- OHTSU, T., KATAGIRI, C. & KIMURA, M.T. 1999. Biochemical aspects of climatic adaptations in *Drosophila curviceps*, *D. immigrans*, and *D. albomicans* (Diptera: Drosophilidae). **Envir. Entomol.**, 28: 968-972.
- PALOMINO, H. & DEL SOLAR, E. 1971. Eleccion del sitio de oviposicion in *Drosophila*, Coexistência de *D. melanogaster* e *D. funebris*. **Gen. Ibér.**, 23: 25-33.
- PASTEUR, N., PASTEUR, G., BONHOMME, F., CATALAN, J. & BRITTON-DAVIDIAN, J. 1988. **Practical isozyme genetics**. John Wiley & Sons, New York. 215p.
- PAVAN, C. 1957. Relações entre população de *Drosophila* e o meio ambiente. Bol. F.F.C.L. USP, 221, **Biol. Geral**, 11: 1-81.
- SENE, F.M., VAL, F.C., VILELA, C.R. & PEREIRA, M.A.Q.R. 1980. Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* species within morphoclimatic domains of Brazil. **Papéis Avulsos de Zool.** (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo), 33: 315-326.
- SNEATH, P.H.A. & SOKAL, R.R. 1973. **Numeral taxonomy**. San Francisco: W.H. Freeman and Co. 563p.
- STEINER, W.W.M., SUNG, K.C. & PAIK, Y.K. 1976. Eletrophoretic variability in island populations of *Drosophila simulans* and *Drosophila immigrans*. **Biochem. Gen.**, 14: 495-506.
- THROCKMORTON, L.H. 1975. The *virilis* species group. In: ASHBURNER, M, CARSON, H.L., THOMPSON Jr, J.N. **The genetics and biology of *Drosophila***. Academic Press, New York, 3B: 227-296.
- TONI, D.C. de & HOFMANN, R.P. 1995. Preliminary taxonomic survey of the genus *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) at Morro da Lagoa da Conceição; Santa Catarina Island; Brazil. **Rev. Brasil. Biol.**, 55: 347-350.
- VALENTE, V.L. & ARAÚJO, A.M. de. 1995. Ecological aspects of *Drosophila* species in two contrasting environments in southern Brazil. **Rev. Brasil. Ent.**, 35: 237-253.
- VIOLETA, R. & VELA, D. 2000. *Drosophila* distribution in Equador. **D.I.S.**, 83: 85-88.
- WORKMAN, P.L. 1969. The analysis of simple genetic polymorphisms. **Hum. Biol.**, 41: 97-114.

