

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE
ICMBio



PARQUE NACIONAL DO ITATIAIA



BOLETIM
NÚMERO
17

Mudanças genéticas observadas na
população de *Drosophila mediopunctata*
do Parque Nacional do Itatiaia, RJ, Brasil

Laboratório de Biodiversidade Genética e
Evolução de *Drosophila*
Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes
Instituto de Biologia
Universidade Estadual de Campinas – Unicamp

MARCOS ROBERTO DIAS BATISTA
LOUIS BERNARD KLACZKO



2013

EDITORIAL

“Mudanças genéticas observadas na população de *Drosophila mediopunctata* do Parque Nacional do Itatiaia, RJ, Brasil”- Marcos Roberto Dias Batista e Louis Bernard Klaczko.

Não é de hoje que o Professor Louis Bernard Klaczko e seu orientado e colaborador Marcos Roberto Dias Batista pesquisam no Parque Nacional do Itatiaia. Lá se vão pelo menos dez anos em que sou testemunha de vê-los coletando nas trilhas do PNI na busca de *Drosophila* com objetivo de estudar as possíveis variações no polimorfismo de inversão de cromossomo II concomitantes às mudanças climáticas.

Os Drs. Marcos e Klaczko descrevem a primeira lista de espécies do gênero *Drosophila* coletados em uma ocasião no Parque Nacional do Itatiaia. Apontam 55 espécies, sendo que 8 destas ainda não foram descritas e afirmam que é um primeiro passo para o uso destas espécies como bioindicadores de qualidade na comunidade.

Os pesquisadores relacionam uma vasta bibliografia e dentro das citações são incluídos boletins e teses realizadas e publicadas nesta UC.

Marcos e Klaczko conseguem claramente passar um relato sobre mudanças climáticas globais e se apóiam nos trabalhos do IPCC e outros que identificam alterações climáticas associadas a causas naturais e antropogênicas.

No item 1.3. Efeitos no mundo biológico, Marcos e Klaczko transmitem uma importante constatação que se encaixa nesta UC.

“A biota montana da região tropical está particularmente vulnerável aos efeitos das mudanças climáticas(Sheldom et al ., 2011). Principalmente espécies de invertebrados ,anfíbios,répteis e pássaros com distribuição específicas e endêmicas(Pounds, 2006; Laurence et al., 2011).”

Batista e Klaczko entram no item 1.4-Genética e *Drosophila* nos dando uma aula didática de fácil entendimento em que a elaboração de mapas genéticos de alta resolução é especialmente favorável em *Drosophila*.

Os pesquisadores incluem em um parágrafo das suas conclusões que as mudanças climáticas e as medidas de preservação podem provocar alterações na composição florísticas e de fauna do PNI.

Enfim, Marcos foi orientado por Klaczko na sua Tese de Doutorado e a formação dos dois é auto-explicativa:

Louis Bernard Klaczko

Professor Titular do Departamento de Genética, Evolução e Bioagentes do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP.

Possui graduação em Medicina pela Faculdade de Ciências Médicas da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (1976). Fez o Mestrado em Ciências Biológicas no Curso de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal do Rio de Janeiro (1979), sob a orientação do Prof. Antonio R. Cordeiro trabalhando no tema “Polimorfismos de Proteínas Plasmáticas em Espécies do Gênero *Cavia*”. Obteve em 1984 o título de *PhD* em Biologia (Genética) no *Department of Biology* da *Yale University*, New Haven, U.S.A., sob a orientação do Prof. Jeffrey R. Powell. Defendeu a tese “Genetics of *Drosophila* Populations in Heterogeneous Environments”, na qual avaliou a escolha de habitat (“*habitat-choice*”) por genótipos de *D. pseudoobscura* em relação a substratos fermentados com diferentes espécies de leveduras.

Em 1978 foi admitido como Auxiliar de Ensino na Universidade Federal do Rio de Janeiro, onde trabalhou até 1992, com licença para cursar o doutorado de 9/79 a 2/84, tendo sido sucessivamente promovido a Professor Assistente e Adjunto pela obtenção dos títulos de Mestre e Doutor. Em 1984, quando de seu retorno do Doutorado, reequipou e reativou o Laboratório de Genética de Populações de *Drosophila* no Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia, que até hoje continua em pleno funcionamento sob a liderança de seus ex-alunos Profs. A. Bernardo de Carvalho e Blanche C. Bitner-Mathé.

Em 1992 ingressou como Professor Doutor, no Departamento de Genética e Evolução do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas por concurso público. Aí, sempre por concurso público e sempre obtendo nota máxima de todos os examinadores em todas as provas, foi promovido sucessivamente a Professor Livre-Docente; Prof. Adjunto; e Prof. Titular. Implantou o Laboratório de Biodiversidade Genética e Evolução de *Drosophila*, onde deu continuidade a sua linha de pesquisa sobre a Genética de Populações de *D. mediopunctata*.

Publicou 53 artigos originais, dos quais destacam-se: o método da elipse (*Nature* **346**: 321. 1990); a revisão de 40 anos de pesquisa do polimorfismo de inversões em *D. pseudoobscura* (P.N.A.S. **88**: 10367. 1991); a caracterização de interação genótipo

(inversões cromossômicas) x ambiente (data de coleta) em populações naturais de *Drosophila* (*Heredity* **75**: 54. 1995); a demonstração experimental do Princípio de Fisher (*Genetics* **148**: 719. 1998); a descoberta e caracterização do agente androcida *Spiroplasma poulsoni* em *D. melanogaster* (*Heredity* **85**: 465. 2000; e *Insect Mol. Biol.* **14**: 281. 2005); a demonstração da não-linearidade das normas de reação em *Drosophila* e a correlação de seu parâmetro quadrático com o valor médio do caráter (*Evolution* **63**: 280. 2009; *Evolution* **66**: 3404. 2012).

Tem experiência na área de Genética, sobretudo em Genética de Populações e Evolutiva; atua, principalmente, nos seguintes temas: *Drosophila*; *D. mediopunctata*; grupo *tripunctata* de *Drosophila*; drosofilídeos; morfometria; biodiversidade genética; polimorfismos de inversões cromossômicas; elementos genéticos egoístas, agentes androcidas (“*male killers*”); norma de reação; e adaptação. Orientou 12 dissertações de Mestrado; 13 teses de Doutorado; e supervisionou 3 pós-doutorados. Atualmente orienta: 5 alunos de iniciação científica; 1 aluno de Mestrado; 1 de Doutorado; 3 pós-doutorandos.

Marcos Roberto Dias Batista

Pesquisador de Pós-doutorado do curso de Pós-Doutorado em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Graduado em Licenciatura em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Campinas - Unicamp (2004). Entre 2000 e 2004, estagiou e fez iniciação científica no laboratório de Biodiversidade Genética e Evolução de *Drosophila*, liderado pelo Prof. Louis Bernard Klaczko. Em 2005, ingressou no doutorado direto do programa de Genética e Biologia Molecular, área de Genética Animal e Evolução pela mesma universidade. Foi orientado pelo Prof. Louis Bernard Klaczko e estudou na sua tese os determinantes da variação geográfica e temporal do polimorfismo de inversões do segundo cromossomo em populações naturais de *Drosophila mediopunctata*; e ainda, adaptou a técnica para análise de politênicos de *Drosophila* para estudos em *Cochliomyia hominivorax* e assim elaboramos um mapa dos cromossomos politênicos desta praga da pecuária. Defendeu em fevereiro de 2010 sua tese intitulada: *Estudos de Cromossomos Politênicos em Dípteros: Variação Geográfica do Polimorfismo de*

Inversões Cromossômicas de Drosophila mediopunctata e Fotomapa dos Cromossomos Politênicos em Cochliomyia hominivorax.

Atualmente é Pesquisador de Pós-doutorado do curso de Pós-Doutorado em Genética e Biologia Molecular da Universidade Estadual de Campinas e bolsista do projeto PRODOC - Capes "Mudanças Genéticas Concomitantes ao Aquecimento Global e à Fragmentação Florestal: Estudos numa Espécie de Florestas Neotropicais de *Drosophila*". No laboratório de Biodiversidade Genética e Evolução de *Drosophila* coorienta um aluno de doutorado junto com o Prof. Louis Bernard Klaczko e colabora no projeto de extensão "Aulas práticas de genética com *Drosophila melanogaster* para o ensino médio".

Já publicou dois artigos originais:

1. Batista *et al.*, 2009. Photographic map of the polytene chromosomes of *Cochliomyia hominivorax*. *Medical and Veterinary Entomology* 23: 92-97, no qual publicou o mapa fotográfico dos cromossomos politênicos da mosca da bicheira - *Cochliomyia hominivorax*.
2. Batista *et al.*, 2012. Unexpected long-term changes in chromosome inversion frequencies in a Neotropical *Drosophila* species. *Climate Research* 53: 131-140, no qual descreve a variação genética concomitante às mudanças climáticas da população de *Drosophila mediopunctata* do Parque Nacional do Itatiaia.

Tem experiência na área de Genética, com ênfase em Citogenética animal e Genética de populações, atuando principalmente nos seguintes temas: cromossomo politênico, inversões cromossômicas, citogenética, *Drosophila*, mudanças climáticas e fragmentação florestal.

LÉO NASCIMENTO

EDITOR DO BOLETIM DE PESQUISA DO PNI

Agradecimentos

Primeiramente, gostaríamos de agradecer ao Dr. Léo Nascimento pelo convite para escrever o Boletim n° 17 do Parque Nacional do Itatiaia. Além disso, agradecemos ao Dr. Léo por ter aberto as portas para que pudéssemos trabalhar no Parque com uma estrutura ímpar.

Agradecemos, ainda, todos os servidores e funcionários do Parque, que sempre nos atenderam com muita gentileza. Em especial, somos gratos a Joel Bernardino Oliveira que nas ocasiões que esteve conosco sempre foi muito hospitaleiro e prestativo. Agradecemos aos alunos e técnicos do Laboratório de Biodiversidade Genética e Evolução de *Drosophila* pela companhia harmoniosa e ajuda na coleta, bem como pelo apoio técnico: Ayana Martins, Carlos Alberto Conceição Andrade, Claudete Couto, Diogo Moraes, Felipe Bastos Rocha, Galina Ananina, Iuri Mateuzo Ventura, Klélia A. Carvalho, Maria Salete Couto e Renato Cavasini.

Finalmente, agradecemos às seguintes agências financiadoras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo ao Ensino e Pesquisa (FAPEX-Unicamp) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Resumo

Há um consenso entre diversas agências meteorológicas a respeito das mudanças climáticas. Seus impactos são diversos: aquecimento do ar e dos ambientes terrestres e marinhos, elevação global do nível do mar; estações do ano sem sincronia, a maior ocorrência de eventos climáticos catastróficos, entre outros. A região do Parque Nacional do Itatiaia apresenta uma tendência de aumento nos valores da temperatura média e mínima além das variações na precipitação consistentes com aquelas consideradas pelo IPCC.

A biota global está particularmente vulnerável aos efeitos das mudanças climáticas. Análises temporais de longo prazo do polimorfismo de inversões cromossômicas em diferentes espécies de *Drosophila* se mostraram uma ferramenta poderosa para detectar rápidas alterações genéticas causadas pela mudança das condições climáticas. No fim da década de 1980, foram realizadas coletas no Parque Nacional do Itatiaia e caracterizado o polimorfismo de inversões do cromossomo II da espécie *Drosophila mediopunctata*. Vinte e cinco anos após estas coletas, voltamos ao Parque Nacional do Itatiaia com o objetivo de estudar as possíveis variações no polimorfismo de inversão do cromossomo II concomitantes às mudanças climáticas.

Cinco inversões (*DA*, *DI*, *DS*, *DP* e *DV*) foram observadas em frequências acima de 5% nesta população. Já se havia demonstrado que as frequências da inversão *DA* (a mais comum nesta população) e das inversões *DS* e *DP* variavam com as estações do ano. A frequência de *DA* aumentava nos meses mais frios, enquanto que *DS* e *DP* aumentavam de frequência nos meses mais quentes. Consistentemente, foi verificada ainda a correlação das frequências destes arranjos com a altitude e temperatura do mês de coleta. O arranjo *DA* apresentou alta correlação positiva com a altitude e negativa com a temperatura média do mês de coleta; enquanto que *DS* e *DP* apresentaram correlação negativa com a altitude, e positiva com a temperatura. Essa correlação poderia explicar tanto a variação sazonal quanto o cline altitudinal. Já, *DI* não apresentou correlação nem com a altitude nem com a temperatura. Esses resultados sugerem que o polimorfismo de inversões do cromossomo dois de *D. mediopunctata* está associado a genes de adaptação térmica, e em particular, que a inversão *DA* estaria adaptada ao frio e *DS* e *DP* adaptadas ao calor.

Duas décadas após (2007-10), realizamos novas coletas no Parque Nacional do Itatiaia com o objetivo de estimar as frequências das inversões do cromossomo II de *D.*

mediopunctata. Observamos inesperadas mudanças nas frequências dos arranjos mais comuns e em sua variação microgeográfica em relação às aquelas antes descritas. A inversão *DA* continua sendo a mais frequente, porém não detectamos mais uma correlação significativa com a altitude. Entretanto, o ciclo sazonal observado para estas inversões se mantém. O arranjo *DI* aumentou sua frequência significativamente e agora mostra uma correlação positiva e significativa com a altitude. Estes resultados sugerem que uma complexa seleção pode estar mantendo este polimorfismo de inversões nesta população. As mudanças podem estar associadas com mudanças ambientais incluindo alterações climáticas e provavelmente fatores bióticos que podem ter afetado a arquitetura genética desta população.

Por fim, descrevemos a primeira lista de espécies moscas do gênero *Drosophila* coletadas em uma ocasião no Parque Nacional do Itatiaia. Observamos 55 espécies, sendo que 8 destas ainda não foram descritas. Esta lista é um primeiro passo para o uso destas espécies como bioindicadores nesta comunidade.

Abstract

There is a consensus among several meteorological agencies regarding climate change and its impacts around the Earth: global warming in air, land and marine environments, increased global sea level; non-synchronized seasons, and higher occurrence of extreme weather events, among others. The region of the *Parque Nacional do Itatiaia* shows an increasing trend in average and minimum temperature as well as variations in precipitation consistent with those considered by the IPCC.

The global biota is particularly vulnerable to the effects of climate change. Long-term analysis of chromosomal inversion polymorphism of different *Drosophila* species have proved to be a powerful tool to detect rapid genetic shifts caused by changes in climatic conditions. At the end of 1980's, the inversion polymorphism of *Drosophila mediopunctata* chromosome II at the *Parque Nacional do Itatiaia* was characterized. After twenty-five years, we revisited the Park to assess possible variations in chromosome II inversion polymorphism concomitant to climate change.

Five chromosome inversions (*DA*, *DI*, *DS*, *DP* e *DV*) were observed in frequency higher than 5% in this population of *D. mediopunctata*. The most common chromosome inversion was *DA*. Furthermore, inversions *DA*, *DS* and *DP* showed seasonal variation, in which *DA* increased its frequencies in cold months and chromosome inversions *DS* and *DP* increased their frequencies in warm months. Consistently, chromosomal inversions frequencies were significantly correlated to altitude and temperature. Chromosome inversion *DA* was significantly and positively correlated to altitude and significantly and negatively correlated to temperature. Chromosome inversions *DS* and *DP* were negatively and significantly correlated to altitude and positively and significantly correlated to temperature. Chromosome inversion *DI* did not show any significant correlation to altitude or to temperature. These results suggest that the chromosomal inversion polymorphism of chromosome II of *D. mediopunctata* is related to thermal adaptation genes.

Two decades after this previous study, we carried out new collections and we estimated chromosomal inversion frequencies. Our objective was to test if there were changes in the chromosomal inversion frequencies associated to climate changes. We observed unexpected changes in *D. mediopunctata* chromosome II inversion polymorphism. Chromosomal inversion *DA* continues to be the most frequent inversion, but it no longer presents a significant correlation to altitude. Chromosomal inversions

DS and *DP* decreased their frequencies and are still positively and significantly correlated to altitude. The seasonal variation previously described of chromosome inversions *DA*, *DS*, *DP* and *DV* is still cycling in this population. Chromosome inversion *DI* increased its frequency and now is significant and positively correlated to altitude. Our results show unexpected simultaneous changes in inversion frequencies associated with climate change. Perhaps climatic variables other than temperature underlie the process causing such changes, although potential genetic drift effects or demographic factors cannot be excluded. Further studies assessing the population genetic structure may help clarify the changes observed.

Finally, we describe the first list of *Drosophila* species composition from the *Parque Nacional do Itatiaia*. Fifty-five species were observed and eight of them have not been described yet. This is the first step toward the use of *Drosophila* species as a potential biomarker in this community.

Sumário

Agradecimentos	1
Resumo	2
Abstract	4
1. Introdução	9
1.1. Mudanças Climáticas Globais	9
1.2. Causas e Efeito Antropogênico sobre o Aquecimento Global	10
1.3. Efeito no Mundo Biológico	11
1.4. Genética e <i>Drosophila</i>	13
1.5. Inversões Cromossômicas	14
1.6. Aquecimento Global e Inversões Cromossômicas em <i>Drosophila</i>	16
1.7. <i>Drosophila mediopunctata</i>	17
1.8. O Polimorfismo de Inversões em <i>Drosophila mediopunctata</i>	20
2. Características Geofísicas e Florísticas do P. N. do Itatiaia	22
3. Mudanças Climáticas na Região do P. N. do Itatiaia	23
4. Coletas e Estratégia Experimental	25
5. Mudanças Genéticas na População de <i>D. mediopunctata</i> do P. N. Itatiaia	26
6. Conclusões	22
7. Bibliografia	32
8. Apêndice	48
Bibliografia Consultada para Identificação de Espécies	50

Lista de Figuras

Figura 1	Diagrama de causas e consequências das mudanças climáticas.	10
Figura 2	Distribuição da espécie <i>Drosophila mediopunctata</i> .	18
Figura 3	Variação Estacional da Frequência da Inversão Distal DA do Cromossomo II de <i>D. mediopunctata</i> no P. N. do Itatiaia	22
Figura 4	Variação temporal de longo-prazo da temperatura na região do P. N. do Itatiaia, RJ.	24
Figura 5	Variação temporal de longo-prazo da precipitação na região do P. N. do Itatiaia, RJ.	25
Figura 6	Comparação entre as médias das frequências nas duas épocas de coletas.	27
Figura 7	Comparação entre as frequências de inversão nas estações do ano.	27
Figura 8	Comparação entre a variação estacional das frequências de inversões cromossômicas em duas ocasiões de coleta.	28
Figura 9	Variação altitudinal das frequências de inversão na população do P. N. do Itatiaia, RJ.	29

Lista de Tabelas

Tabela 1	Diagrama de causas e consequências das mudanças climáticas.	30
Tabela A1	Distribuição da espécie <i>Drosophila mediopunctata</i> .	48

1. Introdução

1.1. Mudanças Climáticas Globais

O Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas (IPCC) refere-se às mudanças climáticas globais como aquelas alterações no estado do clima associadas a causas naturais e antropogênicas que podem ser identificadas através de diferenças estatísticas na média e/ou na variabilidade de diversas medidas ao longo do tempo (IPCC, 2007). Essas medidas são variáveis que caracterizam o clima na atmosfera (temperatura do ar, precipitação, concentração de gases atmosféricos), nos oceanos (nível do mar, temperatura do mar, superfície de gelo) e no ambiente terrestre (cobertura de neve, distribuição de queimadas, erosão) (WMO, 2013).

Observações independentes de diversas agências internacionais (AAAS, 2013; INPE, 2013; NASA, 2013) indicam um consenso sobre o aquecimento global. Desde 1971, um aumento de 0,17°C/década na temperatura global foi estimado (WMO, 2013). A última década (2001-2010) foi considerada pela WMO (2013) a década mais quente desde o início do século XX (1901-1910); observou-se um desvio de +0,88°C em relação à média da variação temporal de longo prazo da temperatura global (NOAA, 2013; NASA, 2013). Na Europa, por exemplo, a variação para o mesmo período foi de +1,0°C, já na América do Sul foi de +0,60°C, em especial no Brasil foi de +0,74°C (WMO, 2013).

Os impactos das mudanças climáticas são diversos. O aquecimento global é apontado como o principal fator causador do derretimento da neve e do gelo do globo e, conseqüentemente, da elevação global do nível do mar (Fukasawa *et al.*, 2004; Jacob *et al.*, 2012; IPCC, 2012; Carr *et al.*, 2013). Nas regiões temperadas, já não se observam mais quatro estações do ano tão bem definidas. Por exemplo, as estações de transição – outono e primavera – estão tardias e mais quentes (Lister-Kaye, 2011; Bradshaw & Holzapfel, 2004; WMO, 2013). Já nas regiões tropicais, os efeitos mais marcantes são um inverno com temperaturas mais altas e cada vez mais seco e um verão ainda mais quente com temporais e chuvas mais caudalosas (WMO, 2013; Ab'Saber, 2009). Esses efeitos são agravados por fenômenos climáticos como El Niño/ La Niña e Oscilações do Atlântico Norte/ Oscilações do Artico (Figura 1).



Figura 1 - Diagrama de causas e consequências das mudanças climáticas.

Por fim, a maior ocorrência de eventos climáticos catastróficos como furacões, ondas de calor e secas estão associados às mudanças climáticas (IPCC, 2012; WMO, 2013). Na última década, estima-se que o prejuízo econômico causado eventos climáticos extremos no mundo inteiro foi de aproximadamente US\$ 660 bilhões (WMO, 2013). Na América do Sul, 80% das perdas estão relacionadas com eventos de precipitação extrema, como o desastre de Itajaí Santa Catarina em 2008 (AbSaber, 2009; Santos, 2010) e de Teresópolis em 2011 (Viana, 2011; Rosseto, 2011).

Diversos esforços estão sendo feitos para mensurar a influência antrópica sobre as mudanças climáticas (IPCC, 2012; Sutton & Dong, 2012; WMO, 2013). Ao mesmo tempo, novas modelagens já buscam alternativas para melhor aproveitar os efeitos das mudanças climáticas (Houston, 2013; Juncheng *et al.*, 2013; Rose & Alen, 2013). Além disso, diversas instituições estão propondo projeções mais precisas sobre eventos meteorológicos ordinários e extremos, que podem guiar políticas públicas a fim de diminuir os efeitos das mudanças climáticas (Huntingford, 2013).

1.2. Causas e Efeito Antropogênico sobre o Aquecimento Global

O aquecimento da Terra é naturalmente dado pela absorção pela superfície terrestre de parte da radiação infravermelha solar que chega ao planeta. Além disso, o restante da radiação é refletido. Parte foge para as camadas mais superiores da atmosfera; outra parte é reenviada para a superfície; e uma outra porção é absorvida por gases atmosféricos - como vapor de água; dióxido de carbono (CO₂), metano (CH₄), Óxido nitroso (N₂O) e aerossóis, como CFC (IPCC, 2007). Esse processo é conhecido como efeito estufa. Estima-se que a temperatura global seria 33°C mais fria, se a composição dessa camada atmosférica fosse diferente (WMO, 2013).

Há duas possíveis causas para o aquecimento global observado nos últimos 100 anos (NASA, 2013): (1) variação na incidência de radiação solar sobre o planeta; e (2) aumento da concentração de gases de efeito estufa na atmosfera, oriundo de atividades humanas.

Diferentes projeções mostram que a variabilidade da radiação solar foi apontada como uma causa para explicar as mudanças climáticas em séculos anteriores (Crowley, 2000; Bard & Frank, 2006). Entretanto, a variação da temperatura observada neste últimos 100 anos, não pode ser atribuída somente à influência da radiação solar (IPCC, 2007; NASA, 2013) devido ao fato de que não há ou há pouca variação no nível de radiação solar e que essa variação não seria suficiente para gerar o aquecimento observado. Além disso, há uma diferença de temperatura entre as camadas atmosféricas mais superiores e inferiores, composta por gases produtores de efeito estufa (NASA, 2013).

Entre 1970 e 2004, houve um aumento de 80% na emissão de gás carbônico (CO₂) na atmosfera (IPCC, 2007). Como resultado, observa-se uma variação na absorção atmosférica da radiação solar e uma maior acidez na superfície oceânica (IPCC, 2007). As consequências diretas dessas mudanças são o aquecimento atmosférico e aquecimento e mudança de pH do oceano (IPCC, 2012; WMO, 2013). Dessa forma, o aumento na concentração de gases de efeito estufa e aerossóis na atmosfera aliado às profundas alterações no uso do solo fornecem evidências fortes de que as mudanças ambientais observadas nos últimos 100 anos são resultantes de uma complexa interação entre ações humanas e causas naturais (IPCC, 2012; WMO, 2013).

1.3. Efeitos no Mundo Biológico

A fauna e a flora global vêm sofrendo com as alterações climáticas recentes. (Parmesan, 2006). Root *et al.* (2003) mostraram que os impactos causados pelo aquecimento global no último século, aliados à destruição do meio ambiente, podem fazer com que as populações das espécies fiquem desconectadas e levar diferentes espécies à extinção. Holmegren *et al.* (2013) mostraram que a variação (aumento) da precipitação nos últimos anos teve um impacto positivo na sobrevivência diferencial em populações da espécie da planta *Welwitschia mirabilis* no deserto da Namíbia.

Bradshaw & Holzapfel (2008) sugerem que a não sincronização e mudanças climáticas na estação do ano causam mudanças nos períodos ótimos de migração e de

diferentes caracteres relacionados à história de vida em diferentes organismos. As alterações nas estações do ano provocaram mudanças na dinâmica migratória de populações europeias do passarinho *Sylvia atricapilla*, cujos indivíduos apresentam um comportamento de reprodução precoce na primavera (Visser *et al.*, 2004).

Os ecossistemas marinhos são altamente afetados pelas mudanças climáticas (Harley *et al.*, 2006). As principais mudanças observadas nos sistemas marinhos são: o aumento da temperatura, aumento no nível do mar e no pH oceânicos. Estas mudanças abióticas provocam mudanças tanto no nível específico, quanto no nível interespecífico. Por exemplo, alterações no pH podem prejudicar a calcificação e crescimento em diversas espécies como no caso da espécie do poliqueta *Hydroides elegans* (Lane *et al.*, 2013). Milazzo *et al.* (2013) mostraram que espécies de peixes associadas a temperaturas mais frias estão deslocando-se para *habitats* menos preferidos em resposta ao aquecimento dos sistemas marinhos e ao aumento da dominância de espécies antagonistas.

A biota montana da região tropical está particularmente vulnerável aos efeitos das mudanças climáticas (Sheldon *et al.*, 2011). Principalmente espécies de invertebrados, anfíbios, répteis e pássaros com distribuições específicas e endêmicas (Pounds, 2006; Laurance *et al.*, 2011).

Joly (2007) acredita que a principal consequência das mudanças climáticas é o aumento exponencial nas taxas de extinção de espécies, particularmente na região Neotropical. Colombo (2007) em um estudo realizado com 38 espécies arbóreas típicas de Mata Atlântica mostra dois cenários: num cenário mais otimista, que prevê um aumento médio superior a 2°C na temperatura da região, haverá uma redução de 30% da área hoje ocupada pela Mata Atlântica; já num cenário pessimista, com um aumento médio superior a 4°C, esta redução pode atingir 65%.

Por outro lado, Ab'Saber (2007a) projeta que os efeitos do aquecimento global podem proteger e ser benéficos para a Mata Atlântica. Ele acredita que no Brasil, o aquecimento causa maior evaporação na região costeira, tornando-a mais úmida. Consequentemente, a Mata Atlântica ficaria mais protegida (Ab'Saber, 2009). Entretanto, esse autor ressalta que é preciso separar os efeitos das mudanças climáticas antropogênicas dos fenômenos geoclimáticos cíclicos, como *El Niño*, para uma projeção mais realista (Ab'Saber, 2010); bem como é fundamental não esquecer a expansão da fronteira agrícola e da urbanização.

Não há um padrão estabelecido de como as diversas espécies estão sendo influenciadas pelas mudanças climáticas. Dessa forma, estudos usando diferentes bioindicadores podem elucidar possíveis dinâmicas evolutivas que as populações estão sofrendo e que permitem fazer previsões mais precisas sobre o futuro de determinada espécie e da biodiversidade local (Parmesan *et al.*, 2007; Pauls *et al.*, 2013).

Além disso, outro aspecto que merece especial atenção é o fato de haver, em alguns locais, medidas implantadas pelo poder público no sentido de preservar e recuperar o ambiente. No entanto, ainda não há consenso para a escolha de índices ou indicadores capazes de avaliar possíveis progressos das diferentes medidas de preservação. Nem tampouco quais são os marcadores biológicos e/ou genéticos mais informativos para esta tarefa. Naturalmente, no momento, a posição mais indicada é a de explorar diversos marcadores, em diversos grupos de espécies e diferentes ecossistemas, de tal forma a acumular informações para melhores decisões que guiem e avaliem as políticas públicas (Dramstad, 2009; Stork *et al.*, 2009).

1.4. Genética e *Drosophila*

O Gênero *Drosophila* apresenta hoje 1177 espécies divididas em 8 subgêneros (Bächli, 2013). Popularmente, as moscas do gênero *Drosophila* – drosófilas – são conhecidas como mosca-da-banana ou mosca-do-vinagre. As drosófilas alimentam-se de leveduras em frutos já caídos, em início de decomposição, e, portanto, não são consideradas pragas agrícolas (Powell, 1997).

Dentre todas as espécies do gênero, a mais conhecida é *Drosophila melanogaster*. Esta espécie foi usada como modelo em pesquisas que contribuíram para o desenvolvimento de princípios básicos da hereditariedade, incluindo herança ligada ao sexo, epistasia, alelos múltiplos e mapeamento gênico e cromossômico (Sturtevant, 1965; Hartwell *et al.*, 2004; O'Connor & Miko 2008).

A elaboração de mapas genéticos de alta resolução é especialmente favorável em *Drosophila*, já que elas apresentam em certas fases de sua vida órgãos com cromossomos politênicos. Os cromossomos politênicos permitem a elaboração de um mapa de alta resolução, pois apresentam centenas de bandas facilmente identificáveis num único cromossomo. Seu uso para a construção de mapas citogenéticos começou com Painter (1933) que desenvolveu a técnica de esmagamento dos cromossomos para *D. melanogaster*. No entanto, foi o trabalho de Bridges (1935) que estabeleceu o padrão

para os mapas de cromossomos politênicos. Ele dividiu os cinco braços principais da espécie em 102 divisões e com grande precisão distinguiu 2650 bandas em sucessivas revisões (e.g., Bridges 1942; Zhimulev 1996).

Desde então, este tipo de trabalho foi aplicado para realizar estudos genéticos em outros gêneros, incluindo diferentes pestes agrícolas e vetores de doenças (Foster *et al.* 1980; Agoze *et al.* 1992; Bedo *et al.* 1994; Puchalla 1994; Zhao *et al.* 1998; Ananina *et al.* 2007; Cecilia *et al.* 2009; Batista *et al.* 2009). Para uma história dos mapas de cromossomos politênicos em *Drosophila*, bem como para mais detalhes, veja: Sorza (1988); Spironello & Hunter (2005).

Os mapas de cromossomos politênicos representam o que há de melhor em termos de mapa citogenético. Eles permitem uma integração entre mapas físicos e genéticos e, ainda, são úteis na medida em que é possível identificar rearranjos cromossômicos com precisão. Desta forma, pode-se realizar inferências filogenéticas, detectar a ação da seleção natural e, em muitas circunstâncias, caracterizar e identificar diferentes espécies (Sperlich & Pfriem, 1986; Anderson *et al.*, 1991; Krimbas & Powell, 1992). Além disto, eles podem ser utilizados para hibridização *in situ* usando a técnica “*fluorescent in situ hybridization*” (FISH) (Brianti *et al.*, 2013), que é importante para localizar genes nucleares em seus devidos locais nos cromossomos. Da mesma forma, podem servir como ferramenta na clonagem de genes alvo de interesse (Saunders *et al.*, 1989; Aggarwal *et al.*, 2009; Andreyenkova *et al.*, 2009).

Em especial, os mapas de cromossomos politênicos permitem a identificação de inversões naturalmente observadas em populações do campo. A partir daí, inferências podem ser feitas sobre diferentes aspectos evolutivos de uma determinada espécie.

1.5. Inversões Cromossômicas

Tradicionalmente, acredita-se que as inversões cromossômicas são geradas por duas quebras independentes e simultâneas e sua posterior ligação ao cromossomo (Krimbas & Powell, 1992). Diversos estudos mostraram diferentes mecanismos que podem ser responsáveis pelas quebras que dão origem às inversões cromossômicas, bem como atuam aumentando sua frequência nas populações; mesmo assim, admite-se que as inversões tenham origem única (Sharakhov *et al.*, 2006; Hoffman & Riesemberg, 2008).

Muitas espécies do gênero *Drosophila* apresentam várias inversões cromossômicas numa mesma população (*D. pseudoobscura* - Stutervant & Dobzhansky, 1936; *D. willistoni* da Cunha *et al.*, 1950; *D. subobscura* - Marinkovic *et al.*, 1978; *D. immigrans* - Fang *et al.*, 1998; entre outras revisadas em Hoffmann & Rieseberg, 2008). Ainda que haja populações monomórficas para inversões cromossômicas (Freire-Maia, 1964), as variações nas frequências de inversões cromossômicas podem ser usadas para estudar e compreender aspectos sobre a história evolutiva destas populações e grupos de espécies (Sperlich & Pfriem, 1986; Krimbas & Powell, 1992; Rieseberg, 2001; Hey, 2003; Schimidt *et al.*, 2005; Presgraves *et al.*, 2009; Rego *et al.*, 2009; Fragata *et al.*, 2010; Hughes *et al.*, 2010). Em especial, destaca-se a importância do polimorfismo de inversões cromossômicas como um potencial bioindicador para detectar respostas genéticas às mudanças ambientais (Hoffmann & Danborn, 2007; Hoffmann & Willi, 2008; Balanyà *et al.*, 2009)

Em Dípteros, o estudo de inversões se torna um sistema altamente favorável pela presença dos cromossomos politênicos, que em heterozigose apresentam alças facilmente reconhecíveis (Krimbas & Powell, 1992). As inversões são marcadores genéticos que se comportam como alelos mendelianos codominantes (Hoffmann & Rieseberg, 2008; Kirkpatrick 2010).

Uma das propriedades das inversões é que, em heterozigose, elas são capazes de suprimir o *crossing-over* (Stutervant 1917, 1926, 1931). Dobzhansky (1947) postulou que as inversões transportariam e manteriam complexos gênicos ligados, coadaptados, que seriam favorecidos pela seleção natural, pois impediriam que os conjuntos de genes coadaptados entre si fossem desfeitos pela recombinação (Dobzhansky, 1970).

Desde o trabalho de Wright & Dobzhansky (1946), vários estudos reiteradamente mostraram que as inversões provavelmente evoluem sob a ação da seleção natural. Por exemplo, através do monitoramento temporal das mudanças das frequências em longo e curto prazo (variação estacional), tanto em populações de laboratório (Wright & Dobzhansky, 1946) quanto em populações naturais (Dobzhansky & Levene, 1948; Rodriguez-Trelles, 1996; Etges & Levitan, 2008; Balányà *et al.*, 2009; Rodriguez-Trelles & Rodriguez, 2010; Batista *et al.*, 2012). Semelhantemente, as variações geográficas nas frequências são interpretadas como evidências *prima facie* da seleção natural (Wasserman, 1963; Anderson *et al.*, 1991, 2005; Umina *et al.*, 2005; Batista, 2010).

Além disso, a associação entre inversões cromossômicas e caracteres que afetam o valor adaptativo em diferentes espécies, como: tamanho e forma da asa (Bitner-Mathé *et al.*, 1995; Santos *et al.*, 2004; Hatadani & Klaczko, 2008) e genitália (Andrade *et al.*, 2005, 2009; Schäfer *et al.*, 2011); policromatismo (Hatadani *et al.*, 2004; Joron *et al.*, 2011; Wittkopp *et al.*, 2011); *sex ratio* (Carvalho *et al.*, 1989; Corbett-Detig & Hartl, 2012); caracteres fisiológicos (Rako *et al.*, 2007, Calabria *et al.*, 2012, entre outros). No entanto, as múltiplas formas pela quais os polimorfismos de inversões cromossômicas são mantidos continuam sendo uma importante questão a ser investigada.

1.6. Aquecimento Global e Inversões Cromossômicas em *Drosophila*

Análises temporais de longo prazo do polimorfismo de inversões cromossômicas em diferentes espécies de *Drosophila* se mostraram uma ferramenta poderosa para detectar rápidas alterações genéticas causadas pela mudança das condições climáticas (Hoffmann & Rieseberg, 2008). Knibb (1982) estudando populações australianas de *D. melanogaster* descreveu um cline latitudinal para a inversão *In(3R)Payne*, no qual sua frequência aumentava em populações mais próximas do equador. Após cerca de vinte anos, Anderson *et al.* (2005) e Umina *et al.* (2005) mostraram que houve aumento da frequência desta inversão em todas as populações da Austrália, sugerindo que esta é uma resposta direta aos efeitos do aquecimento global. Observações semelhantes em diferentes populações norte-americanas de *D. robusta* foram descritas por Levitan & Etges (2005; 2009) e Etges & Levitan (2008).

Um padrão similar foi observado para os arranjos do cromossomo *O* de *D. subobscura*. Primeiro, Rodriguez-Trelles *et al.* (1996) e Rodríguez-Trelles & Rodríguez (1998) mostraram o aumento da frequência de arranjos típicos do sul da Espanha no final da década de 90 em populações espanholas. Balanyà *et al.* (2006; 2009) compararam as frequências de inversão em populações de *D. subobscura* de três continentes; e descreveram alterações nas frequências de inversão consistentes com as alterações climáticas observadas para as localidades, sugerindo que estes padrões podem ser uma resposta às alterações do aquecimento global. No entanto, não se tem certeza de como a temperatura é diretamente responsável por tais mudanças genéticas.

Contrastando com estes exemplos, populações norte-americanas de *D. pseudoobscura* não apresentaram nenhuma variação consistente em 40 anos de monitoramento do polimorfismo de inversões cromossômicas (Anderson *et al.*, 1981),

apesar de Schaeffer (2008) apontar uma oscilação nas frequências das populações da Costa do Pacífico. A análise do polimorfismo em populações indianas de *D. ananassae* também não indicou uma diferenciação temporal em vinte anos de acompanhamento da frequência das inversões cromossômicas (Singh & Singh, 2007). Cabe ressaltar que nenhum dos exemplos acima mencionados foi realizado com uma espécie neotropical, o que deixa uma óbvia lacuna nos estudos das consequências do aquecimento global.

1.7. *Drosophila mediopunctata*

Drosophila mediopunctata pertence ao grupo *tripunctata*, do subgênero *Drosophila*. O grupo *tripunctata* é um dos maiores entre os grupos de espécies de *Drosophila* de florestas neotropicais com 80 espécies (Bächli, 2013). *D. mediopunctata* tem ampla distribuição geográfica, tendo sido encontrada em matas de várias localidades do Brasil, da América do Sul e Central, até El Salvador (Figura 2; Val *et al.*, 1981; Bächli, 2013). Durante o inverno, principalmente na região sul do Brasil, ela chega a ser a mais comum entre as *Drosophila* coletadas (Saavedra *et al.*, 1995); no entanto ela é rara ou ausente nas caatingas e cerrados (Tidon-Sklorz & Sene, 1995; Tidon, 2006; Hatadani *et al.*, 2009; Brianti *et al.*, 2009).

D. mediopunctata apresenta características marcantes em relação a outras espécies do gênero. Primeiramente, apresenta um ciclo de vida longo – de aproximadamente 28 dias em baixas temperaturas – enquanto outros modelos, como *Drosophila melanogaster*, *D. willistoni*, *D. pseudoobscura* – que pertencem ao subgênero *Sophophora* – apresentam ciclo de vida curto. Ela é uma espécie exclusiva de floresta tropical e subtropical, ainda que esteja adaptada a temperaturas mais frias. Por fim, apresenta um tempo longo de maturidade sexual; e uma fecundidade relativamente baixa. Estas características a candidatam a ser um bom modelo biológico, justamente por contrastar com a biologia dos outros modelos e, portanto, ter o potencial de revelar peculiaridades e fenômenos que os outros modelos não mostram (Klaczko, 2006).

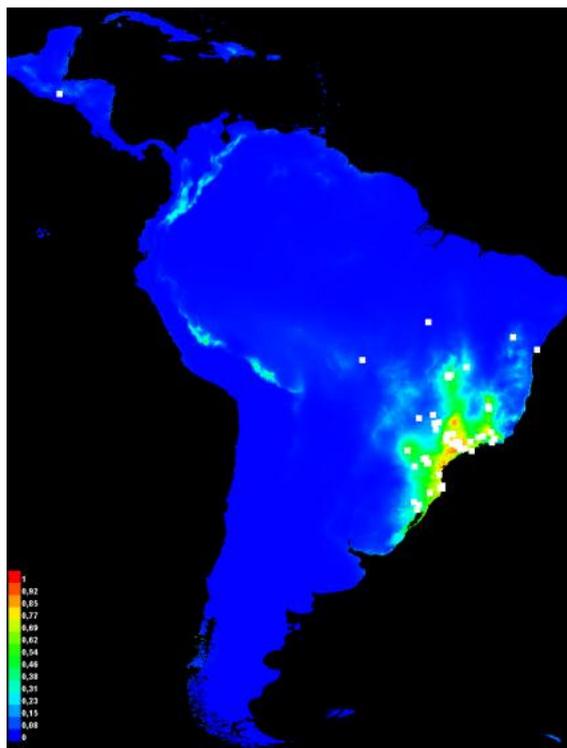


Figura 2 – Distribuição da espécie *Drosophila mediopunctata*. As regiões coloridas são localidades com provável chance de se coletar esta espécie. Os pontos brancos são as localidades onde a espécie já foi coletada (Bächli, 2013). Figura gerada pelo software DIVA-GIS (Hijmans *et al.*, 2012) com os dados da modelagem de nicho gerados pelo software Maxent (Phillips *et al.*, 2006).

D. mediopunctata, como muitas espécies pertencentes ao grupo *tripunctata*, apresenta uma ornamentação na região abdominal sob a forma de três pintas na porção média dos últimos tergitos (Frota-Pessoa, 1954). Verificou-se que este caráter apresenta uma variação genética e alta plasticidade fenotípica em resposta à temperatura de desenvolvimento, associada ao polimorfismo do segundo cromossomo (Hatadani *et al.*, 2004). Rocha *et al.* (2009) caracterizaram a norma de reação deste caráter em função da temperatura para alguns genótipos e verificaram que na maioria dos casos estudados ela podia ser descrita por uma função não-linear cuja curvatura estava correlacionada ao valor médio do caráter.

Bitner-Mathé & Klaczko (1998) descreveram a variação e estimaram a herdabilidade “natural” do número de ramos das aristas na população do Parque Nacional do Itatiaia, RJ. Eles mostraram que fêmeas do campo apresentavam um número de ramos de arista significativamente menor que o de suas filhas criadas em condições padronizadas no laboratório; e que o caráter não apresentava nenhuma variação altitudinal, nem entre as diferentes coletas realizadas no Parque Nacional do

Itatiaia, RJ entre setembro de 1986 e novembro de 1988. Analisando os machos coletados, que tiveram seu cariótipo para as inversões do cromossomo II determinado, esses autores não detectaram nenhuma diferença significativa entre os vários cariótipos para o número de ramos da arista.

Entretanto, para a mesma população, Bitner-Mathé *et al.* (1995) mostraram que, para o tamanho da asa, há uma interação entre o cariótipo dos animais e a data de coleta, evidenciando uma interação genótipo ambiente; enquanto que, para a forma da asa, há claras diferenças entre cariótipos, mas não há interação com a data de coleta. Já, Bitner-Mathé & Klaczko (1999a) descreveram um cline altitudinal tanto para o tamanho quanto para a forma ao analisar as filhas de moscas coletadas em diferentes altitudes, porém nas moscas do campo esse cline não era significativo.

Hatadani & Klaczko (2008) mostraram, em condições controladas no laboratório, que o tamanho e a forma da asa sofrem influência do cariótipo do cromossomo II, do sexo e da temperatura. Encontraram, ainda, evidências sugestivas da interação entre o cariótipo e a temperatura sobre a forma da asa, sugerindo a existência da interação genótipo-ambiente sobre este caráter, e que esta interação pode estar correlacionada com diferenças sazonais. Dessa forma, pode ser que o conteúdo genético das inversões esteja acumulando diferentes alelos adaptados a diferentes temperaturas.

Por fim, um novo método para a análise morfométrica da asa foi proposto usando como modelo a figura geométrica da elipse (Klaczko & Bitner-Mathé, 1990; Bitner-Mathé & Klaczko, 1999b), com resultados consistentes com os observados usando outras metodologias mais complexas de análise morfométrica.

A variação morfológica do edeago da espécie também foi estudada por Andrade *et al.* (2005) que testaram a influência da temperatura sobre este órgão. Eles mostraram que esta variável ambiental afeta o tamanho e forma do órgão fazendo com que as moscas criadas em temperaturas mais baixas tenham edeagos maiores. Andrade *et al.* (2009) caracterizaram a variabilidade natural para o tamanho e a forma do edeago, sua correlação com o tamanho e a forma da asa e, também, demonstraram que o tamanho do edeago sofre influência do cariótipo do segundo cromossomo.

Carvalho *et al.* (1989) descreveram o fenômeno *sex-ratio* (proles afetadas com grande excesso de fêmeas) em *D. mediopunctata* oriundas do Parque Nacional Do Itatiaia, demonstrando que ele está associado ao polimorfismo de inversões do cromossomo X, em especial, associado ao haplótipo *In(X)21*. Machos X:21/Y têm proles *sex-ratio* enquanto machos X:St/Y têm proles normais. O estudo das causas

genéticas da variação da expressão de *sex-ratio* revelou a existência de genes supressores localizados em cada um dos autossomos principais (Carvalho & Klaczko, 1993). Como também, foi identificado um complexo sistema de supressão ligado aos cromossomos X e Y (Carvalho & Klaczko, 1994; Carvalho *et al.*, 1997). Por fim, aproveitando-se da complexa determinação genética deste fenômeno, Carvalho *et al.* (1998) fizeram uma demonstração no laboratório do princípio de Fisher.

Entre outros marcadores genéticos desenvolvidos para esta espécie, destacam-se as mutações de efeito visível e microssatélites. Diversas linhagens de mutantes recessivos e dominantes com fenótipos semelhantes aos dos genes *Antennapedia* e *Delta* em *D. melanogaster* foram obtidos por raios X e tiveram sua localização cromossômica determinada (Marques *et al.*, 1991; Ananina, 2003). Tais linhagens são estoques fundamentais para diversas análises genéticas. Além disso, 134 *loci* de microssatélite foram desenvolvidos para *D. mediopunctata* com uma alta taxa de amplificação em outras 30 espécies do gênero (Laborda *et al.*, 2009a, b). O uso de microssatélites abre uma série de possibilidades de pesquisas com objetivos de estudar estruturas de populações, ou identificar genes associados a características quantitativas.

1.8. O Polimorfismo de Inversões em *Drosophila mediopunctata*

Drosophila mediopunctata apresenta cinco pares de cromossomos acrocêntricos e um par de pontuais, que não se politeniza (Katristsis, 1966). Brianti *et al.* (2013) estabeleceu a homologia dos cromossomos de *D. mediopunctata* com os de *D. melanogaster*. Foi possível identificar os elementos de Muller, com sondas marcadas de genes de *D. melanogaster* em hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) nos cromossomos politênicos de *D. mediopunctata*.

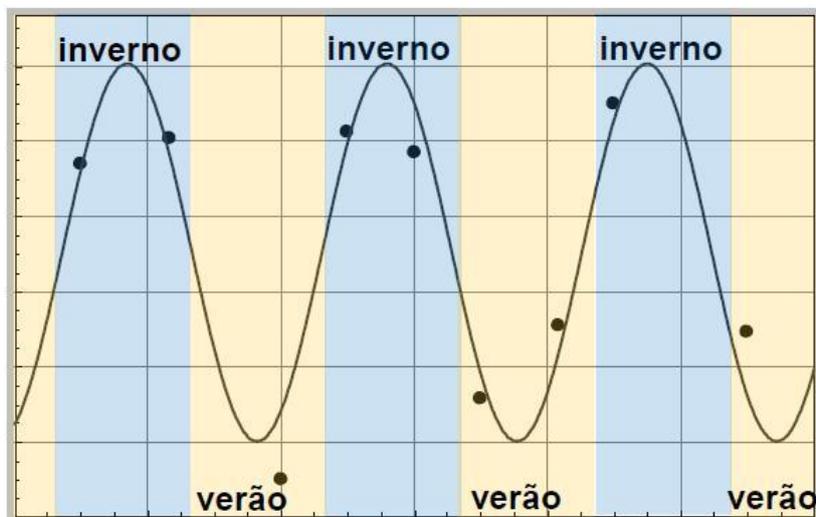
Ananina *et al.* (2002) e Brianti *et al.* (2013) publicaram o mapa e o fotomapa, respectivamente, dos cromossomos politênicos com uma alta resolução das bandas e com as marcações dos pontos de quebra das inversões que ocorrem naturalmente nessa espécie. Os cromossomos polimórficos são: o cromossomo X, com quatro arranjos; o cromossomo IV, com dois arranjos; e o cromossomo II, o mais polimórfico, que apresenta oito inversões na região distal (*DA, DI, DV, DP, DS etc.*) e nove na região proximal (*PA0, PB0, PC0 etc.*), 17 no total (Peixoto & Klaczko, 1991; Ananina *et al.*, 2002).

Em princípio é possível a ocorrência de 72 possíveis combinações – haplótipos – entre inversões das regiões distal e proximal do segundo cromossomo, já que não há sobreposição entre estas duas regiões (Ananina *et al.*, 2002; Klaczko, 2006). No entanto, há um forte desequilíbrio de ligação entre as inversões das duas regiões. Peixoto & Klaczko (1991) mostraram que em uma amostra de 2130 cromossomos, apenas 31 dos 72 possíveis haplótipos foram encontrados com valores altos do índice de Desequilíbrio de Ligação Normalizado (D' ; Lewontin, 1964; 1988). Entre os 1086 cromossomos com a inversão *DA* na região distal, 1015 (94%) estavam associados à inversão proximal *PA0* formando o haplótipo *DA-PA0*; com um coeficiente de desequilíbrio de ligação normalizado $D' = 0,976$. Da mesma forma, 91% dos cromossomos com *DI* estavam associados a *PB0* formando o haplótipo *DI-PB0* ($D' = 0,857$); 96% dos *DS* associados a *PC0* (*DS-PC0*) ($D' = 0,948$), e 98% dos *DP* a *PC0* (*DP-PC0*) ($D' = 0,974$). Estes quatro haplótipos representaram 87,2% dos haplótipos observados na população do Itatiaia (Peixoto & Klaczko, 1991). As frequências destes quatro arranjos distais somam em torno de 90% nas populações do Sudeste do Brasil. Se acrescentamos a inversão *DV*, elas representam cerca de 95% das inversões distais observadas em todas as populações estudadas até agora.

Dessa forma, levando em conta o desequilíbrio de ligação e as frequências dos haplótipos, podemos restringir as análises das populações do Sudeste brasileiro desta espécie apenas aos quatro ou cinco arranjos mais frequentes da região distal do cromossomo II. E, mesmo com essa simplificação, teremos capturado a maior parte da informação relevante (Batista *et al.*, 2012).

Ananina *et al.* (2004) analisaram o polimorfismo de inversões da população do Parque Nacional do Itatiaia, RJ. Eles mostraram que o arranjo mais comum (*DA*) apresenta uma variação cíclica estacional ao longo dos anos (Figura 3). A frequência de *DA* aumenta nos meses mais frios e secos e diminui nos meses quentes e chuvosos. Essa variação é compensada pela frequência de *DP* e *DS*, que exibem o padrão oposto. Consistentemente, foi verificada ainda a correlação das frequências destes arranjos com a altitude. O arranjo *DA* apresentou alta correlação positiva com a altitude e negativa com a temperatura média do mês de coleta; enquanto que *DP* e *DS* apresentaram correlação negativa com a altitude, e positiva com a temperatura. Já, *DI* não apresentou correlação nem com a altitude nem com a temperatura. Esses dados considerados em conjunto sugerem fortemente que as frequências das inversões reflitam a adaptação da

população, na qual *DA* estaria adaptada ao frio e *DS+DP* adaptadas ao calor. Essa correlação poderia explicar tanto a variação sazonal quanto o cline altitudinal.



$r = 0,955$ *** – Sinusoidal Fit: $y = a + b \times \cos(c x + d)$

Coefficient Data: $a = 0.50257$; $b = 0.0537$; $c = 0.5370$; $d = -3.7923599$

Figura 3 - Variação Estacional da Frequência da Inversão Distal *DA* do Cromossomo II de *D. mediopunctata* no Parque Nacional do Itatiaia em 9 coletas de 1986 a 1988 (Ananina *et al.*, 2004; Klaczko, 2006). A curva da função sinusoidal ajustada, com os parâmetros mostrados, está acima. Os pontos no alto do gráfico são de coletas da estação fria-seca (**inverno**) e os da parte inferior da estação quente-úmida (**verão**).

2. Características Geofísicas e Florísticas do P. N. do Itatiaia

O Parque Nacional do Itatiaia (22°26'S, 44°37'W) é a primeira unidade dedicada à preservação e conservação do meio ambiente no Brasil (Decreto nº 1.713 de 14 de junho de 1937). Localizado na Serra da Mantiqueira próximo à fronteira entre os estados do MG, SP e RJ - cerca de 200 km da cidade do Rio de Janeiro, RJ - o parque apresenta uma área de 28.084,1 ha de uma rica biodiversidade e afloramentos geológicos e rochosos ímpares (ICMBIO, 2013).

O Parque Nacional do Itatiaia está localizado sobre a unidade geomorfológica do Planalto Atlântico – Mares de Morros (Almeida, 1964; Ab'Saber, 2007b; Martinelli, 2009) e apresenta relevo montanhoso com grandes afloramentos rochosos e altitudes variando aproximadamente entre 540m e 2.791m, próximo ao cume do Pico das Agulhas Negras, quinto mais alto do país (IBGE, 2005; ICMBIO, 2013). Predominantemente, o solo do Parque Nacional do Itatiaia apresenta Cambissolos e em

regiões de declividade Neossolos Litólicos entre os afloramentos de rocha (Almeida, 2011, Gustavo *et al.*, 2012). Os afloramentos rochosos são formados por rochas metamórficas constituindo gnaisses e rochas alcalinas (IBDF, 1982).

O clima na região do Parque Nacional do Itatiaia é peculiar devido sua orografia (IBDF, 1982) e pode ser classificado como mesotérmico de dois tipos, segundo o sistema de Köppen: 1 - Tipo Cwb – nas regiões acima de 1600m o clima é mesotérmico, com verão brando que constitui a estação chuvosa, para as áreas mais elevadas, acima de 1.600m de altitude; 2 - Tipo Cpb – mesotérmico, com verão brando, sem estação seca, nas partes mais baixas da encosta. Por fim, a região do Parque Nacional do Itatiaia apresenta duas estações do ano bem distintas: entre os meses de maio-setembro – estação fria e seca; e entre os meses de novembro-março – estação quente e chuvosa (IBDF, 1982).

As características orográficas e climáticas particulares da região do Parque Nacional do Itatiaia oferecem a oportunidade para formar a rica biodiversidade observada no Parque Nacional do Itatiaia. A vegetação do Parque Nacional do Itatiaia pode ser classificada como Floresta Ombrófila Montana (IBGE, 1992), e com regiões de Floresta Estacional Semidecidual Montana (Santos & Zikan, 2000; Morim, 2006). Brade (1956) já cita diferenças na fisionomia da mata e que há uma associação entre a composição de espécies e a altitude. A região mais alta do Parque Nacional do Itatiaia apresenta ilhas naturalmente fragmentadas com uma vegetação mais rasteira características de campos de altitude (IBDF, 1982; Brade, 1956).

Por fim, o parque apresenta uma estrutura especialmente favorável para estudos evolutivos e ecológicos. Há trilhas muito favoráveis para observação e coleta de indivíduos no gradiente altitudinal ao longo de toda BR 485. Além do fato de haver duas estações do ano bem definidas.

3. Mudanças climáticas na região do P. N. do Itatiaia

Testamos a variação de longo prazo para as temperaturas máximas, média e mínima e da precipitação para a região do Parque Nacional do Itatiaia (dados tomados na estação automática de Resende, RJ – INMET- 22°43'S, 44°45' W; Altitude: 440m; disponíveis no site: <http://www.agritempo.gov.br/estacoes.html>).

Observamos na Figura 4, a correlação positiva e significativa das temperaturas média e mínima com o ano (Tmed: $r = 0.46$, $p = 0.0195$; Tmin: $r = 0.62$, $p = 0.0009$). A

Figura 5 mostra uma aparente tendência de decréscimo para a soma da precipitação anual ($r = -0.399$, $p = 0.048$). Entretanto, ao remover os anos de 2006 e 2007 da análise (pontos *outliers*), nenhuma tendência é observada e a correlação não é mais significativa ($r = 0.318$, $p = 0.130$).

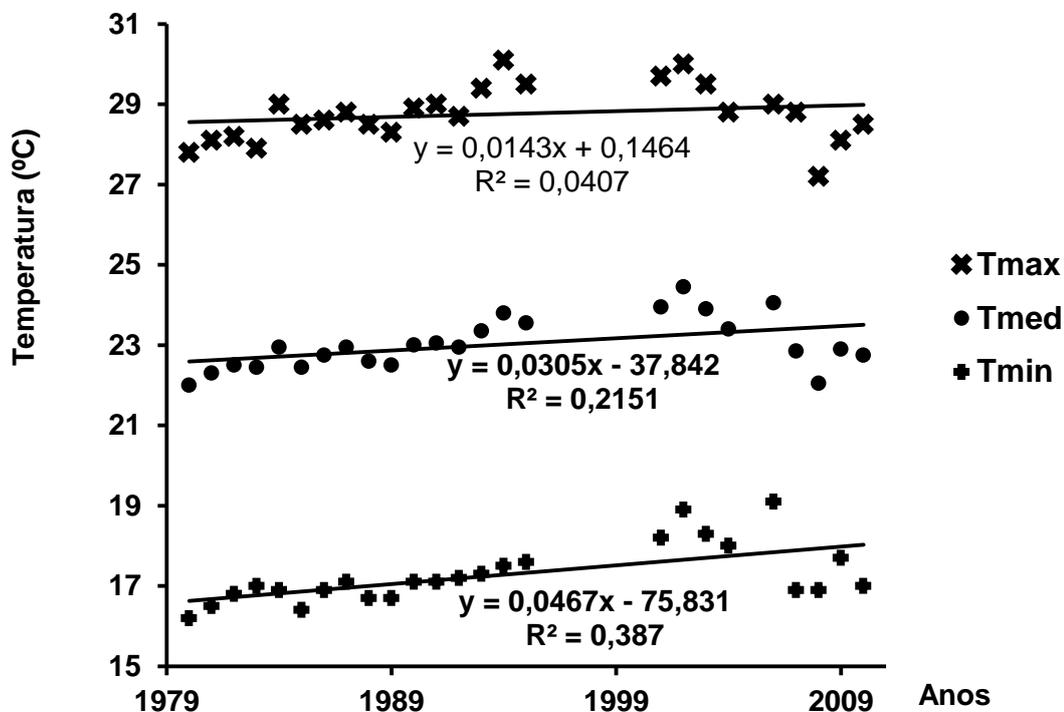


Figura 4 – Variação temporal de longo-prazo da temperatura na região do Parque Nacional do Itaipua, RJ.

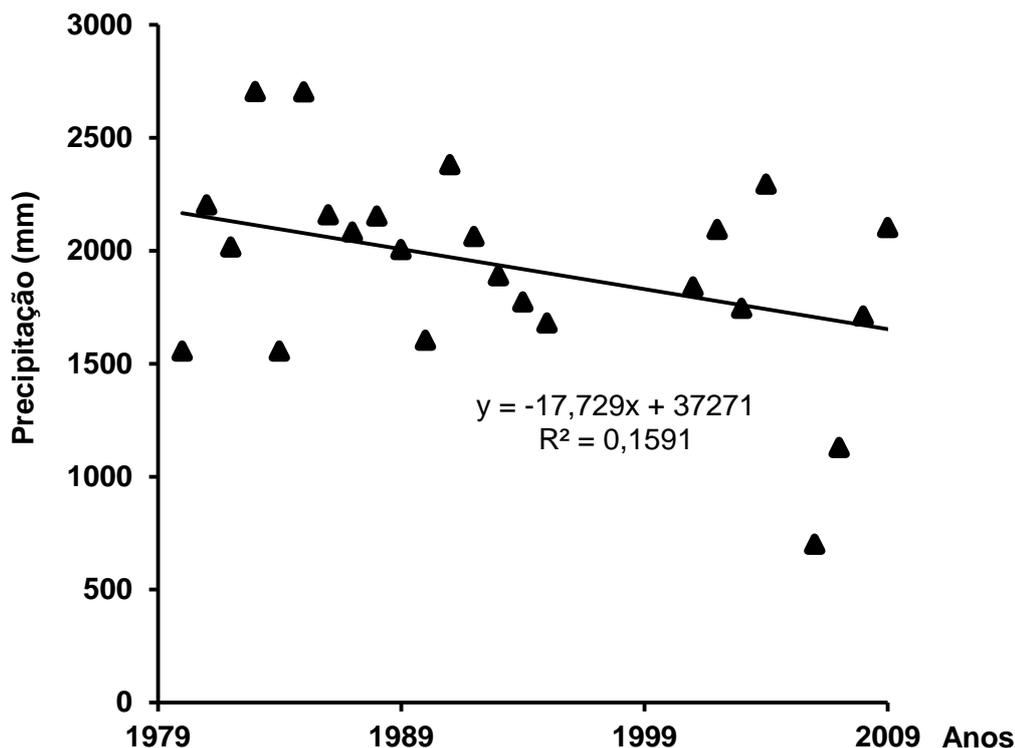


Figura 5 – Variação de longo prazo da precipitação anual da região do Parque Nacional do Itatiaia, RJ.

Os resultados indicam que há uma tendência de aumento nos valores da temperatura média e mínima além das variações na precipitação consistentes com as mudanças climáticas globais consideradas pelo IPCC (IPCC, 2007; Easterling *et al.*, 1997). Medidas mais precisas e estudos sobre os efeitos das mudanças climáticas nesta região ainda são necessários, pois o Parque Nacional do Itatiaia ainda está sujeito a muitos focos de incêndio durante a estação fria-seca (Tomzinhski *et al.*, 2012) e a chuvas caudalosas na estação quente-chuvosa, o que pode ter como consequências deslizamentos de terra, enxurradas e trombas d'água.

4. Coletas e Estratégia Experimental

Entre junho de 2007 e agosto de 2010, novas coletas de *Drosophila mediopunctata* foram realizadas no Parque Nacional do Itatiaia, RJ. Nosso objetivo era verificar se a população de *D. mediopunctata* sofreu alterações nas frequências das inversões do cromossomo II concomitantes às mudanças climáticas. Especificamente, queríamos verificar se nesta população, as inversões associadas à estação quente e chuvosa (*DS* e *DP*) aumentariam de frequência à custa da inversão *DA* associada à

estação fria e seca. Além disso, verificar se as correlações entre as frequências de inversão e a altitude e variáveis climáticas ainda continuam sendo as mesmas daquelas anteriormente publicadas (Ananina *et al.*, 2004).

A estratégia experimental para evitar misturar os efeitos altitudinais e estacionais foi: (1) - para testar se ainda há variação cíclica estacional entre as inversões *DA*, *DS* e *DP* - coletar em duas altitudes (750 e 950m) em todas as ocasiões de coleta; (2)- para testar se as inversões *DA*, *DS* e *DP* ainda apresentam correlação com a altitude - coletar uma vez, simultaneamente, em 8 altitudes – coleta na estação seca e fria de 2009; (3) para comparar as frequências de 1986-88 com as atuais, coletamos amostras em diferentes altitudes e em diferentes estações do ano para estimar as frequências de inversões do cromossomo II.

As moscas foram coletadas passando rede entomológica sobre pratos com iscas de bananas fermentadas e, então, trazidas ao laboratório e triadas. Após a triagem, separamos individualmente cada fêmea em tubos e montamos estoques isofêmeas. Além disso, cada macho coletado foi colocado com 3 fêmeas virgens da estirpe homocariotípica ITC-229-ET em tubo com meio de cultura, repicado e sempre mantido em condições laboratoriais favoráveis para preparações citológicas. As lâminas foram preparadas usando larvas de terceiro instar fixadas em 1N HCl, coradas com orceína-lático-acético (Ashburner, 1989).

As frequências de inversões do cromossomo II foram estimadas pelo método de amostragem de ovos e pelo método do macho (Arnold, 1981, Ananina *et al.*, 2004). O método de amostragem de ovos consiste na cariotipagem de uma única larva F1 de cada estirpe isofêmea. O método do macho é a inferência do cariótipo do macho do campo através da análise de 8 larvas da F1 oriundas dos cruzamentos dos machos do campo com a estirpe padrão. Daí, comparamos as frequências estimadas pelos dois métodos usando um qui-quadrado de contingência e como não houve nenhuma diferença, nós agrupamos as frequências.

As frequências de inversões foram transformadas angularmente (Zar, 2010) para fazer os testes de correlação de Pearson entre estas e as temperaturas do mês de coleta e a altitude assim como publicado anteriormente (Ananina *et al.*, 2004).

5. Mudanças genéticas na população de *D. mediopunctata* do P. N. Itatiaia

A comparação entre a média das frequências atuais (2007-2010) e aquelas publicadas 1986-1988 mostrou uma diferença significativa ($X^2 = 74,97$; $p < 0.001$). Observamos

um inesperado aumento nas frequências médias das inversões *DA* e *DI*, enquanto *DS*, *DP* e *DV* – associadas a temperaturas mais altas, diminuíram de frequência (Figura 6).

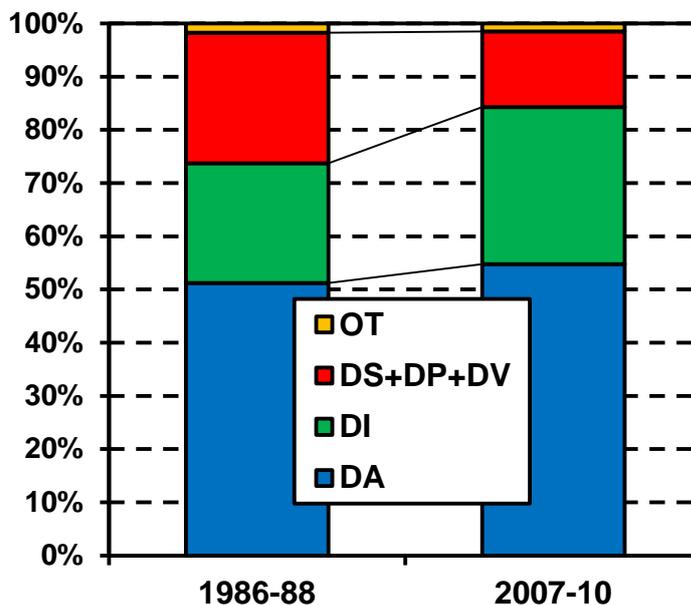


Figura 6 – Comparação entre as médias das frequências nas duas épocas de coletas.

Comparamos, ainda, as frequências entre as estações fria-seca (coletas de outono e inverno) e quente-chuvosa (primavera e verão). A Figura 7 mostra há diferenças entre as frequências nas estações. As frequências das inversões *DA* e de *DS + DP + DV* ainda apresentaram variação estacional, e *DI* não apresentou nenhuma variação estacional, como previamente publicado (Figuras 7 e 8).

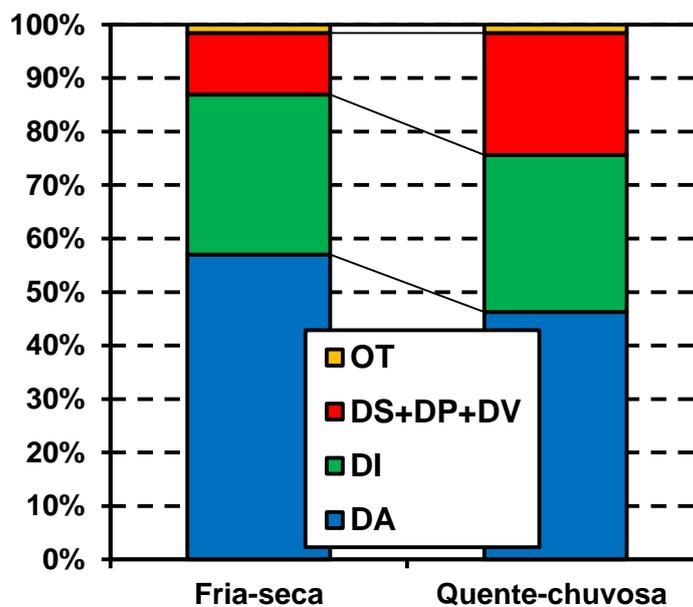


Figura 7 – Comparação entre as frequências de inversão nas estações do ano.

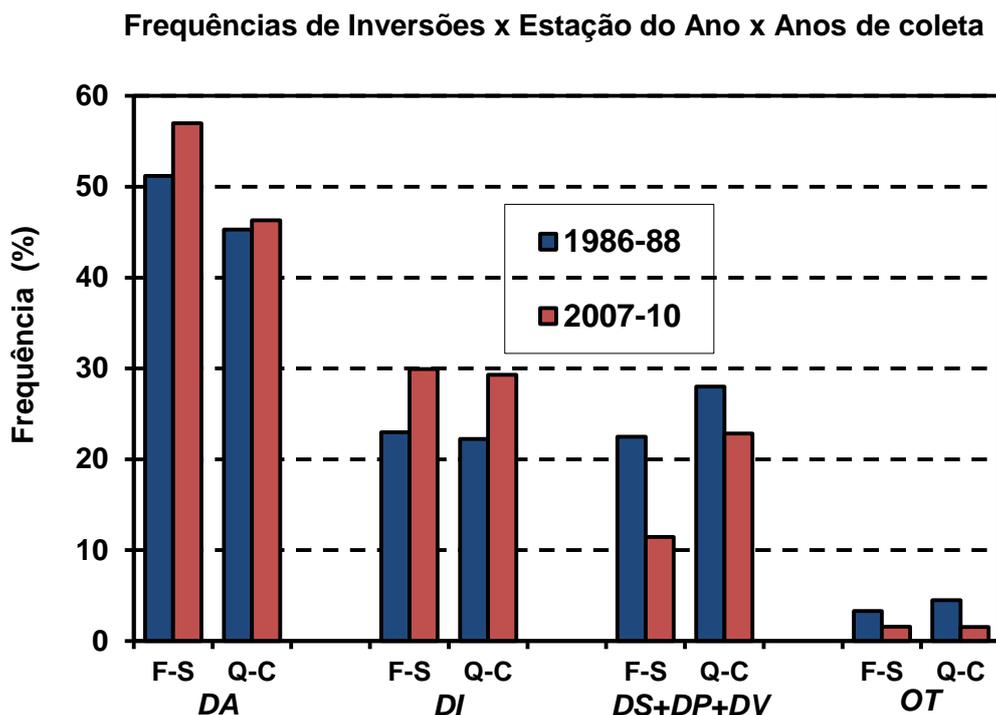


Figura 8 – Comparação entre a variação estacional das frequências de inversões cromossômicas em duas ocasiões de coleta.

A Figura 9 mostra os gráficos de correlação das variações altitudinais das frequências de inversão na população do Parque Nacional do Itatiaia. Para esta análise usamos as frequências da coleta de outono de 2009 (Figura 10). Não observamos mais uma correlação significativa entre a inversão *DA* e a altitude ($r = -0.12$, $p = 0.78$), entretanto, *DS* ainda mostra uma correlação negativa e significativa ($r = -0.71$, $p < 0.05$) como previamente. Como *DP* está apresentando uma frequência baixa, agrupamos as frequências de *DS + DP + DV*, e consistentemente, observamos a correlação com a altitude ($r = -0.82$, $p = 0.013$). Note-se que nesse caso a inclinação das retas das regressões das frequências de inversões pela altitude é semelhante nos dois anos (as retas são paralelas). No entanto, paradoxalmente, a reta dos anos mais recentes, em que houve aquecimento global, tem um valor de intercepto menor, indicando frequências menores das inversões. Por outro lado, surpreendentemente, *DI* agora apresenta uma correlação positiva com a altitude ($r = 0.75$, $p = 0.032$).

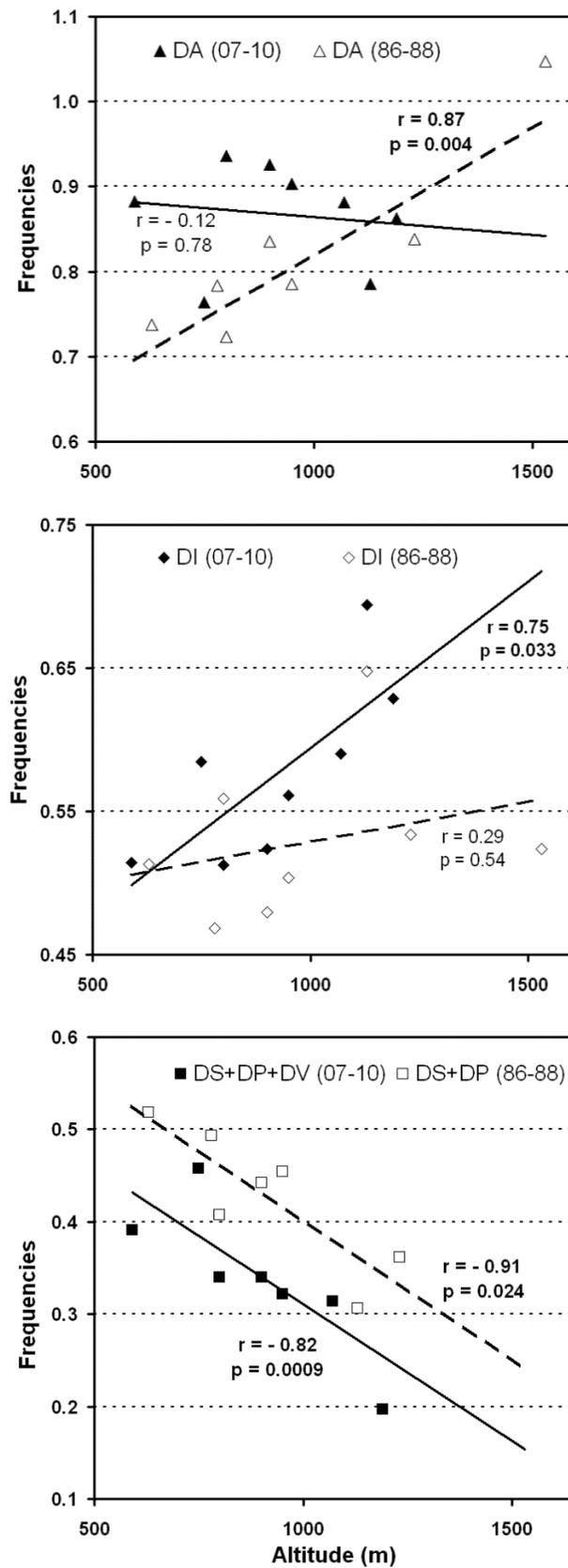


Figura 9 - Variação altitudinal das frequências de inversão na população do P. N. do Itatiaia.

A Tabela 1 mostra as correlações entre frequências de inversão e as variáveis climáticas - temperatura e precipitação do mês de coleta. Esta análise mostra que as correlações continuam consistentes com aquelas já publicadas (Ananina *et al.* 2004): *DA* é negativamente correlacionada com a temperatura precipitação, embora, não significativamente (temperatura: $r = -0.55$, $p = 0.20$; precipitação: $r = -0.74$, $p = 0.055$). Já *DS* é positiva e significativamente correlacionada com a temperatura e precipitação (temperatura: $r = 0.756$, $p = 0.049$; precipitação: $r = 0.797$, $p = 0.032$). Não observamos correlações significativas entre essas variáveis e a frequência de *DI*.

Tabela 1 - correlações entre frequências de inversão e as variáveis climáticas - temperatura e precipitação do mês de coleta. As correlações significativas estão destacadas em negrito.

Inversões	Temperatura		Precipitação	
	r	p	R	p
<i>DA</i>	-0.548	0.202	- 0.744	0.055
<i>DI</i>	-0.390	0.386	0.076	0.871
<i>DS</i>	0.756	0.049*	0.796	0.032*
<i>DS + DP + DV</i>	0.725	0.065	0.748	0.053
<i>OT</i>	0.355	0.434	- 0.101	0.829

OT: inversões raras.

6. Conclusões

Alterações no sentido do aumento da temperatura média e mínima na região do Parque Nacional do Itatiaia ($T_{méd}$: $r = 0,84$; $p < 0,01$. $T_{mín}$: $r = 0,92$; $p < 0,01$) e uma variação na precipitação sugerem que a região do Parque Nacional do Itatiaia pode sofrer os impactos das mudanças climáticas (IPCC, 2007). Uma análise mais precisa com outras variáveis climáticas ainda se faz necessária, para

mostrar as consequências das mudanças climáticas nessa região. E ainda, mostrar quais as estratégias mais eficazes que o Parque Nacional do Itatiaia pode adotar para mitigar os efeitos mais catastróficos das mudanças climáticas.

A frequência da inversão *DI* apresentou um aumento aproximado de 8% nas coletas de estação fria-seca e de 5% na estação quente-chuvosa. Este é um resultado inesperado, já que as inversões *DS* e *DP* aumentavam suas frequências em meses quentes. Santos *et al.* (2005) mostraram que inversões cromossômicas que aumentaram sua frequência em populações de laboratório – originadas de populações de menores latitudes - em resposta à diferentes tratamentos térmicos, não eram necessariamente a mesma inversão cuja frequência aumentara em populações naturais.

Nas coletas da década de 80, também foram observados clines altitudinais para as inversões *DA*, *DS* e *DP*. A inversão *DA* aumenta sua frequência altitudes mais elevadas, já *DS* e *DP* apresentam o padrão oposto (dados publicados em Ananina *et al.*, 2004). Depois de duas décadas, a população do Parque Nacional do Itatiaia não mostra o mesmo padrão de variação altitudinal. A frequência da inversão *DA* não apresenta mais uma correlação significativa com a altitude. Já as frequências agrupadas das inversões *DS*, *DP* e *DV* continuam a variar negativa e significativa com a altitude. Por fim, inesperadamente, a inversão *DI* mostra agora uma correlação positiva e significativa com a altitude. Análises futuras devem ser realizadas para compreender a natureza desta correlação, já que a inversão *DI* não apresenta nenhuma correlação com variáveis climáticas.

A variação na frequência de inversões cromossômicas pode ser fruto de adaptação local a ambientes heterogêneos (Wright & Dobzhansky 1946; Navarro & Barton, 2003; Hoffmann *et al.*, 2004; Kirkpatrick & Barton, 2006). Schaeffer (2008) aponta que a influência antrópica - uso de agrotóxicos e pesticidas, poluição do ar e em especial, o aquecimento global - pode mudar as características do ambiente e assim forçar mudanças genéticas em populações que vivem neste ambiente.

Schaeffer *et al.* (2003) e Schaffer & Anderson (2005) mostraram diferentes mecanismos que podem levar a mudanças no conteúdo genético das inversões cromossômicas, especialmente nas regiões onde há uma redução no desequilíbrio de ligação entre grupos de nucleotídeos – regiões mais afastadas do ponto de quebra das inversões cromossômicas. Investigar as diferenças no conteúdo genético das inversões cromossômicas em *D. mediopunctata* pode ser uma forma de entender a variação observada na população do Itatiaia.

Diferentes processos demográficos podem gerar mudanças na estrutura populacional de uma população (McAllister *et al.*, 2008). Rasic *et al.* (2007) mostrou a influência do encruzamento sobre variação do polimorfismo de inversões em

populações de *D. subobscura* na Sérvia. Stamenkovic-Radak *et al.* (2008) observaram diferenças marcantes no polimorfismo de inversões cromossômicas de populações da Sérvia de *D. subobscura* que habitavam diferentes ambientes – bosques de faia e carvalho – que estão associadas a variações no tamanho efetivo destas populações.

As mudanças climáticas e as medidas de preservação podem provocar alterações na composição florística e de fauna do Parque Nacional do Itatiaia. As mudanças observadas nas frequências das inversões na população de *D. mediopunctata* podem estar associadas a diferenças comportamentais - escolha de *habitat* (Powell & Taylor, 1979) – como também, mudanças nas relações ecológicas desta espécie em particular. Futuras análises usando diferentes marcadores genéticos e bioindicadores podem testar as hipóteses supracitadas.

Por outro lado, ciclos estacionais de mudanças de frequências de inversões são evidências da forte ação da seleção natural sobre polimorfismo inversões em populações naturais (Krimbas & Powell, 1992). Nossos resultados mostram que o polimorfismo de *D. mediopunctata* da população do Parque Nacional do Itatiaia ainda apresenta uma variação cíclica estacional coerente com a variação de temperatura das estações. Uma melhor caracterização dos mecanismos genéticos e ecológicos que dão suporte à estabilidade deste ciclo estacional ainda se faz necessária.

Por fim, cumpre investigar como as mudanças climáticas afetam as características morfológicas e se as previsões feitas nesta população em trabalhos prévios são consistentes e ajudam a elucidar a natureza das mudanças observadas no polimorfismo de inversão.

7. Bibliografia

- AAAS (2013). American Association for the Advancement of Science, Disponível em: http://www.aaas.org/news/press_room/climate_change/ - visitada em 28 de setembro de 2013.
- Ab'saber AN (2007a). Opinião divergente. Entrevista concedida à *Revista Nacional Geographic* em setembro de 2007. Disponível em: http://planetasustentavel.abril.com.br/noticia/ambiente/conteudo_250065.shtml?func=2. Acesso: 28 de setembro de 2013.
- Ab'Saber AN (2007b). *Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas*. Ateliê Editorial, São Paulo. 159 pp.

- Ab'Saber AN (2009). A propósito da periodicidade climato-hidrológica que vem provocando grandes crises em Santa Catarina. *Estudos Avançados* **23**: 297–306.
- Ab'Saber AN (2010). Como morrem as casas. Entrevista concedida ao *Jornal Estado de São Paulo* em sábado, 9 de janeiro de 2010. Disponível em: <http://www.estadao.com.br/noticias/suplementos,como-morreram-as-casas,493106,0.htm>. Acesso 20 de janeiro de 2010.
- Aggarwal R, Benatti TR, Gill N, Zhao CY, Chen MS, Fellers JP, Schemerhorn BJ, Stuart JJ (2009). A BAC-based physical map of the Hessian fly genome anchored to polytene chromosomes. *BMC Genomics* **10**: 293-306.
- Agoze ME, Lemeunier F, Periquet G (1992). Mitotic and salivary gland chromosome analyses in the *Musca domestica* L. (house fly) (Diptera: Muscidae). *Heredity* **69**: 57-64.
- Almeida FFM (1964). Fundamentos Geológicos do Relevo Paulista. São Paulo: Instituto de Geografia, Universidade de São Paulo. *Boletim IGG* **41**: 167-263.
- Almeida JP (2011). Revisão do Plano de Manejo do Parque Nacional do Itatiaia: Diagnóstico do Meio Físico. Relatório técnico, 97p.
- Ananina G, Rohde C, David JR, Valente VLS, Klaczko LB (2007). Inversion polymorphism and a new polytene chromosome map of *Zaprionus indianus* Gupta (1970) (Diptera: Drosophilidae). *Genetica* **131**: 117-125.
- Ananina G (2003). Polimorfismo de inversões cromossômicas de *Drosophila mediopunctata*. Tese de Doutorado: UNICAMP, Campinas Brasil: x + 52 pp. UNICAMP Press.
- Ananina G, Peixoto AA, Blanche-Mathé BC, Souza WN, da Silva LB, Valente VLS, Klaczko LB (2004). Chromosomal inversion polymorphism in *Drosophila mediopunctata*: seasonal, altitudinal and latitudinal variation, *Genetics Molecular Biology* **97**: 61-69.
- Ananina G, Peixoto AA, Souza WN, Klaczko LB (2002). Polytene chromosome map and inversion polymorphism in *Drosophila mediopunctata*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **97**: 691-694.
- Anderson WW, Arnold J, Baldwin DG, Beckenbach AT, Brown CJ, Bryant SH, Coyne JA, Harshman LG, Heed WB, Jeffrey DE, Klaczko LB, Moore BC, Porter JM, Powell JR, Prout T, Schaeffer SW, Stephens JC, Taylor CE, Turner ME, Williams GO, Moore JA (1991). Four decades of inversion polymorphism in *Drosophila pseudoobscura*. *Proceedings of National Academy of Science USA* **88**: 10367-10371.

- Anderson AR, Hoffmann AA, Mckechnie SW, Umina PA, Weeks AR (2005). The latitudinal cline in the *In(3R)Payne* inversion polymorphism has shifted in the last 20 years in Australian *Drosophila melanogaster* populations. *Molecular Ecology* **14**: 851-858.
- Andrade CAC, Hatadani LM, Klaczko LB (2005). Phenotypic plasticity of the aedeagus of *Drosophila mediopunctata*. *Journal of Thermal Biology* **30**: 518-523.
- Andrade CAC, Vieira RD, Ananina G, Klaczko LB (2009). Evolution of the male genitalia: morphological variation of the aedeagi in a natural population of *Drosophila mediopunctata*. *Genetica* **135**: 13-23.
- Andreyenkova NG, Kokoza EB, Semeshin VF, Belyaeva ES, Demakov SA, Pindyurin AV, Andreyeva EN, Volkova EI, Zhimulev IF (2009). Localization and characteristics of DNA underreplication zone in the 75C region of intercalary heterochromatin in *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes. *Chromosoma* **118**: 747-761.
- Arnold SJ (1981). Statistics of natural populations. I: Estimating an allele probability in cryptic fathers with a fixed number of offspring. *Biometrics* **37**: 495-504.
- Ashburner M (1989). *Drosophila: A laboratory manual*, CSHL Press, Cold Spring Harbor, New York, 31p.
- Bächli G (2013). TaxoDros: The database on taxonomy of Drosophilidae. Database 2013/06; v1.04. <<http://www.taxodros.uzh.ch/>> Acesso: 05 de novembro de 2013.
- Balanyà J, Huey RB, Gilchrist GW, Serra L (2009). The chromosomal polymorphism of *Drosophila subobscura*: a microevolutionary weapon to monitor global change. *Heredity* **103**: 364-367.
- Balanyà J, Oller JM, Huey RB, Gilchrist GW, Serra L (2006). Global genetic change tracks global climatic warming in *Drosophila subobscura*. *Science* **313**: 1773-1775.
- Balanyà J, Solé E, Oller JM, Sperlich D, Serra L (2004). Long-term changes in the chromosomal inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. II. European populations. *J Zool Syst Evol Res* **42**: 191-201.
- Bard E, Frank M (2006). Climate change and solar variability: What's new under the sun? *Earth and Planetary Science Letters* **248**: 1-14.
- Batista MRD (2010). Estudos Citogenéticos em Dípteros: Inversões Cromossômicas em *Drosophila mediopunctata* e Fotomapa dos Cromossomos Politênicos de *Cochliomyia hominivorax*. Tese de Doutorado: UNICAMP, Campinas, Brasil: xiii + 92 pp. UNICAMP Press.

- Batista MRD, Ananina G, Klaczko LB (2012). Unexpected long-term changes in chromosome inversion frequencies in a Neotropical *Drosophila* species. *Climate Research* **53**: 131-140.
- Batista MRD, Ananina G, Azeredo-Espin AML, Klaczko LB (2009). Photographic map of the polytene chromosomes of *Cochliomyia hominivorax*. *Medical and Veterinary Entomology* **23**: 92-97.
- Bedo DG, Spradbery JP, Mahon RJ (1994). Cytogenetic variation in natural populations of the Old World screwworm fly *Chrysomya bezziana*. *Genome* **37**: 390-398.
- Bitner-Mathé BC, Klaczko LB (1998). Variation and heritability of arisal morphology in a natural population of *Drosophila mediopunctata*. *Hereditas* **128**: 67-71.
- Bitner-Mathé BC, Klaczko LB (1999a). Size and shape heritability in natural populations of *Drosophila mediopunctata*: temporal and microgeographical variation. *Genetica* **105**: 35-42.
- Bitner-Mathé BC, Klaczko LB (1999b). Heritability, phenotypic and genetic correlations of size and shape of *Drosophila mediopunctata* wings. *Heredity* **83**: 688-696.
- Bitner-Mathé BC, Peixoto AA, Klaczko LB (1995). Morphological variation in a natural population of *Drosophila mediopunctata*: altitudinal cline, temporal changes and influences of chromosome inversions. *Heredity* **75**: 54-61.
- Brade AC (1956). A flora do Parque Nacional do Itatiaia. *Boletim do Parque Nacional do Itatiaia* **5**. Itatiaia/RJ, 114p.
- Bradshaw WE, Holzapfel CM (2008). Genetic response to rapid climate change: it's seasonal timing that matters. *Molecular Ecology* **17**: 157-166.
- Brianti MT, Ananina G, Recco-Pimentel S, Klaczko LB (2009). Comparative Analysis of the Chromosomal Positions of rDNA Genes in Species of the *tripunctata* Radiation of *Drosophila*. *Cytogenetics Genome Research* **125**:149-157.
- Brianti MT, Ananina, G, Klaczko LB (2013). Differential occurrence of chromosome inversion polymorphisms among Muller's elements in three species of the *tripunctata* group of *Drosophila*, including a species with fast chromosomal evolution. *Genome* **56**: 17-26.
- Bridges CB (1935). Salivary chromosome maps with a key to the banding of the chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Heredity* **26**: 60-64.
- Bridges CB (1942). A new map of the salivary gland 2L-chromosome of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Heredity* **33**: 402.

- Calabria G, Dolgova O, Rego C, Castañeda LE, Rezende EL, Balanyà J, Pascual M, Sorensen JG, Loeschcke V, Santos M (2012). Hsp70 protein levels and thermotolerance in *Drosophila subobscura*: a reassessment of the thermal co-adaptation hypothesis. *Journal of Evolutionary Biology* **25**: 691-700.
- Carr JR, Stokes CR, Vieli A (2013). Recent progress in understanding marine-terminating Arctic outlet glacier response to climatic and oceanic forcing: Twenty years of rapid change. *Progress in Physical Geography* **37**: 436-467.
- Carvalho AB, Klaczko LB (1993). Autosomal suppressors of sex-ratio in *Drosophila mediopunctata*. *Heredity* **71**: 546-551.
- Carvalho AB, Klaczko LB (1994). Y-linked suppressors of the sex-ratio trait in *Drosophila mediopunctata*. *Heredity* **73**: 573-579.
- Carvalho AB, Sampaio MC, Varandas FR, Klaczko LB (1998). An experimental demonstration of Fisher's principle: evolution of sexual proportion by natural selection. *Genetics* **148**: 719-731.
- Carvalho AB, Vaz SC, Klaczko LB (1997). Polymorphism for Y-linked suppressors of sex-ratio in two natural populations of *Drosophila mediopunctata*. *Genetics* **146**: 891-902.
- Carvalho AB, Peixoto AA, Klaczko LB (1989). "Sex-ratio" in *Drosophila mediopunctata*. *Heredity* **62**: 425-428.
- Cecilia GM, Milla F, Manso FC (2009). Structural map of the polytene chromosomes from the salivary glands of South American fruit fly *Anastrepha fraterculus* Wied (Diptera, Tephritidae). *Caryologia* **62**: 204-212.
- Coghlan A, Eichler EE, Oliver SG, Paterson AH, Stein L (2005). Chromosome evolution in eukaryotes: a multi-kingdom perspective. *Trends in Genetics* **21**: 673-680.
- Colombo AF (2007). Conseqüências das mudanças climáticas globais para as espécies arbóreas da Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado: UNICAMP, Campinas Brasil: 86 pp. UNICAMP Press.
- Corbett-Detig RB, Hartl DL (2012). Population genomics of inversion polymorphisms in *Drosophila melanogaster*. *PLOS Genetics* **8**: e1003056.
- Crowley TJ (2000). Causes of climate change over the past 1000 years. *Science* **289**: 270-276.
- da Cunha AB, Burla H, Dobzhansky T (1950). Adaptive chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni*. *Evolution* **4**: 212-235.

- Dobzhansky T (1947). Genetics of Natural Populations. XIV. A Response of Certain Genes Arrangements in the Third Chromosome of *Drosophila pseudoobscura* to natural selection. *Genetics* **32**: 142-160.
- Dobzhansky T (1970). *Genetics of the Evolutionary Process*. Columbia University Press, New York, 505 pp.
- Dobzhansky T, Levene H (1948). Genetics of natural populations. XVII. Proof of operation of natural selection in wild populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **33**: 537-547.
- Dramstad WE (2009). Spatial metrics – useful indicators for society or mainly fun tools for landscape ecologists? *Norwegian Journal of Geology* **63**: 246-254.
- Easterling DR, Horton B, Jones PD, Peterson TC, Karl TR, Parker DE, Salinger MJ, Razuvayev V, Plummer N, Jamason P, Follandand CK (1997). Maximum and minimum temperature trends for the globe. *Science* **277**: 364–367.
- Etges WJ, Levitan M (2008). Variable evolutionary response to regional climate change in a polymorphic species. *Biological Journal of Linnean Society* **95**: 702-718.
- Fang S, Lin F-J, Chang H (1998). Chromosomal inversion polymorphism in natural populations of *Drosophila ruberrima*. *Zoological Studies* **37**: 309-321.
- Foster GG, Whitten MJ, Konovalov C, Bedo DG, Maddern RH, Boon DJ (1980). Cytogenetic studies of *Lucilia cuprina dorsalis* R.-D. (Diptera: Caliphoridae). Polytene chromosome maps of the autosomes and cytogenetic localization of visible genetic markers. *Chromosoma* **81**: 151-168.
- Fragata I, Balanyà J, Rego C, Matos M, Rezende EL, Santos M (2010). Contrasting patterns of phenotypic variation linked to chromosomal inversions in native and colonizing populations of *Drosophila subobscura*. *Journal of Evolutionary Biology* **23**: 112-124.
- Freire-Maia N (1954). Chromosomal monomorphism in Brazilian and Argentine populations of *Drosophila simulans* and *Drosophila repleta*. *Genetics* **50**: 1447-1448.
- Frota-Pessoa O (1954). Revision of the tripunctata group of *Drosophila* with description of fifteen new species (Drosophilidae, Diptera), with 107 figures. *Arquivos do Museu Paranaense* **10**: 253-303.
- Fukasawa M, Freeland H, Perkin R, Watanabe T, Uchida H, Nishina A (2004). Bottom water warming in the North Pacific Ocean. *Nature* **427**: 825–827.
- Guillén Y, Ruiz A (2012). Gene alterations at *Drosophila* inversion breakpoints provide

- prima facie* evidence for natural selection as an explanation for rapid chromosomal evolution. *BMC Genomics* **13**: 53-71.
- Harley CDG, Hughes AR, Hultgren KM, Miner BG, Sorte CJB, Thornber CS, Rodriguez LF, Tomanek L, Williams SL (2006). The impacts of climate change in coastal marine systems. *Ecology Letters* **9**: 228–241
- Hartwell LH, Hood L, Goldberg ML, Reynolds AE, Silver LM, Veres RC (2004). Reference D: *Drosophila melanogaster*: genetic portrait of the fruit fly. In: *Genetics from Genes to Genomes 2nd edition*. pp 813–838.
- Hatadani LM, Baptista JC, Souza WN, Klaczko LB (2004). Colour polymorphism in *Drosophila mediopunctata*: genetic (chromosomal) analysis and nonrandom association with chromosome inversions. *Heredity* **93**: 525-534.
- Hatadani LM, Klaczko LB (2008). Shape and size variation on the wing of *Drosophila mediopunctata*: influence of chromosome inversions and genotype-environment interaction. *Genetica* **133**: 335-342.
- Hatadani LM, McInerney JO, Medeiros HF, Junqueira ACM, Azeredo-Espin AM, Klaczko LB (2009). Molecular phylogeny of the *Drosophila tripunctata* and related groups (Diptera: Drosophilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **51**: 595-600.
- Hey J (2003). Speciation and inversions: chimps and humans. *BioEssays* **25**: 825-828.
- Hijmans RJ, Guarino L, Mathur P (2012). DIVA-GIS 7.5 Manual. University of California, California, 77p.
- Hoffmann AA, Rieseberg LH (2008). Revisiting the impact of inversions in evolution: from population genetic markers to drivers of adaptive shifts and speciation? *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **39**: 21-42.
- Hoffmann AA, Sgrò CM, Weeks AR (2004). Chromosomal inversion polymorphisms and adaptation. *Trends in Evolution and Ecology* **9**: 482-488.
- Hoffmann AA, Willi Y (2008). Detecting genetic responses to environmental changes. *Nature Reviews of Genetics* **9**: 421-432.
- Holmgren M, Hirota M, van Nes EH, Scheffer M (2013). *Nature Climate Change* **3**: 755–758.
- Houston JR (2013). Methodology for Combining Coastal Design-Flood Levels and Sea-Level Rise Projections. *Journal of Waterway, Port, Coastal, Ocean Engineering* **139**: 341-345.
- Hughes JF, Skaletsky H, Pyntikova T, Graves TA, van Daalen SK, Minx PJ, Fulton RS,

- McGrath SD, Locke DP, Friedman C, Trask BJ, Mardis ER, Warren WC, Repping S, Rozen S, Wilson RK, Page DC (2010). Chimpanzee and human Y chromosomes are remarkably divergent in structure and gene content. *Nature* **463**: 536-539.
- Huntingford C (2013). Refining global warming projections. *Nature Climate Change* **3**: 704-705.
- IBDF - Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (1982) – Plano de manejo do Parque Nacional do Itatiaia. Brasília, 207p.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (1992) – Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais – Manual Técnico da Vegetação Brasileira. Centro de Documentação e Disseminação de Informações / IBGE, Rio de Janeiro, 92 p.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (2005). Projeto Pontos Culminantes: IBGE calcula nova altitude do Monte Roraima. Nota de imprensa atualizada em 29/07/2005 e disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=412&id_pagina=1&titulo=IBGE-calcula-nova-altitude-do-Monte-Roraima >. Acesso em 28 de setembro 2013.
- ICMBIO (2013); <http://www.icmbio.gov.br/parnaitatiaia/quem-somos.html> - visitado em 28 de setembro de 2013.
- INPE (2013) - Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, <http://mudancasclimaticas.cptec.inpe.br/> - visitado em 28 de setembro de 2013
- IPCC (2007) - Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) (2007). Climate change 2007: The physical science basis. Working group I contribution to the fourth assessment report of the IPCC, S. Solomon *et al.*, Eds. (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 2007).
- IPCC (2012): Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation. A Special Report of Working Groups I and II of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Field, C.B., V. Barros, T.F. Stocker, D. Qin, D.J. Dokken, K.L. Ebi, M.D. Mastrandrea, K.J. Mach, G.-K. Plattner, S.K. Allen, M. Tignor, and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, UK, and New York, NY, USA, 582 pp.
- Jacob T, Wahr J, Pfeffer WT, Swenson S (2012). Recent contributions of glaciers and ice caps to sea level rise. *Nature* **482**: 514–518
- Joly CA (2007). Biodiversidade e mudanças climáticas: contexto evolutivo, histórico e

- político. *Ambiente & Sociedad* **10**: 169-172.
- Joron M, Frezal L, Jones RT, Chamberlain NL, Lee SF, Haag CR, Whibley A, Becuwe M, Baxter SW, Ferguson L, Wilkinson PA, Salazar C, Davidson C, Clark R, Quail MA, Beasley H, Glithero R, Lloyd C, Sims S, Jones MC, Rogers J, Jiggins CD, Ffrench-Constant RH (2011) Chromosomal rearrangements maintain a polymorphic supergene controlling butterfly mimicry. *Nature* **477**: 203–206.
- Juncheng Z, Yiqiu Y, Jianli Z, Meixiang C, Qing J (2013). *Ocean University of China (Oceanic and Coastal Sea Research)* **12**: 327-334.
- Kastritsis CD (1966). Cytological studies of some species of the *tripunctata* group of *Drosophila*, University of Texas Publications, Texas, p. 413-474.
- Kirkpatrick M (2010) How and Why Chromosome Inversions Evolve. *PLoS Biology* **8**: e1000501. doi:10.1371/journal.pbio.1000501.
- Kirkpatrick M, Barton N (2006). Chromosome inversions, local adaptation and speciation. *Genetics* **173**: 419-434.
- Klaczko LB, Bitner-Mathé BC (1990). On the edge of a wing. *Nature* **346**: 231.
- Klaczko LB (2006). Evolutionary genetics of *Drosophila mediopunctata*. *Genetica* **126**: 43-55.
- Knibb WR (1982). Chromosome inversion polymorphisms in *Drosophila melanogaster* II. Geographic clines and climatic associations in Australasia, North America and Asia. *Genetica* **58**: 213-221.
- Krimbas CB, Powell JR (1992). *Drosophila* inversion polymorphism. CRC Press, Boca Raton, FL.
- La Sorte FA, Jetz W. Projected range contractions of montane biodiversity under global warming. *Proceedings of the Royal Society B* **277**: 3401-3410.
- Laborda PR, Mori G, de Souza AP (2009a). *Drosophila mediopunctata* microsatellites I: more than a hundred polymorphic loci available for genetic studies. *Conservation Genetics Resources* **1**: 297-307.
- Laborda PR, Mori G, de Souza AP (2009b). *Drosophila mediopunctata* microsatellites II: cross-species amplification in the *tripunctata* group and other *Drosophila* species. *Conservation Genetics Resources* **1**: 281-296.
- Lane AC, Mukherjee J, Chan VBS, Vengatesen, T (2013). Decreased pH does not alter metamorphosis but compromises juvenile calcification of the tube worm *Hydroides elegans*. *Marine Biology* **160**: 1983-1993.
- Laurance WF, Useche DC, Shoo LP, Herzog SK, Kessler M, Escobar F, Brehm G,

- Axmacher JC, Chen I, Gámez LA, Hietz P, Fiedler K, Pyrcz T, Wolf J, Merkord CL, Cardelus C, Marshall AR, Ah-Peng C, Aplet GH, Arizmendi MC, Baker WJ, Barone J, Brühl CA, Bussmann RW, Cicuzza D, Eilu G, Favila ME, Hempz A, Hempz C, Homeier J, Hurtado J, Jankowski J, Kattán G, Kluge J, Krömer T, Lees DC, Lehnert M, Longino JT, Lovett J, Martin PH, Patterson BD, Pearson RG, Peh KSH, Richardson B, Richardson M, Samways MJ, Senbeta F, Smith TB, Utteridge TMA, Watkins JE, Wilson R, Williams SE, Thomas CD (2011). Global warming, elevational ranges and the vulnerability of tropical biota. *Biological Conservation* **144**: 548–557.
- Levitan M, Etges WJ (2005). Climate change and recent genetic flux in populations of *Drosophila robusta*. *BMC Evolutionary Biology* **5**: 4-15.
- Levitan M, Etges WJ (2009). Rapid response to perturbation of chromosome frequencies in natural populations of *Drosophila robusta*. *Genetica* **137**: 1-8.
- Lewontin RC (1964). The interaction of selection and linkage. I. General considerations; Heterotic models. *Genetics* **49**: 49-67.
- Lewontin RC (1988). On measures of gametic disequilibrium. *Genetics* **120**: 849-852.
- Lister-Kaye J (2011). Climate change affects the seasons: autumn doesn't know if it's coming or going. Publicado no Jornal *The Telegraph* em novembro de 2011. <http://www.telegraph.co.uk/earth/environment/climatechange/8872078/Climate-change-affects-the-seasons-autumn-doesnt-know-if-its-coming-or-going.html>. Acesso: 02 de julho de 2013.
- Marinkovic D, Ayala FJ, Andjelkovic M (1978). Genetic polymorphism and phylogeny of *Drosophila subobscura*. *Evolution* **32**: 164-173.
- Marques HVS, Carvalho AB, Elias CA, Klaczko LB (1991). Mutants of *Drosophila mediopunctata*. *Drosophila Information Service* **70**: 280.
- Martinelli M. (2009) Relevô do Estado de São Paulo. *Confins* **7**. Disponível em: <http://confins.revues.org/index6168.html>. Acesso: 5 de fevereiro de 2010.
- McAllister BF, Sheeley SL, Mena PA, Evans AL, Schlötterer C (2008). Clinal distribution of a chromosomal rearrangement: a precursor to chromosomal speciation? *Evolution* **62**: 1852-1865.
- da Mata RA, McGeoch M, Tidon R (2011). Drosophilids (Insecta, Diptera) as tools for conservation biology. *Natureza & Conservação* **8**: 60-65.
- Milazzo M, Mirto S, Domenici P, Gristina M (2013). Climate change exacerbates interspecific interactions in sympatric coastal fishes. *Journal of Animal Ecology* **82**:

- 468–477.
- Morim MP (2006). Leguminosae arbustivas e arbóreas da floresta atlântica do Parque Nacional do Itatiaia, sudeste do Brasil: padrões de distribuição. *Rodriguésia* **57**: 27-45.
- NASA (2013). National Aeronautics and Space Administration Disponível em: <http://climate.nasa.gov/index> - Acesso: 28 de setembro de 2013.
- Navarro A, Barton NC (2003). Evolution in rearranged chromosomes. *Science* **300**: 321-324.
- NOAA (2013) - National Oceanic and Atmospheric Administration - Disponível em: <http://www.ncdc.noaa.gov/cmb-faq/anomalies.php>. Acesso: 28 de setembro de 2013.
- O'Connor C, Miko I (2008). Developing the chromosome theory. *Nature Education* **1**. Disponível em: <http://www.nature.com/scitable/topicpage/developing-the-chromosome-theory-164>. Acesso: 28 de setembro de 2013.
- Painter TS (1933) A new method for the study of chromosome rearrangements and the plotting of chromosome maps. *Science* **78**: 585-586.
- Parmesan C (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **37**: 637–669.
- Pauls SU, Nowak C, Bálint M, Pfenninger M (2013). The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. *Molecular Ecology* **22**: 925-946.
- Peixoto AA, Klaczko LB (1991). Linkage disequilibrium analysis of chromosomal inversion polymorphism in *Drosophila*. *Genetics* **129**: 773-777.
- Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling* **190**:231–259.
- Pounds JA, Bustamante MR, Coloma LA, Consuegra JA, Fogden MPL, Foster PN, La Marca E, Masters KL, Merino-Viteri A, Puschendorf R, Ron SR, Sánchez-Azofeifa GA, Still CJ, Young BE (2006). Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature* **439**: 161-167.
- Powell JR, Taylor CE (1979). Genetic variation in ecologically diverse environments: Environmental diversity and intraspecific habitat choice, rather than heterosis, may be the answer to the question "Why so many genotypes?". *American Scientist* **67**: 590-596.
- Powell, JR (1997) *Progress and prospects in evolutionary biology: The Drosophila model*. Oxford University Press, New York.

- Puchalla S (1994). Polytene chromosomes of monogenic and amphogenic *Chrysomia* species (Calliphoridae, Diptera): analysis of banding patterns and in situ hybridization with *Drosophila* sex determining gene sequences. *Chromosoma* **103**: 16-30.
- Rako L, Anderson AR, Sgró CM, Stocker AJ, Hoffmann AA (2007). The association between inversion *In(3R)Payne* and clinally varying traits in *Drosophila melanogaster*. *Genetica* **128**: 373–384.
- Rasic G, Stamenkovic-Radak M, Savic T, Andjelkovic M (2008). Inbreeding reveals interpopulation differences in inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **46**: 31-37.
- Rieseberg LH (2001). Chromosomal rearrangements and speciation. *Trends in Ecology and Evolution* **16**: 351-358.
- Rocha FB, Medeiros HF, Klaczko LB (2009). The reaction norm for abdominal pigmentation and its curve in *Drosophila mediopunctata* depend on the mean phenotypic value. *Evolution* **63**: 280-287.
- Rodríguez-Trelles F, Alvarez G, Zapata C (1996). Time-series analysis of seasonal changes of the O inversion polymorphism of *Drosophila subobscura*. *Genetics* **142**: 179-187.
- Rodríguez-Trelles F, Rodríguez MA (1998). Rapid microevolution and loss of chromosomal diversity in *Drosophila* in response to climate warming. *Evolutionary Ecology* **12**:829-38.
- Rodríguez-Trelles F, Rodríguez MA (2010). Measuring evolutionary responses to global warming: cautionary lessons from *Drosophila*. *Insect Conservation and Diversity* **3**: 44-50.
- Root TL, Price JT, Hall KR, Schneider SH, Rosenzweig C, Pounds JA (2003). Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* **421**:57-60.
- Roque F, da Mata RA, Tidon R (2013). Temporal and vertical drosophilid (Insecta; Diptera) assemblage fluctuations in a neotropical gallery forest. *Biodiversity and Conservation* **22**: 657-672
- Rose KA, Allen JI (2013). Modeling marine ecosystem responses to global climate change: Where are we now and where should we be going? *Ecological Modelling* **264**: 1–6.
- Rosseto L. (2011). Chuva em SP e em Nova Friburgo ultrapassa média histórica, diz Inpe. – Publicado no portal G1. Disponível em:

- <http://g1.globo.com/brasil/noticia/2011/01/chuva-em-sao-paulo-e-em-nova-friburgo-ultrapassa-media-historica-diz-inpe.html> - Acesso: 28 de setembro de 2013.
- Saavedra CC, Callegari-Jacques SM, Napp M, Valente VLS (1995). A descriptive and analytical study of Neotropical drosophilid communities. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* **33**: 62-74.
- Sanchez-Gracia A, Rozas J (2011). Molecular population genetics of the *OBP83* genomic region in *Drosophila subobscura* and *D. guanche*: contrasting the effects of natural selection and gene arrangement expansion in the patterns of nucleotide variation. *Heredity* **106**: 191–201.
- Santos AA, Zikan CE (2000). Descrição Geral do Parque Nacional do Itatiaia. In: Santos AA. (editor), *Cadernos Para o Desenvolvimento Sustentável – vol. 3: O Parque Nacional do Itatiaia*. Fundação Brasileira para o Desenvolvimento Sustentável, Rio de Janeiro, RJ. 173p.
- Santos CF (2010). A enchente em Itajaí (SC): relatos, percepções e memórias. Dissertação de Mestrado Profissional em Planejamento Territorial e Desenvolvimento Social – Universidade do Estado de Santa Catarina – Florianópolis 107 p.
- Santos M, Iriarte PF, Céspedes W, Balanyà J, Fontdevila A, Serra L (2004). Swift laboratory thermal evolution of wing shape (but not size) in *Drosophila subobscura* and its relationship with chromosomal inversion polymorphism. *Journal of Evolutionary Biology* **17**: 841-855.
- Saunders RDC, Glover DM, Ashburner M, Siden-Kiamos I, Louis C, Monastirioti M, Savaski C, Kafitos F (1989). PCR amplification of DNA microdissected from a single polytene chromosome band: a comparison with conventional microcloning. *Nucleic Acid Research* **17**: 9027-9037.
- Schaeffer SW, Goetting-Minesky P, Kovacevic M, Peoples J, Graybill JL, Miller JM, Kim K, Nelson JG, Anderson WW (2003). Evolutionary genomics of inversions in *Drosophila pseudoobscura*: Evidence for epistasis. *Proceeding of National Academy of Science USA* **100**: 8319–8324.
- Schaeffer SW, Anderson WW (2005). Mechanisms of genetic exchange within the chromosomal inversions of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **171**: 1729–1739.
- Schaeffer SW (2008). Selection in heterogeneous environments maintains the gene arrangement polymorphism of *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution* **62**: 3082-3099.
- Schäfer MA, Routtu J, Vieira J, Hoikkala A, Ritchie MG, Schlötterer C (2011).

- Multiple quantitative trait loci influence intra-specific variation in genital morphology between phylogenetically distinct lines of *Drosophila montana*. *Journal of Evolutionary Biology* **24**: 1879-1886.
- Schimdt S, Claussen U, Liehr T, Weise A (2005). Evolution versus constitution: differences in chromosomal inversions. *Human Genetics* **117**: 213-219.
- Sharakhov IV, White BJ, Sharakhova MV, Kayondo J, Lobo NF, Santolamazza F, della Torre A, Simard F, Collins FH, Besansky NJ (2006). Breakpoint structure reveals the unique origin of an interspecific chromosomal inversion (2La) in the *Anopheles gambiae* complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **103**: 6258-6262.
- Sheldon KS, Yang S, Tewksbury JJ (2011). Climate change and community disassembly: impacts of warming on tropical and temperate montane community structure. *Ecology Letters* **14**: 1191–1200.
- Singh P, Singh BN (2007). Population genetics of *Drosophila ananassae*: genetic differentiation among Indian natural populations at the level of inversion. *Genetic Research Cambridge* **89**: 191-199.
- Sorza V (1988). vols. I and II. Chromosome maps of *Drosophila*. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Sperlich D, Pfriem P (1986). Chromosomal polymorphism in natural and experimental populations. In: Ashburner M, Carson HL, Thompson Jr, JN (eds) The genetics and biology of *Drosophila*. v.3a. Academic Press, New York, pp 123-168.
- Spironello M, Hunter FF (2005). Polytene chromosomes of an archipelagic subgenus, *Inseliellum* (Diptera:Simuliidae). *Genetica* **123**: 217-226.
- Stamenkovic-Radak M, Rasic G, Savic T, Kalajdzic P, Kurbalija Z, Kenig B, Andjelkovic M (2008). Monitoring of the genetic structure of natural populations: change of the effective population size and inversion polymorphism in *Drosophila subobscura*. *Genetica* **133**: 57–63
- Stork NE, Coddington JA, Colwell RK, Chazdon RL, Dick CR, Peres CA, Sloan S, Willis K (2009). vulnerability and resilience of tropical forest species to land-use change. *Conservation Biology* **23**: 1438-1447.
- Sturtevant AH (1965). A History of Genetics. New York, Harper & Row.
- Sturtevant AH (1917). Genetic factors affecting the strength of linkage in *Drosophila*. *Proceedings of National Academy of Science USA* **7**: 235.
- Sturtevant AH (1926). A crossover reducer in *Drosophila melanogaster* due to

- inversion of a section of the third chromosome. *Biology Zentralbl* 46: 697.
- Stutervant AH (1931). Known and probable inverted section of the autosomes of *Drosophila melanogaster* to crossing over and disjunction. *Carnegie Institute Washington Publishes* **42**: 1.
- Stutervant H, Dobzhansky T (1936). Inversions in the third chromosome of wild races of *Drosophila pseudoobscura*, and their use in the study of the history of the species. *Proceedings of National Academy of Science USA* **22**: 448-450.
- Sutton RT, Dong B (2012). Atlantic Ocean influence on a shift in European climate in the 1990s. *Nature Geoscience* **5**: 788–792.
- Tidon R (2006). Relationships between drosophilids (Diptera, drosophilidae) and the environment on two contrasting tropical vegetations. *Biological Journal of Linnean Society* **87**: 233-248.
- Tidon-Sklorz R, Sene FM (1995). Evolution of the *Buzzatii* cluster (*Drosophila repleta* species group) in middle South America. *Evolutionary Biology* **8**: 71-85.
- Tomzhinski GW, Ribeiro KT, Fernandes MC. 2012. *Boletim de Pesquisa do Parque Nacional do Itatiaia* **15** - Análise Geocológica dos Incêndios Florestais no Parque Nacional do Itatiaia, 158 pp.
- Umina PA, Weeks AR, Kearney MR, McKechnie SW, Hoffmann AA (2005). A rapid shift in a classic clinal pattern in *Drosophila* reflecting climate change. *Science* **308**: 691-693.
- Val FC, Vilela CR, Marques MD (1981). Drosophilidae of the Neotropical region. In: Ashburner M, Carson HL, Thompson Jr. JN (eds) *The Genetics and Biology of Drosophila*, Vol. 3^a, Academic Press, New York. , pp. 123-168.
- Viana R (2011). Tragédia na Região Serrana do RJ já deixa mais de 500 mortos. Publicado no portal G1. Disponível em: <http://g1.globo.com/rio-de-janeiro/chuvas-no-rj/noticia/2011/01/tragedia-na-regiao-serrana-do-rj-ja-deixa-mais-de-500-mortos.html>. Acesso: 28 de setembro de 2013.
- Visser ME, Both C, Lambrechts MM (2004). Global climate change leads to mistimed avian reproduction. *Advances in Ecological Research* **35**: 89–110.
- Wasserman M (1963). Cytology and Phylogeny of *Drosophila*. *The American Naturalist* **97**: 333-352.
- Wittkopp PJ, Smith-Winberry G, Arnold LL, Thompson EM, Cooley AM, Yuan, DC, Song Q, McAllister BF (2011). Local adaptation for body color in *Drosophila americana*. *Heredity* **106**: 592-602.

- WMO (2013). World Meteorological Organization. The Global Climate 2001-2010: a decade of climate extremes - Summary Report. WMO, No. 1103, Geneva, Switzerland.
- Wright S, Dobzhansky T (1946). Genetics of natural populations. XIII. Experimental reproduction of some of the changes caused by natural selection in some populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics* **31**: 125-156.
- Zar JH (2010). Biostatistical analysis, 5th edn. Prentice Hall, Upper saddle River, NJ
- Zhao JT, Frommer M, Zhimulev JA, Zacharopoulou A (1998). Mitotic and polytene chromosome analyses in the Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae). *Genome* **41**: 510-526.
- Zhimulev IF (1996). Morphology and structure of polytene chromosomes. *Advances in Genetics* **34**: 1-497.

8. Apêndice

Neste apêndice listamos a composição de espécies de moscas do gênero *Drosophila* coletadas entre os dias de 01 a 04 de junho de 2009 no Parque Nacional do Itatiaia, RJ (Tabela A1). Coletamos o total de 5329 indivíduos em oito diferentes altitudes: 590, 750, 800, 900, 950, 1070, 1130, 1190m. Cada macho coletado foi identificado pela análise de sua morfologia externa e de sua genitália. Observamos 55 espécies, sendo que 8 destas ainda não foram descritas. Esta é a primeira lista de composição de espécies de *Drosophila* do Parque Nacional do Itatiaia, RJ. Futuros trabalhos podem ajudar a elucidar a variação estacional e a dinâmica desta comunidade.

Tabela A1 – Composição de espécies moscas do gênero *Drosophila* coletadas entre os dias de 01 a 04 de junho de 2009 no Parque Nacional do Itatiaia, RJ (Tabela A1).

Subgênero	Grupo	Espécie	Bibliografia para Identificação
<i>Drosophila</i>	<i>annulimana</i>	<i>Drosophila annulimana</i>	2 e 16
	<i>calloptera</i>	<i>D. atrata</i>	15
		<i>D. schildii</i>	15
		<i>D. neocardini</i>	9 e 20
	<i>cardini</i>	<i>D. polymorpha</i>	9 e 20
		<i>coffeata</i>	<i>D. coffeata</i>
	<i>D. fuscolineata</i>		15
	<i>dreyfusi</i>	<i>D. dreyfusi</i>	3
		<i>D. krugi</i>	3
	<i>guarani</i>	<i>D. grisolineata</i>	15
		<i>D. ornatifrons</i>	15
		<i>D. neoguaramunu</i>	15
		<i>D. maculifrons</i>	15
	<i>immigrans</i>	<i>D. immigrans</i>	6
	<i>peruensis</i>	<i>D. atalaia</i>	21
	<i>pinicola</i>	<i>D. luisserai</i>	22
	<i>repleta</i>	<i>D. mulleri</i>	22
	<i>tripunctata</i>	<i>D. bandeirantium</i>	19
		<i>D. bifilum</i>	13
		<i>D. bipunctata</i>	5

Subgênero	Grupo	Espécie	Bibliografia para Identificação
		<i>D. cuaso</i>	1
		<i>D. frotapessoai</i>	15
		<i>D. medioimpressa</i>	19
		<i>D. mediopicta</i>	19 e 7
		<i>D. mediopunctata</i>	7 e 4
		<i>D. mediosignata</i>	1
		<i>D. mediotriata</i>	15
		<i>D. metzii</i>	14
		<i>D. paraguayensis</i>	1
		<i>D. paramediotriata</i>	14
		<i>D. roehrae</i>	11
		<i>D. setula</i>	14

Subgênero	Grupo	Espécie	Bibliografia para Identificação
<i>Drosophila</i>	<i>tripunctata</i>	<i>D. trifilum</i>	7
(cont.)	(cont.)	<i>D. unipunctata</i>	23
		<i>D. tuchaua</i>	13
	<i>virilis</i>	<i>D. virilis</i>	16
<i>Sophophora</i>	<i>melanogaster</i>	<i>D. simulans</i>	12
	<i>saltans</i>	<i>D. neoelliptica</i>	8
		<i>D. nigrosaltans</i>	8
		<i>D. prosaltans</i>	8
		<i>D. saltans</i>	8
		<i>D. stutervanti</i>	8
		<i>D. willistoni/</i>	9
	<i>willistoni</i>	<i>paulistorum</i>	9
		<i>D. bocainensis</i>	9
		<i>D. capricorni</i>	9
		<i>D. fumipenis</i>	9
		<i>D. nebulosa</i>	9

Subgênero	Grupo	Espécie	Bibliografia para Identificação
Não identificadas		<i>D. sp2</i>	
		<i>D. sp4</i>	
		<i>D. sp5</i>	
		<i>D.sp7</i>	
		<i>D. sp8</i>	
		<i>D. sp9</i>	
		<i>D. sp10</i>	
		<i>D. sp11</i>	

Bibliografia Consultada para Identificação

1. Bächli G, Vilela, CR, Ratcov, V (2000). Morphological differences among *Drosophila paraguayensis* Duda, 1927 and its close relatives (Diptera, Drosophilidae). *Bulletin de La Société Entomologique Suisse* **73**: 67-92.
2. Breuer ME, Pavan C (1950). Genitália masculina de "*Drosophila*" (Diptera): Grupo "*annulimana*". *Revista Brasileira de Biologia* **10**: 469-488.
3. Breuer ME, Pavan C (1954). Genitália masculina de "*Drosophila*" do grupo "*dreyfusi*" (Diptera). *Revista Brasileira de Biologia* **14**: 465-475.
4. Breuer ME, Rocha RF (1971). Genitália masculina de algumas espécies de *Drosophila* dos grupos "*repleta*" e "*tripunctata*" (Diptera, Drosophilidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* **25**: 121-137.
5. Fontdevila A, Wasserman M, Plá C, Pilares L, Armengol R, Suyo MP, Sanchez A, Vasquez J, Ruiz A, Garcia JL (1990). Description and evolutionary relationships of two species of the *Drosophila mulleri* cluster (Diptera: Drosophilidae). *Annals of Entomological Society of America* **83**: 444-452.
6. Freire-Maia N, Pavan C (1949). Introdução ao estudo de drosófilas. *Cultus* **1**: 1-71.
7. Frota-Pessoa O (1954). Revision of the *tripunctata* group of *Drosophila* with description of fifteen new species (Drosophilidae, Diptera). *Arquivos do Museu Paranaense* **10**: 253-326.

8. Magalhães LE, Björnberg AJS (1957). Estudo da genitália masculina de "*Drosophila*" do grupo "*saltans*" (Diptera). *Revista Brasileira de Biologia* **17**: 435-450.
9. Malogolowkin C (1952). Sobre a genitália dos "Drosophilidae" (Diptera). III. Grupo *willistoni* do gênero "*Drosophila*". *Revista Brasileira de Biologia* **12**:79-96.
10. Malogolowkin C (1953). Sobre a genitália dos Drosofilídeos. IV. A genitália masculina do subgênero "*Drosophila*". *Revista Brasileira de Biologia* **13**:245-264.
11. Pipkin SB, Heed WB (1964). Nine new members of the *Drosophila tripunctata* species group. (Diptera: Drosophilidae). *Pacific Insects* **6**:256-273.
12. Salles H (1948). Sobre a genitália dos drosofilídeos (Diptera): I. *Drosophila melanogaster* e *D. simulans*. *Sumário Brasileiro de Biologia* **1**: 311-383.
13. Val FC (1982). The male genitália of some Neotropical *Drosophila*: Notes and illustrations. *Papéis Avulsos de Zoologia* **34**: 309-347.
14. Vilela C, Val FC (1985). The male genitalia of types of six members of the *Drosophila tripunctata* species group (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **29**: 503-513.
15. Vilela CR, Bächli G (1990). Taxonomic studies on neotropical species of seven genera of Drosophilidae (Diptera). *Bulletin de La Société Entomologique Suisse* **63**: 1-332.
16. Vilela CR, Val FC (1983). Redescription of *Drosophila tarsata* Schiner, 1868 and description of a new species, both in the *annulimana* group (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Biologia* **43**: 373-380.
17. Vilela CR (1983). A Revision of the *Drosophila repleta* species group (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **27**: 1-114.
18. Vilela CR (1984). Notes on the type-series of *Drosophila coffeata* Williston, with description of a new neotropical species of the subgenus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **28**: 59-64.
19. Vilela CR (1992). On the *Drosophila tripunctata* species group (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **36**: 197-221.
20. Vilela CR, Silva AFG, Sene FM (2002). Preliminary data on the geographical distribution of *Drosophila* species within morphoclimatic domains of Brazil. III. The *cardini* group. *Revista Brasileira de Entomologia* **46**: 139-148.

21. Vilela CR, Sene FM (1982). A new spotted thorax species of the genus *Drosophila* (Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia* **26**: 343-347
22. Vilela CR, Bächli G (2002). Two new North American *Drosophila* species (Diptera: Drosophilidae). *Bulletin de La Société Entomologique Suisse* **75**: 211-221.
23. Vilela CR (1992). On the *tripunctata* species group (Diptera, Drosophilidae) *Revista Brasileira de Entomologia* **36**: 197–221.