UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS

BOLETIM N.º 220 BIOLOGIA GERAL N.º 10

A. BRITO DA CUNHA

Contribuição ao estudo da adaptação das populações de *Drosophila* (Diptera) a diferentes levedos

Tese apresentada ao concurso de Livre Docência da Cadeira de Biologia Geral, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo em Setembro de 1955.

SÃO PAULO
1957

Os Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, são editados pelos Departamentos das suas diversas secções.

Tôda correspondência deverá ser dirigida para o Departamento respectivo da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras — Caixa Postal 8.105 — São Paulo, Brasil.

The "Boletins da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo" are edited by the different Departament of the Faculty.

All correspondence should be addressed to the Departament concerned. Caixa Postal 8.105, São Paulo, Brasil.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Reitor: — Prof. Dr. Gabriel Sylvestre Teixeira de Carvalho

Vice-Reitor: — Prof. Dr. Euripedes Simões de Paula

FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS

Diretor: — Prof. Dr. Euripedes Simões de Paula

Vice-Diretor: — Prof. Dr. Paulo Sawaya

Secretário: — Lic. Odilon Nogueira de Mattos

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

Professor: Crodowaldo Pavan (Catedrático)

Assistentes: Antonio Brito da Cunha

Rosina de Barros

Luiz Edmundo Magalhães

Aux. de Ensino: Jancte Saraiva de Toledo

Marta Breuer

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS

BOLETIM N.º 220 BIOLOGIA GERAL N.º 10

A. BRITO DA CUNHA

Contribuição ao estudo da adaptação das populações de *Drosophila* (Diptera) a diferentes levedos

Tese apresentada ao concurso de Livre Docência da Cadeira de Biologia Geral, da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo em Setembro de 1955.

SÃO PAULO
1957

COMPOSTO E IMPRESSO NA SECÇÃO GRÁFICA DA
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
1957

ÍNDICE

Preliminares 7

Introdução 9

Levedos de Drosophila 17

Experiências sôbre atração de Drosophila por levedos 23

Populações artificiais de *D. willistoni* 28

- Constituição inicial das populações 31
- População 5 33
- População 59 35
- População 62 35
- População 72 38
- População 80 38
- População 257 40
- Comparação entre as populações 40
- Valor adaptativo das inversões heterozigotas 40

Discussão 44

Resumo e conclusões 49

Agradecimentos 50

Dados meteorológicos 51

Bibliografia 53

PRELIMINARES

Um dos maiores resultados da Biologia contemporânea é a chamada "teoria sintética da evolução".

Desde a publicação da obra clássica de DARWIN "On the origin of species" em1859, o fato da evolução biológica ficou claramente estabelecido. Muita discussão foi travada, todavia, pelas várias teorias propostas para explicar as causas e os mecanismos da evolução. Das teorias evolucionistas as que tiveram maior repercussão foram as de LAMARCK, de DARWIN e de DE VRIES.

LAMARCK acreditava no efeito do ambiente sôbre os organismos, modificando-os e tornando-os melhor adaptados ao ambiente em que vivem, tendo sido levado à essa concepção principalmente por observar que a adaptação dos organismos aos vários fatôres do ambiente é geralmente perfeita.

DARWIN para explicar a evolução postulou como principal agente a "seleção natural". Entende-se hoje por "seleção natural" a reprodução diferencial devida aos difentes valores adaptativos das várias formas que existem nas populações das espécies, tanto animais como vegetais. Para DARWIN, a variação orgânica seria devida a vários fatôres como a transmissão hereditária de caracteres adquiridos, o efeito direto do ambiente sôbre os organismos e as variações expontâneas de causas desconhecidas.

DE VRIES para explicar a evolução concebeu a teoria das mutações. Para êle mutações eram mudanças súbitas do patrimônio hereditário dos organismos. As mutações se dão ao acaso e segundo DE VRIES seriam as causas da evolução, a qual, portanto, não teria elemento orientador.

Essas três teorias, como propostas pelos seus autores são aceitáveis só parcialmente.

Os geneticistas mostraram que não há transmissão hereditária de caracteres adquiridos e nem efeito direto de fatôres ambientais sôbre a constituição hereditária dos indivíduos. Por outro lado, os ecologistas e os morfologistas mostraram a existência de uma harmonia tão grande entre os organismos e o ambiente que dificilmente a adaptação poderia se dar por simples acaso como pretendiam os primeiros geneticistas. Os paleontólogos também eram adversários da teoria mutacionista de DE VRIES, pois estavam em contacto constante com série fósseis que indicavam que a evolução tem um fator dirigente e não se dá ao acaso como pretendia a teoria mencionada.

Sabemos hoje que essas teorias são parcialmente corretas. A chamada "teoria sintética" da evolução engloba os fatôres corretos das teo-

rias antigas, assim como novos fatos descobertos nos últimos 25 anos. O fator da adaptação por seleção natural, evidenciado por DARWIN e o fator mutação apresentado por DE VRIES, são hoje comprovadamente efetivos e por isso englobados na "teoria sintética". Como fatôres principais da evolução citam-se a mutação, a recombinação gênica, a migração, a seleção natural e a oscilação genética (genetic drift de *Sewall Wright*). Operando no processo evolutivo temos fenômenos não dirigidos pelo meio, como a mutação e a oscilação genética e fatôres por êle orientados, como a seleção natural. Alguns fatôres evolutivos são predominantemente intrínsecos aos organismos como a mutação e a recombinação, enquanto outros são determinados principalmente por causas externas como a migração. Outros fatôres ainda são o resultado de interação de causas internas e externas, como a seleção natural e a oscilação genética.

Alguns dos fatôres evolutivos, como a mutação e a recombinação gênica, são estudados principalmente por geneticistas. Outros, como a migração e a seleção, são mais evidentes aos ecologistas.

Os resultados da interação dêsses fatôres são objeto de estudo principalmente dos taxonomistas, dos morfologistas, dos biogeógrafos e dos ecologistas. O processo evolutivo, determinado pela interação de fatôres orgânicos e de fatôres ambientes, exige para a sua elucidação estudos de natureza muito ampla e a colaboração de todos os ramos da Biologia.

A "teoria sintética" engloba os achados e conclusões obtidos nos vários campos biológicos como a genética, a ecologia, a paleontologia, a taxonomia, a biogeografia, etc., realizando uma síntese da mais alta importância prática e filosófica.

Um dos grupos animais cujo estudo mais contribuiu para a construção da "teoria sintética" da evolução foi o das Drosophilae (Insecta — Diptera). Os conhecimentos acumulados no seu estudo foram de importância decisiva no progresso dos estudos evolutivos. Até pouco tempo, todavia, nada se sabia da biologia das espécies tropicais de Drosophila, que tinham sido estudadas apenas na Europa e na América do Norte. Dadas as diferenç de "habitat" entre as regiões paleárticas e neárticas e a neotrópica a análise das espécies neotropicais era um estudo que se impunha. Sendo tão grandes as diferenças dos ambientes dessas regiões, era de esperar que houvesse importantes diferenças evolutivas nas populações de Drosophila aí existentes. O estudo dessas diferenças evolutivas e a sua correlação com as diferenças ecológicas seria de enorme importância para os nossos conhecimentos do processo evolutivo. Como bem diz HUXLEY (1942): "A evolução comparada está destinada a tornar-se uma parte da Biologia tão importante quanto a anatomia comparada".

Tendo essa idéia como base, foi iniciado há vários anos no Departamento de Biologia Geral da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, um plano de estudo da evolução das drosófilas neotropicais. Nesse plano numerosas pesquisas já foram rea-

lizadas sôbre a genética, a taxonomia, a ecologia, o comportamento, a estrutura das populações, a citologia e a distribuição geográfica dessas moscas. O presente trabalho é mais uma contribuição ao conhecimento da biologia da Drosophila tendo em vista a elucidação de suas adaptações e de seu processo evolutivo.

INTRODUÇÃO

O estudo das drosófilas brasileiras foi iniciado pelo inventário das espécies e de sua distribuição. Muito pouco era conhecido sôbre as mesmas até 1943. Os únicos trabalhos que incluiam descrições de drosófilas coletadas na América do Sul eram os de DUDA (1925) e de HENDEL (1936) feitos sòmente com material sêco, de museu. O estudo da taxonomia e da distribuição geográfica das drosófilas no Brasil foi iniciado por DOBZHANKY e PAVAN (1943) e continuado por DOBZHANKY (1946), STREISINGER (1946), KING (1947), PAVAN e DA CUNHA (1949), BURLA e colaboradores (1949), BARROS (1950), PAVAN e colaboradores (1950), CORDEIRO (1952), PAVAN e BREUER (1953), BURLA e PAVAN (1953), JAEGER e SALZANO (1953), FROTA-PESSOA (1954) e DA CUNHA (1955).

No decorrer dêsses estudos foram descritas 79 espécies, das quais 51 eram novas. O conhecimento taxonômico das espécies brasileiras de *Drosophila*, todavia, está longe ainda de ser perfeito. Certas regiões são mal conhecidas e o estudo detalhado de determinados grupos de espécies vem revelando a existência de muitas desconhecidas, como é o caso do grupo "médio" que vem sendo estudado por O. FROTA-PESSOA e do grupo "saltans", estudado por L. E. DE MAGALHÃES. Uma das características da fauna neotropical de *Drosophila* parece ser a grande abundância de espécies crípticas, o que dificulta grandemente o trabalho taxonômico. Êsse trabalho foi imediatamente seguido por estudos genéticos e ecológicos.

Os primeiros consistiram principalmente da análise da variabilidade gênica e da variabilidade cromosômica das populações de espécies selvagens.

A primeira pesquisa genética foi feita em *Drosophila polymorpha*. DOBZHANKY e PAVAN (1943) notaram que os indivíduos dessa espécie, presentes nas populações naturais, não eram uniformes, variando no tipo da pigmentação do abdomen. A análise de *D. polymorpha* (DA CUNHA, 1949, 1951) mostrou que a variabilidade da espécie é genética. Os vários tipos de pigmentação abdominal são devidos a dois gens alelos *E* e *e*. Os indivíduos *ee* são claros, os *EE* escuros e os *Ee* intermediários, não havendo, portanto, dominância nesse par de alelos. Oito populações naturais de *D. polymorpha* foram analisadas. Tôdas essas populações são polimorfas mas a freqüência dos gens *E* e *e* varia de uma população a outra. A análise de experiências de laboratório mostrou que os heterozigotos *Ee* têm valor adaptativo superior ao dos homozigotos *ee* e *EE*. O polimorfismo de *D. polymorpha* é, portanto, do tipo

balanceado. Os gens alelos *E* e *e* mantém-se sempre nas populações graças à superioridade adaptativa dos heterozigotos *Ee*. Os valores adaptativos dos 3 tipos variam de acôrdo com o ambiente. A freqüência dêsses tipos numa população é, pois, determinada pelo ambiente, através da seleção natural. Trabalho feito ulteriormente mostrou que os gens *E* e *e* não se acham ligados a inversões cromosômicas (DA CUNHA, 1953). Situação semelhante foi descrita por PAVAN e DA CUNHA (1947) e analisada genèticamente em *D. kikkawai* (= *D. montium*) por FREIRE-MAIA (1949). As populações de *D. kikkawai* também são polimórficas, variando o grau de pigmentação do abodomen dessas moscas. Em *D. kikkawai,* como em *D. polymorpha,* o polimorfismo das populações é mantido pelo maior valor adaptativo dos heterozigotos.

A variabilidade genética das populações de *Drosophila,* todavia, não se limita a gens com efeitos morfológicos, tipo de variabilidade êsse que é mesmo raro em *Drosophila*.

PAVAN e colaboradores (1951) analisaram, por métodos especiais, 2.004 segundos cromosomas e 1.166 terceiros cromosomas de *D. willistoni* e verificaram que contêm grande número de gens recessivos letais, semiletais, subvitais, modificadores de taxas de crescimento, causadores de esterilidade e de mutantes visíveis.

As várias populações de *D. willistoni* analisadas são mais ou menos uniformes no que tange à variabilidade genética, estimada pela freqüência de gens mutantes recessivos. Nesse trabalho foram analisadas populações de Belém (E. do Pará), do Rio Branco e do Rio Negro (E. do Amazonas), do Acre, de Goiás, de Catuni (E. da Bahia), de Pirassununga, de Mogí das Cruzes e de Vila Atlântica (E. de São Paulo) e de Iguaçú. Os dados obtidos indicam que essas populações são genèticamente muito grandes e que não sofrem "oscilação genética" (genetic drift).

E' interessante a comparação da composição das populações de *D. willistoni* com as de *D. pseudoobscura*. Estas últimas contêm variabilidade gênica muito menor do que as de *D. willistoni,* e o grau de variabilidade não é o mesmo nas várias populações estudadas. Nas populações de *D. pseudoobscura* dos E.U.A., o número de indivíduos sofre mudanças cíclicas de acôrdo com as estações. Nessas mudanças, êsse número pode se tornar tão pequeno que muitos gens recessivos prejudiciais são eliminados por homozigose em cruzamentos consanguíneos (DOBZHANSKY, 1951). O mesmo não ocorre nas populações brasileiras de *D. willistoni,* as quais se mantêm uniformemente grandes e com variabilidade uniformemente alta de gens recessivos.

O grau de consaguinidade nas populações, e, conseqüentemente, os seus tamanhos genéticos, pode ser medido pela freqüência de alelismo nos seus gens. Estudo dêsse tipo foi feito por PAVAN e KNAPP (1953) que chegaram à conclusão de que a maioria das populações de *D. wil-*

listoni analisadas são genèticamente muito grandes, mas que algumas populações isoladas (ilhas da Baía de Angra dos Reis) podem ter tamanho genèticamente pequeno.

Situação diferente da encontrada em *D. willistoni* foi descoberta por DOBZHANSKY e SPASSKY (1954) em *D. prosaltans*. Esta espécie difere ecològicamente de *D. willistoni*. Enquanto que a última é encontrada em abundância em tôdas as regiões do Brasil, a primeira é rara e restrita a poucos nichos ecológicos. A análise da freqüência de gens letais, semiletais, etc., nas populações de *D. prosaltans* revelou que êsses gens mutantes são muito mais raros nesta espécie do que em *D. willistoni*. A viabilidade média dos segundos cromosomas é de 62.6 ± 2.5% da viabilidade normal em *D. prosaltans* e de 53.9 ± 0.9% da viabilidade normal em *D. willistoni*, sendo a dos terceiros cromosomas de 88.4 ± 1.7% da viabilidade normal na primeira espécie e de 63.0 ± 1.2% da viabilidade normal na segunda.

Enquanto que em *D. prosaltans* as populações são pequenas, em *D. willistoni* elas são genèticamente extensas. Por essa razão, em *D. prosaltans* os homozigotos devem ser muito freqüentes, em virtude da consanguinidade, enquanto que em *D. willistoni* êles devem ser raros. Nas populações de *D. willistoni* a adaptação ocorre predominantemente pela seleção de gens que determinam uma coadaptação mais satisfatória em heterozigotos, enquanto que nas populações de *D. prosaltans* é mais importante a seleção de gens que produzam homozigotos bem adaptados. Em resumo, o fenômeno da heterose é muito mais importante nas espécies com grandes populações do que nas com populações pequenas. Nas grandes populações a seleção natural opera servindo-se principalmente dos heterozigotos, enquanto que nas populações pequenas ela age principalmente sôbre homozigotos.

Vemos, pois, que o ambiente ao qual as espécies estão adaptadas, agindo sôbre o tamanho das populações, determinará importantes conseqüências em sua genética. Outro fator importante na determinação do grau de variabilidade das populações é a taxa de mutação dos seus gens. Uma análise comparativa da freqüência de mutações foi feita por DOBZHANSKY, SPASSKY e SPASSKY (1952, 1954). Êsses autores estudaram a freqüência do aparecimento de mutações em *D. persimilis*, *D. pseudoobscura*, *D. willistoni* e *D. prosaltans*. As duas primeiras são espécies neárticas tendo *D. persimilis* preferência por regiões mais frias do que as preferidas por *D. pseudoobscura*. As taxas de mutação variam nas quatro espécies. A ordem de mutabilidade é *D. persimilis* > *D. pseudoobscura* > *D. willistoni* > *D. prosaltans*. A taxa de mutações é um caráter adaptativo, e parece estar relacionado ao ambiente por três maneiras principais, ao menos:

a) espécies muito disseminadas, comuns e ecològicamente versáteis, devem ter uma taxa de mutação maior do que espécies raras e espe-

cializadas. Essa hipótese, de BERG e SCHMALHAUSEN (em SCHMALHAUSEN, 1949) relaciona, pois, a taxa de mutações ao grau de exploração do ambiente; encontra confirmação nos dados de DOBZHANSKY, SPASSKY e SPASSKY (1952, 1954).

b) Em espécies com populações pequenas, a alta consangüinidade acarreta muita homozigose. Uma taxa de mutação alta, nessas populações, determinaria baixa adaptabilidade devido à grande freqüência de homozigotos de valor adaptivo baixo. Em populações pequenas, taxas de mutação baixas devem ser, portanto, mais adaptativas. Essa é mais uma explicação da pequena mutabilidade de *D. prosaltans*.

c) Temperaturas altas e variáveis aumentam a mutabilidade. Baseado nesse fato, MULLER (1952) postulou que em populações vivendo em ambientes de temperatura alta ou variável, a mutabilidade induzida pelo meio deve ser contrabalançada pela diminuição da taxa de mutação intrínseca. A hipótese de MULLER é confirmada, também, pelos dados de DOBZHANSKY, SPASSKY e SPASSKY (1952, 1954).

A mutabilidade é mais alta em *D. persimilis* que vive em regiões frias do que em *D. pseudoobscura,* de regiões mais quentes. Dentro da mesma espécie (*D. willistoni*) a mutabilidade é maior em populações de regiões frias do que nas de regiões quentes. As populações de Mogí das Cruzes (E. de São Paulo) são mais mutáveis do que as de Pirassununga (E. de São Paulo) e estas mais do que as de Belém (E. do Pará). A temperatura média é inferior em Mogí das Cruzes e mais elevada em Belém.

Aqui temos, novamente uma relação entre a genética das populações e o tipo de ambiente em que elas vivem. E' interessante notar que os gens que constituem a grande reserva encontrada em *D. willistoni* não tem um valor adaptativo absoluto. CORDEIRO (1952) mostrou que a maioria dos gens letais diminuem a viabilidade dos seus portadores mas que alguns dêles são heteróticos. CORDEIRO e DOBZHANSKY (1954) demostraram que o valor adaptativo de cada cromosoma de *D. willistoni* depende da combinação cromosômica em que êle se encontre. Assim, dois cromosomas que contêm letais heteróticos diferentes, quando juntos, podem originar seja um heterozigoto de grande viabilidade, seja um de viabilidade muito fraca. O valor adaptativo de um gen ou de um cromosoma depende, portanto, do meio genético interno em que êle se encontra, bem como do meio externo em que o indivíduo se acha.

Outro tipo de variabilidade encontrado com freqüência nas populações de *Drosophila* é o cromosômico. Os cromosomas nas populações naturais de *Drosophila* podem diferir na sua estrutura. O tipo de

variação mais disseminado é devido a inversões, isto é, a mudanças na ordem dos gens dentro do mesmo cromosoma.

As inversões cromosômicas são especialmente importantes porque nos indivíduos heterozigotos elas impedem a ocorrência de recombinações gênicas na seqüência invertida. Elas permitem, assim, dentro dos seus limites, a organização de combinações gênicas que dificilmente são desfeitas. As inversões mais importantes e comuns nas populações naturais são as paracêntricas, (isto é, que não incluem o centrômero), porque não causam nenhuma diminuição de fertilidade. As inversões cromosômicas e o seu comportamento nas populações naturais têm sido objeto de minuciosos estudos; uma revisão da literatura existente foi feita recentemente por DA CUNHA (1955).

Resumindo os resultados obtidos nos estudos da variabilidade cromosômica nas populações naturais, podemos dizer que: "As inversões cromosômicas presentes nas populações naturais dos Dípteros são heteróticas no estado heterozigoto, como foi demonstrado em todos os casos em que se realizaram testes. Mesmo nos casos em que nenhum teste foi feito, há boas indicações de que as inversões são importantes para a adaptabilidade dos seus portadores. O valor adaptativo das inversões cromosômicas é devido aos complexos de gens que elas mantêm reunidos. A função das inversões é manter reunidas combinações gênicas adaptativas. A heterose produzida pelas inversões cromosômicas desenvolve-se através da seleção natural por meio da formação de combinações gênicas coadaptadas. Como os heterozigotos têm valores adaptativos mais altos do que os homozigotos, as populações tornam-se genèticamente variáveis e adquirem um alto grau de plasticidade ecológica. As freqüências dos arranjos gênicos variam de uma população a outra de acôrdo com as condições dos ambientes em que elas vivem. As populações são sempre mantidas adaptadas aos seus ambientes, e sempre preservam uma plasticidade alta que as habilita a responder adaptativamente às mudanças normais do ambiente. Essa plasticidade adaptativa das populações polimórficas é importante, não só para o ajustamento às mudanças ecológicas ligadas ao tempo, mas também para a utilização da diversidade ecológica espacial. Quanto mais polimórfica fôr uma população, maior será a sua capacidade de aproveitar os diversos nichos ecológicos oferecidos pela natureza. ROBERTSON and REEVE (1952) e DOBZHANSKY e WALLACE (1953) mostraram que a homeostase está relacionada com a heterozigose. Moscas mais heterozigotas têm maior capacidade de manter os seus processos fisiológicos constantes através de mudanças de ambiente, do que moscas mais homozigotas. Um grau suficiente de homeostase é certamente um dos fatôres que produzem a heterose nos indivíduos heterozigotos para inversões. A homeostase é especialmente importante em ambientes muito heterogêneos e é exatamente nesse tipo de ambiente que o polimorfismo cromosômico é

muito desenvolvido. Como foi mostrado pelos trabalhos de DOBZHANSKY e seus colaboradores em *D. pseudoobscura,* por CROW (1948) e por BRIEGER (1950) no milho, e, mais recentemente, por WALLACE e seus colaboradores (1953) em *D. melanogaster,* a seleção dentro das populações "favorece certos heterozigotos e dessa forma organiza séries de alelos em todos (ou pelo menos em muitos) *loci* — os alelos particulares de cada *locus* sendo determinados em cada população pelos alelos presentes em todos os *loci*" (WALLACE e col., 1953).

Visto que a seleção natural favorece os heterozigotos e que os valores adaptativos dos gens são relativos, uma grande variabilidade é sempre mantida nas populações naturais. A manutenção dessa variabilidade é naturalmente possível sem inversões cromosômicas. Todavia as inversões cromosômicas mantendo juntos muitos gens, permitem a formação de sistemas mais complexos de gens coadaptados, cuja existência seria impossível com um único arranjo gênico. As inversões cromosômicas permitem uma organização gênica num grau superior, que seria impossível se elas não existissem" (DA CUNHA, 1955).

Papel saliente na obtenção dessas conclusões coube aos resultados dos estudos de variabilidade cromosômica das espécies neotropicais de *Drosophila*. A espécie mais intensamente estudada foi *D. willistoni* (DA CUNHA, BURLA, DOBZHANSKY, 1950; DA CUNHA, 1953; DA CUNHA, DOBZHANSKY, 1954; TOWNSEND, 1952). *D. willistoni* é encontrada desde a Flórida até a Argentina. Dentro dessa enorme área geográfica ela pode se achar em tôdas as diferentes regiões ecológicas existentes. A sua variabilidade cromosômica mostrou-se enorme, pois 42 inversões diferentes ocorrem nos seus cromosomas. A freqüência máxima de inversões heterozigotas, foi encontrada em Goiás (sendo a média de 9.36 $\pm$ 0.26 por fêmea) e a mínima, de 0.81 $\pm$ 0.03, em Catuní, na caatinga baiana. A freqüência de inversões em estado heterozigoto varia de acôrdo com as condições ecológicas das regiões habitadas pelas populações. Um total de 41 populações foi estudado em localidades escolhidas pelas suas características ecológicas. Os resultados obtidos indicaram que: a) em regiões ecològicamente ricas e muito diversificadas, a freqüência de inversões heterozigotas é maior do que em regiões ecològicamente mais uniformes; b) nos limites de tolerância ecológica da espécie, a variabilidade das populações é menor; c) sendo as condições semelhantes, a variabilidade cromosômica é maior nas populações onde espécies competidoras sejam mais raras.

A variabilidade cromosômica numa localidade está, pois, correlacionada com a diversidade de nichos ecológicos que a população explora nessa região. A diversidade de nichos ecológicos ocupados por *D. willistoni* foi avaliada em têrmos semi-quantitativos, utilizando-se o método proposto pelo ecologista DANSEREAU, em 1952. Os valores obtidos mostram uma clara correlação entre o grau de variabilidade cromosômica e

o grau de diversidade ecológica. A mesma correlação foi encontrada em *D. nebulosa* (DA CUNHA, BRNCIC e SALZANO, 1953). Conclusões semelhantes foram obtidas no estudo da variabilidade cromosômica em espécies taxonômicamente próximas (DOBZHANSKY, BURLA e DA CUNHA, 1950; DA CUNHA, BRNCIC e SALZANO, 1953). As espécies estudadas foram: *D. willistoni, D. paulistorum, D. equinoxialis* e *D. tropicalis; D. polymorpha* e *D. cardinoides; D. griseolineata* e *D. guaramunu*. Entre espécies relacionadas, as que têm uma área de distribuição maior, que vivem em maior número de tipos de ambientes diferentes e em ambientes mais diversificados, têm um grau de variabilidade cromosômica muito maior do que espécies de distribuição geográfica e ecológica mais restrita.

O desenvolvimento de polimorfismo pela seleção natural é um dos métodos pelos quais uma população pode melhorar a sua capacidade de utilizar o ambiente e de sobreviver através de suas mudanças com o tempo (DA CUNHA, BURLA e DOBZHANSKY, 1950).

Os resultados acima indicados mostram que há uma correlação entre a variabilidade cromosômica das populações e o ambiente, considerado de maneira muito ampla, como o conjunto de fatôres físicos e biológicos, aos quais as populações estão adaptadas.

Algumas experiências já foram realizadas com o fim de estudar a relação entre os tipos cromosômicos e fatôres ecológicos isolados. Todos os dados a êsse respeito foram obtidos com as espécies neárticas, *D. pseudoobscura* e *D. permilis*. Os efeitos da temperatura (DOBZHANSKY e WRIGHT, 1946; WALLACE, 1948; SPIESS, 1950), da umidade (HEUTS, 1947, 1948; LEVINE, 1952), da temperatura juntamente com o grau de umidade do meio de cultura (SPASSKY, 1941) e do tipo de alimento (DA CUNHA, 1951, DOBZHANSKY e SPASSKY, 1954) sôbre o valor adaptativo dos cromosomas foram estudados. Essas experiências deram indicações claras de que os valores adaptativos dos portadores de diferentes combinações gênicas variam de acôrdo com as condições do ambiente. Especialmente interessante para êste trabalho são os resultados quanto ao efeito da alimentação, no valor adaptativo dos cromosomas de *D. pseudoobscura*. Em populações artificiais alimentadas com *Saccharomyces cerevisiae*, os heterozigotos ST-CH são superiores aos homozigotos ST-ST e CH-CH e as populações alcançam um ponto de equilíbrio com a freqüência de 70% de cromosomas ST e 30% de CH. Todavia, com outros levedos e bactérias, obtidos do estômago de *D. pseudoobscura*, na natureza, o resultado foi diferente, variando o ponto de equilíbrio de 70% até 100% de ST conforme o microorganismo utilizado no meio de cultura.

O valor adaptativo dos tipos cromosômicos depende, assim, do microorganismo usado como alimento e a heterose até mesmo desaparece em alguns casos. A freqüência dos tipos cromosômicos, na natureza, é, portanto determinada pelo seu conteúdo gênico e pelos fatôres ambien-

tes. Os principais trabalhos ecológicos feitos sôbre as espécies brasileiras de *Drosophila* são os de DOBZHANSKY e PAVAN (1950), BURLA e col. (1950), PAVAN (1952) e DOBZHANSKY e DA CUNHA (1955) e as suas conclusões mais importantes serão relatadas a seguir.

As espécies brasileiras de *Drosophila* diferem em sua distribuição geográfica e principalmente em sua ecologia. Algumas, como *D. willistoni,* vivem em todos os ambientes ecológicos até agora estudados, enquanto que outras são muito mais restritas. Dentro da mesma localidade podem-se encontrar grandes diferenças nas freqüências em que as espécies são coletadas em isca de banana fermentada. As freqüências de indivíduos das várias espécies pode diferir até mesmo em iscas separadas por uma distância de apenas 20 metros. As drosófilas não se distribuem uniformemente nos meios em que vivem. Cada espécie tem suas preferências microecológicas e se distribui de acôrdo com essas preferências. DOBZHANSKY e PAVAN (1950) e PAVAN (1953) mostraram que as espécies de *Drosophila* são atraídas diferencialmente pelas diversas frutas encontradas em fermentação no solo das matas.

A análise periódica de diversas populações de *Drosophila* feita por PAVAN (1952) durante vários anos, nos mesmos lugares, mostrou que as várias espécies apresentam períodos de grande abundância e períodos de redução de tamanho de suas populações. Essas mudanças não são cíclicas, em virtude, provàvelmente, da complexidade produzida pelo grande número de variáveis. Durante o ano, nas regiões analisadas, há mudanças climáticas e também biológicas, como as introduzidas pelas épocas diferentes de frutificação das várias árvores, etc. Uma das características da fauna brasileira de *Drosophila* é o grande número de espécies que podem ser encontradas na mesma localidade. A diversidade da fauna de *Drosophila* nas localidades brasileiras é, por exemplo, no mínimo, duas vêzes maior do que no Texas. PAVAN (1953) mostrou que essas espécies são coadaptadas pela seleção natural de forma a dividirem entre si o ambiente com um mínimo de competição. Nos ambientes tropicais a capacidade de diversificação ecológica é de importância extrema e altamente trabalhada pela seleção natural.

Confirmação das conclusões de PAVAN (1952) encontra-se no trabalho de DOBZHANSKY e DA CUNHA (1955). Êsses autores estudaram a atração das várias espécies de *Drosophila* por 4 linhagens de levedos de duas espécies. As experiências foram feitas em 4 localidades diferentes, a saber: Belém (E. do Pará), Fordlandia (margem do Rio Tapajós), Itambacuri (região do Rio Doce) e São Paulo. Permitiram concluir que: "Mais de metade das espécies de *Drosophila,* que foram coletadas em número apreciável, mostraram preferências claras por um ou outro dos levedos usados. Em algumas espécies as preferências foram nítidas, ainda que nenhuma espécie fôsse atraída por um só tipo de isca". Além disso, considerando-se a mesma espécie de *Drosophila,* o

seu comportamento nem sempre foi o mesmo com relação aos mesmos levedos em localidades diferentes. Há, assim, diferenças raciais quanto às preferências.

Vemos, pois, que as espécies são diversificadas quanto às suas preferências nutritivas. As diferenças entre as espécies, todavia, não são qualitativas mas quantitativas. A diferenciação das preferências nutritivas é certamente estimulada pela seleção natural e é um dos fatôres de diminuição de competição entre as espécies e de sua coadaptação para a vida na mesma localidade.

BURLA (1955) nos seus estudos de *Drosophila* na Costa do Ouro, e DA CUNHA, DOBZHANSKY e SOKOLOFF (1951) e DOBZHANSKY e colaboradores (em impressão) na análise da atração de *Drosophila* por leveduras na Sierra Nevada, chegaram a conclusões semelhantes.

Os estudos acima revistos indicam claramente que não é possível ter uma idéia perfeita da evolução e da genética das populações de *Drosophila* sem pesquisas mais completas da sua ecologia. Até agora, nos estudos das populações neotropicais de *Drosophila,* obtivemos principalmente informações quanto às relações das populações com os fatôres ecológicos considerados em conjunto. E' essencial obter dados para avaliar a importância dos vários fatôres ecológicos isolados na adaptação e na estrutura das populações de *Drosophila*.

Dos diversos fatôres ecológicos que podem ser isolados para estudo no laboratório, a nutrição parece ser o mais promissor, em vista dos resultados já obtidos, da facilidade do seu contrôle no laboratório e da sua importância fisiológica.

As drosófilas alimentam-se, na natureza, principalmente de levedos obtidos em frutas fermentadas. Êsses levedos podem ser fàcilmente isolados quer das frutas, quer do estômago das próprias moscas, e o seu efeito pode ser analisado. O presente trabalho foi planejado com o fim de possibilitar informações sôbre: a) quais os levedos usados como alimentos pelas drosófilas brasileiras; b) quais as diferenças de regime alimentar entre as várias espécies de *Drosophila;* c) qual o grau de preferência das espécies de *Drosophila* pelos vários levedos, de acôrdo com a atração pelo cheiro; d) qual o efeito dos levedos sôbre o valor adaptativo de diferentes tipos cromosômicos da mesma espécie de *Drosophila*.

Levedos de Drosophila

A extração de levedos foi feita usando-se moscas encontradas nas proximidades de frutas em fermentação ou moscas atraídas por iscas de banana fermentada por fermento Fleischmann (*S. cerevisiae*). As iscas de banana, usadas para atração das moscas para isolamento dos levedos, foram colocadas dentro de latas tendo a bôca fechada por um filó de malha fina de modo a impedir o contacto das moscas com a banana.

As moscas, uma vez capturadas, foram dissecadas em condições estéreis, quer no laboratório, quer no próprio local de coleta. Os tratos digestivos foram isolados e colocados em placa de Petri com meio propionado de agar-malte, onde depois de rompidos com uma alça de platina tiveram seus conteúdos espalhados na superfície do meio.

No caso de *Drosophila willistoni* e de *D. paulistorum,* cada macho capturado foi colocado em tubo com fêmeas virgens das duas espécies. Depois da cópula os machos foram dissecados e seus levedos extraídos. As fêmeas de *D. willistoni* utilizadas nos cruzamentos eram portadoras de dois gens dominantes "Glazed-Hooked". A análise da descendência das fêmeas cruzadas permitiu a classificação dos machos capturados. Tais cruzamentos foram usados em virtude da impossibilidade de distinguir os machos de *D. willistoni* e de *D. paulistorum* pela sua morfologia.

Uma vez obtidas colônias de levedos nas placas, com a ponta de uma alça de platina tomou-se amostras em água distilada e uma gôta da suspensão foi inoculada em agar-malte propionado. Das colônias obtidas, isolou-se parte de uma com aspecto de pura e de novo suspendeu-se a amostra em água distilada e inoculou-se uma gôta da suspensão em agar-malte propionado. Essa operação foi repetida até se obter culturas puras dos vários levedos. Uma vez obtidas as culturas puras, elas foram conservadas em cultura em agar-malte.

As várias linhagens isoladas foram então classificadas pelos métodos preconizados por LODDER e KREGER-VAN RIJ no seu livro "The yeasts" (1952).

Um total de 417 linhagens de levedos das quais 394 puderam ser classificadas foram isolados de *Drosophila*. Dessas linhagens, 295 foram isoladas e purificadas pelo autor e as 122 restantes foram isoladas e purificadas pelo Dr. EL-TABEY SHEHATA. A maior parte do trabalho da classificação dos levedos foi feita pelo Dr. SHEHATA. Tôdas as drosófilas usadas para a obtenção dos levedos foram classificadas pelo autor.

A taxonomia dos levedos isolados das drosófilas, incluindo as descrições das espécies novas, é objeto de um trabalho a ser publicado por SHEHATA, num futuro próximo.

As coletas de levedos foram feitas em Mogí das Cruzes (6-5-51) em matas de propriedade da família Pavan, e na reserva florestal da Cantareira (3-3, 13-3, 13-4, 13-11, 1-12, 23-12 em 1952; 27-4, 4-5, 25-5, 10-6, 2-7, 4-8, 3-9, 24-9, 25-10, 29-10, 10-11, 30-11 em 1954). As iscas eram colocadas em recipientes protegidos com filó a fim de impedir o contacto das moscas com a isca e sua contaminação com o levedo usado na mesma. Êsse filó diminui consideràvelmente a difusão do cheiro produzido durante a fermentação da banana e por conseguinte

o número de moscas atraídas e capturadas em cada coleta foi muito reduzido.

As diferenças das freqüências dos levedos obtidos nas várias coletas, assim como dos obtidos em Mogí das Cruzes e na Cantareira, são muito pequenas e não significantes estatìsticamente; por isso as coletas são consideradas globalmente.

As moscas das espécies *D. mediostriata, D. mediosinata, D. mediopunctata, D. mediopicta* e *D. nigricincta* acham-se reunidas sob a denominação "medio" devido à impossibilidade da sua distinção. Alguns machos de *D. willistoni* ou *D. paulistorum* não puderam ser identificados por não haverem copulado, único critério que permite sua distinção; por êsse motivo acham-se nas tabelas como "willistoni".

Os levedos foram obtidos de 281 indivíduos de *Drosiphila*: 46 *D. willistoni*, 15 *D. paulistorum*, 9 "willistoni", 2 *D. capricorni*, 1 *D. fumipennis*, 71 *D. bocainensis*, 3 *D. bocainoides*, 51 *"medio"*, 5 *D. polymorpha*, 8 *D. bandeirantorum*, 35 *D. griseolineata*, 29 *D. guaramunu*, 2 *D. atrata* e 4 *D. quadrum*.

D. willistoni, D. paulistorum, D. capricorni, D. fumipennis, D. bocainensis e *D. bocainoides* pertencem ao grupo *willistoni* do subgênero *Sophophora*. Tôdas as outras espécies são do subgênero *Drosophila*, sendo que *D. griseolineata* e *D. guaramunu* pertencem ao grupo guarani e *D. atrata* com *D. quadrum* ao grupo calloptera.

O número total das linhagens de espécies diferentes de levedos obtidas das 281 moscas foi de 394. Às vêzes 2 ou mais linhagens da mesma espécie de levedo foram isoladas de uma única mosca, mas quando isso sucedeu contaram-se as várias linhagens do mesmo levedo como uma única.

O aparelho digestivo da maioria das moscas continha uma só espécie de levedo sendo mais raras moscas com 2, 3 ou 4 espécies de levedos. O quadro seguinte ilustra bem êste ponto:

194	(69%)	moscas com	1 levedo
64	(22.8%	" "	2 levedos
20	(7.1%)	" "	3 levedos
3	(1.1%)	" "	4 levedos
281	moscas		394 linhagens

Em alguns casos foi possível observar macroscòpicamente a distribuição de levedos diferentes no estômago das drosófilas. Assim duas moscas (*D. bocainensis*) apanhadas mostraram estômagos muito cheios de levedos, claramente diferenciados numa parte vermelha e numa parte branca. A primeira era levedo pigmentado do gênero *Rhodotorula*, e a segunda levedo sem pigmentação. A diferenciação nítida das duas

partes clara e vermelha indica que a mosca se alimentou primeiro com um levedo e depois com o outro e não com uma mistura de levedos claros e vermelhos.

Quando uma *Drosophila,* que passou um certo tempo sem comer, encontra uma fruta fermentada, ela provàvelmente se alimenta até encher por completo o estômago.

A inoculação natural das frutas com levedos não é, provàvelmente, muito intensa. Os primeiros que as atingem devem se multiplicar ràpidamente e, dessa forma, antes de sua decomposição total devem se estabelecer zonas com predominância ou pureza de um determinado fermento. A mosca, ao encontrar uma fruta nessas condições, provàvelmente, alimenta-se numa área muito restrita e assim absorve uma cultura de levedos com uma só ou com muito poucas espécies.

O número de espécies e de variedades de levedos encontrados foi muito grande: nas 394 linhagens isoladas havia 43 espécies de levedos. Tem-se uma proporção de cêrca de 3 espécies de levedos para cada espécie de *Drosophila*.

A distribuição das espécies de levedos entre as várias espécies de *Drosophila* está detalhada nas tabelas 1 e 2. A freqüência das várias espécies de levedos está muito longe de ser uniforme. Dentre as 43 espécies (ou espécies e variedades), 34 (79%) foram encontradas de 1 a 6 vêzes, 2 (2.6%) de 10 a 20 vêzes, 4 (9.3%) de 20 a 30 vêzes, 2 (4.6%) cêrca de 40 vêzes, e 1 (2.3%) foi obtida 122 vêzes.

Essa espécie mais freqüente é *Kloeckera apiculata,* uniformemente distribuída pelas várias espécies de *Drosophila*.

A distribuição dos levedos do gênero *Candida* é bem irregular. *Candida krusei* foi encontrada em quase tôdas as espécies de *Drosophila* mas predomina nìtidamente nas moscas do grupo "medio": 40% das suas linhagens foram encontradas nesse grupo que representa 18.1% das moscas. *Candida mycoderma* também predomina no grupo "medio" apresentando uma distribuição muito semelhante à de *C. krusei*. *Candida parapsilosis var. intermedia* e *Candida brasiliae* são predominantes em *D. bocainensis* que representa 25.3% do total de moscas; 70.8% de *C. parapsilosis var. intermedia* e 77.8% de *C. brasiliae,* encontram-se nessa espécie de *Drosophila*. Os levedos do gênero *Torulopsis* embora raros parecem característicos das moscas do grupo willistoni, pois das 13 linhagens de *Torulopsis,* 11 foram encontradas em *D. willistoni* e *D. bocainensis*.

No gênero *Pichia* também há diferenças quanto à distribuição. *Pichia fermentans* é nìtidamente um levedo de *D. willistoni,* enquanto *Pichia membranaefaciens* predomina em *D. bocainensis* e em *D. griseolineata*. A freqüência de *P. fermentans* em *D. willistoni* (16.4% das moscas) é de 56.5% dos levedos isolados da espécie e a freqüência de

TABELA 1. Distribuição, em %, das espécies de levedo entre as espécies de Drosophila

	D. willistoni	D. paulistorum	"willistoni"	L. capricorni	D. fumipennis	D. bocainensis	D. bocainoides	"medio"	D. polymorpha	D. bandeirantorum	D. griseolineata	D. guaramunu	D. atrata	D. quadrum	Número de isolados
Endomyces								100.0							1
Endomycopsis						33.3					66.6				3
Saccharomyces acidifaciens															-
Saccharomyces rosei												100.0			1
Saccharomyces cerevisiae						8.4		41.7		8.4		41.7			12
S. cerevisiae var. ellipsoides				20.0				80.0							5
Saccharomyces carlsbergensis					100.0										1
Saccharomyces n.sp.			50.0							50.0					2
Pichia fermentans	56.5	4.3	8.6			8.6		13.0			4.3	4.3			23
Pichia membranaefaciens	17.1		2.4			43.9	2.4		4.9	2.4	21.9	2.4		2.4	41
Hansenula anomala								100.0							1
H. anomala var. ciferri												100.0			1
Debaryomyces								100.0							1
Hanseniaspora valbyensis	33.3	33.3		33.3											3
Hanseniaspora uvarum	12.5		8.3			33.3	4.2			8.3	12.5	16.7		8.3	24
Hanseniaspora n.sp.											100.0				1
Cryptococcus laurentii						100.0									3
Cryptococcus luteolus															-
Torulopsis famata	50.0					50.0									2
Torulopsis inconspicua	66.6										33.3				6
Torulopsis glabrata	100.0														2
Torulopsis glabrata var. nova						100.0									1
Torulopsis bacillaris						100.0									1
Torulopsis gropengiesseri						100.0									1
Candida krusei	22.5	10.0	5.0	5.0				40.0	5.0		5.0	5.0	2.5		40
Candida brumptii												100.0			2
Candida parapsilosis			100.0												1
C. parapsilosis var. intermedia						70.8		20.8				8.3			24
Candida guilliermondii								50.0				50.0			2
C. guilliermondii var. membranaefaciens								100.0							1
Candida intermedia													100.0		1
Candida rugosa								100.0							2
Candida zeylanoides	100.0														1
Candida mycoderma	17.2	3.4	3.4			13.8		41.4		3.4	10.3	3.4		3.4	29
Candida lypolitica											50.0	50.0			2
Candida humicola						100.0									3
Candida brasiliae	5.5					77.8					5.5	11.1			18
Candida n.sp.								50.0						50.0	2
Kloeckera apiculata	11.5	8.2	4.1			30.3	1.6	9.0	2.4	3.3	16.4	12.3		0.8	122
Trichosporum n.sp.											100.0				1
Rhodotorula glutinis						100.0									1
R. glutinis var. rubescens								100.0							1
Rhodotorula aurantica						100.0									1
Rhodotorula rubra	100.0														1
Rhodotorula mucilaginosa	50.0							50.0							2
Número de isolados	63	17	15	4	1	114	4	66	7	10	46	39	2	6	394
Número de moscas	46	15	9	2	1	71	3	51	5	8	35	29	2	4	281

TABELA 2. Dietas (% dos diversos levedos obtidos de cada espécie de Drosophila) das espécies de Drosophila na Cantareira.

	D. willistoni	D. paulistorum	"willistoni"	D. capricorni	D. fumipennis	D. bocainensis	D. bocainoides	"medio"	D. polymorpha	D. bandeirantorum	D. griseolineata	D. guaramunu	D. atrata	D. quadrum	Número de isolados
Endomyces								1.5							1 (0.25)
Endomycopsis						0.9					4.3				3 (0.76)
Saccharomyces acidifaciens															—
Saccharomyces rosei												2.5			1 (0.25)
Saccharomyces cerevisiae						0.9		7.6		10.9		12.8			12 (3.00)
S. cerevisiae var. ellipsoides				2.5				6.1							5 (1.26)
Saccharomyces carlsbergensis					100										1 (0.25)
Pichia fermentans	20.6	5.9	13.3			1.7		4.5			2.2	2.5			23 (5.8)
Pichia membranaefaciens	11.1		6.6			15.8	2.5		28.6	10.0	19.6	2.5		16.6	41 (10.4)
Hansenula anomala								1.5							1 (0.25)
H. anomala var. ciferri												2.5			1 (0.25)
Debaryomyces								1.5							1 (0.25)
Hanseniaspora valbyensis	1.6	5.9		25.0											3 (0.76)
Hanseniaspora uvarum	4.8		13.3			7.0	25.0			20.0	6.5	10.2		33.6	24 (6.09)
Anseniaspora n.sp.											2.2				1 (0.25)
Cryptococcus laurentii						2.6									3 (0.76)
Cryptococcus luteolus															—
Torulopsis famata	1.6					0.9									2 (0.5)
Torulopsis inconspicua	6.3										4.3				6 (1.5)
Torulopsis glabrata	3.2														2 (0.5)
T. glabrata var. nova						0.9									1 (0.25)
Torulopsis bacillaris						0.9									1 (0.25)
Torulopsis gropengiesseri						0.9									1 (0.25)
Candida krusei	14.3	23.5	13.3	50.0				24.2	28.6		4.3	5.1	50.0		40 (10.15)
Candida brumptii												5.1			2 (0.3)
Candida parapsilosis			6.6												1 (0.25)
C. p. var. intermedia						14.9		7.6				5.1			24 (6.09)
Candida guilliermondii								1.5				2.5			2 (0.5)
C. g. var. membranaefaciens								1.5							1 (0.25)
Candida intermedia													50.0		1 (0.25)
Candida rugosa								3.0							2 (0.5)
Candida seylanoides	1.6														1 (0.25)
Candida mycoderma	7.9	5.9	6.6			3.5		18.2		10.0	6.5	2.5		16.6	29 (7.36)
Candida lypolitica											2.2	2.5			2 (0.5)
Candida humicola						2.6									3 (0.76)
Candida brasiliae	1.6					12.3					2.2	5.1			18 (4.56)
Candida n.sp.								1.5						16.6	2 (0.5)
Saccharomyces n.sp.			6.6							10.0					2 (0.5)
Klosokera apiculata	22.2	58.8	33.3			32.4	50.0	16.7	42.8	40.0	43.5	38.5		16.6	122 (30.9)
Trichosporum n.sp.											2.2				1 (0.25)
Rhodoturula glutinis						0.9									1 (0.25)
R. g. var. rubescens								1.5							1 (0.25)
Rhodotorula aurantica						0.9									1 (0.25)
Rhodotorula rubra	1.6														1 (0.25)
Rhodotorula mucilaginosa	1.6							1.5							2 (0.5)
Número de isolados	63	17	15	4	1	114	4	66	7	20	46	39	2	6	394
Número de moscas	46	15	9	2	1	71	3	51	5	8	35	29	2	4	281

P. membranaefaciens em *D. bocainensis* (25.3% das moscas) é de 43.9% dos isolados e em *D. griseolineata* (12.4% das moscas) é 21.9%.

O gênero *Saccharomyces* é raro no grupo willistoni, tendo a maior parte das linhagens por nós encontradas sido obtidas em moscas do grupo "medio" e de *D. guaramunu*.

Os regimes alimentares das várias espécies de *Drosophila* são bem diferentes. Assim, *Pichia fermentans* constitui 20.6% dos levedos obtidos de *D. willistoni*, 1.7% dos de *D. bocainensis*, 4.5% dos de "medio", 2.2% dos de *D. griseolineata* e 2.5% de *D. guaramunu; Pichia membranaefaciens* representa 19.6% dos levedos de *D. griseolineata*, 15.8% dos de *D. bocainensis*, 11.1% dos de *D. willistoni*, não tendo sido encontrado em "medio"; *Candida krusei* constitui 24.2% dos levedos de "medio", 14.3% dos de *D. willistoni* e é raro nas outras espécies, estando mesmo ausente de *D. bocainensis*, espécie que proporcionou maior número de isolamentos; *Candida parapsilosis var. intermedia* compõe 14.9% dos levedos de *D. bocainensis*, 7.6% dos de "medio" e 5% dos de *D. guaramunu* e não foi encontrado em outras espécies; *Candida mycoderma* constitui 18.2% dos levedos de "medio" e menos de 8% dos que servem de alimento a outras espécies, existindo em quase tôdas; *Candida brasiliae* constitui 12.3% dos levedos de *D. bocainensis* e é rara ou inexistente nas outras espécies de *Drosophila; Kloeckera apiculata* é comum em tôdas as espécies de *Drosophila* constituindo 58.8% dos levedos de *D. paulistorum*, 43.5% dos de *D. griseolineata*, 38.5% dos de *D. guaramunu*, 32.4% dos de *D. bocainensis*, 22.2% dos de *D. willistoni* e 16.7% dos de "medio".

Vemos, assim, que a distribuição dos levedos entre as espécies de *Drosophila* é, realmente, muito irregular. Levedos comuns numa espécie de *Drosophila* podem ser raros ou inexistentes em outra. Alguns podem ser muito restritos em sua distribuição, enquanto outros distribuem-se por muitas espécies de *Drosophila*.

Também diferem muito os regimes alimentares das moscas. Certo levedo pode constituir uma grande parte do alimento de uma espécie de *Drosophila* e pode ser um elemento pouco importante no regime alimentar de outra.

As espécies de *Drosophila* são, portanto, diferenciadas quanto à sua alimentação. Ainda que aí se notem diferenças qualitativas, as diferenças quantitativas são as mais pronunciadas.

Um estudo exploratório dos levedos presentes em frutos selvagens foi também realizado. Um total de 46 linhagens de levedos foram isolados de 9 espécies diferentes de frutas. Como no caso dos isolamentos feitos de *Drosophila*, nos realizados de frutos só foram separadas, das várias colônias obtidas de cada fruto, as colônias diferentes.

As 46 linhagens de levedos assim isoladas foram classificadas em 10 espécies. *Candida brasiliae* e *Kloeckera apiculata* são as mais co-

TABELA 3

Distribuição de espécies de levedos em alguns frutos.

	Canna indica	Cogumelo	Arecastrum romansoffianum	Coccocypsilum sp.	Anona sp.	Achras sapota	Myrciaria jaboticaba	Ficus sp.	Rubus sp	Total de isolados de cada levedo
Saccharomyces acidifaciens							1			1
Pichia fermentans					2					2
Cryptococcus luteolus						1				1
Candida krusei					1					1
Candida parapsilosis var. intermédia	1	1		1				4		7
Candida guilliermondii				1						1
Candida brasiliae			1	8	1					10
Candida n. sp.		1	1	1						4
Kloeckera apiculata	6	1	1		3		2	2	1	16
Rhodotorula mucilaginosa				2					1	3
Total de isolados de cada fonte	7	3	3	13	7	1	3	6	3	46

muns. *C. brasiliae* foi encontrada principalmente em *Coccocypsilum sp.*, enquanto *Kloeckera apiculata* foi encontrada em 7 das 9 frutas (ver tabela 3).

A maioria das espécies obtidas de frutas foram também encontradas em *Drosophila*. *Saccharomyces acidifaciens* e *Cryptococcus luteolus* são as únicas, dentre as 10 espécies obtidas dos frutos, que não foram encontradas em *Drosophila;* ambas foram isoladas uma única vez.

Experiências sôbre atração de Drosophila por levedos.

Os levedos extraídos de drosófilas da Cantareira foram usados em experiências de atração. Além da finalidade de verificar se a atração das espécies de *Drosophila* pelos levedos é diferencial ou não, as experiências tiveram um sentido exploratório. Com vista em experiências futuras sôbre as diferenças nutricionais dos levedos com relação às espécies de *Drosophila,* o maior número possível de levedos foi experimentado. Isso constituiu uma tentativa de descobrir quais, dentre as 43 espécies e variedades de levedos isolados, são os mais interessantes sob o ponto de vista ecológico e fisiológico.

As experiências foram feitas pelo método descrito por DOBZHANSKY e DA CUNHA (1955), com algumas modificações.

A mesma quantidade de banana (cêrca de 15 dúzias), aproximadamente, foi colocada em latas de 20 litros, esterilizada e então inoculada, usando-se levedos diferentes em cada lata. Para a inoculação usaram-se levedos de culturas feitas em meio com 50 gramas de dextrose + 6,7 gramas de "Yeast nitrogen base" (Difco) por litro. Usou-se, para cada lata de banana, a quantidade de levedo obtida quando a cultura alcançou o desenvolvimento máximo em 250cc de meio. Durante todo o seu crescimento as culturas estavam sujeitas à agitação contínua, a fim de se obter o indispensável arejamento.

Vinte e quatro horas após a inoculação a banana foi distribuída na mata da Cantareira, sendo a coleta feita depois de decorridas 24 horas. Tanto a distribuição de banana, como as coletas de moscas foram feitas sempre pela manhã. A banana fermentada era colocada em pratos de papelão ou em bandejas metálicas cobertas com papel, onde se punha uma quantidade aproximadamente igual de banana fermentada. Bananas fermentadas por levedos diferentes foram colocadas em iscas alternadas, em séries de 2 ou de 3, dependendo do número de levedos (2 ou 3) utilizados na experiência.

Nas repetições das experiências, as iscas foram dispostas em ordem diferente, de modo que, quando 2 levedos A e B foram usados, na 2a. experiência A ocupou os lugares de B e vice-versa.

As iscas foram colocadas a pequenos intervalos (3 a 4 ms.) uma das outras. Essa distância pequena foi escolhida a fim de se obter pro-

nunciada competição entre as diversas iscas e de se reduzirem ao mínimo as diferenças locais entre elas. O total das iscas em cada experiência foi sempre de 30: 10 ou 15 de cada tipo, quando três ou dois levedos, respectivamente, foram empregados. O local das experiências mudou a partir de novembro de 1954. Essa mudança de local foi determinada pela abundância de formigas no primeiro. Trinta minutos após a distribuição as formigas começavam a chegar e, em pouco tempo algumas iscas ficavam completamente cobertas por elas. O movimento ativo das formigas, e, talvez, também o seu cheiro, repeliam as drosófilas de modo que o número de moscas capturadas nessas iscas era mínimo.

O tratamento estatístico dos resultados obtidos foi o mesmo utilizado por DOBZHANSKY e DA CUNHA (1955). Tomou-se como unidade de observação cada série constituída por iscas consecutivas com levedos diferentes. Assim, numa experiência com três levedos diferentes, A, B, e C, cada série ABC foi considerada como uma unidade. O número de indivíduos de cada espécie de *Drosophila* coletados em cada isca foi expresso em porcentagem do total da espécie obtido na série a que a isca pertencia. A média das porcentagens obtidas para a mesma espécie de *Drosophila,* no mesmo tipo de isca, nas várias séries, foi calculada. A porcentagem média foi tomada como medida do grau de atração do levedo com relação à espécie de *Drosophila* em consideração. As porcentagens calculadas, bem como seus erros padrões e outros dados das experiências, encontra-se nas tabelas 4 e 5.

Nem tôdas as experiências foram repetidas, em vista da necessidade de se determinarem as características de atração do maior número possível de levedos e do seu comportamento em várias combinações. Não foram repetidas as experiências em que o número de moscas coletadas foi muito grande, permitindo conclusões seguras, nem certas experiências em que não houve diferenças entre a atratividade das diversas iscas.

A colocação das iscas com apenas 3-4 metros de intervalo uma das outras, anula ou reduz muito as diferenças locais, e assim diminui a necessidade de repetição da experiência, pois os resultados das várias séries de iscas diferentes constituiram, por si, verdadeiras repetições.

Nas tabelas 4 e 5 podem ser reconhecidas as experiências com e as sem repetição, pelas suas datas. Em tôdas as repetições o resultado foi o mesmo da experiência original. Sòmente num caso a repetição deu resultado diverso e posterior verificação mostrou que êsse fato foi devido a uma das culturas de levedo estar contaminada por uma outra espécie. Essa experiência foi eliminada por causa da impureza do levedo utilizado.

Os dados climáticos para os dias em que as experiências foram feitas acham-se na tabela 13 e os resultados das experiências acham-se nas tabelas 4 e 5. Nessas tabelas as espécies *D. willistoni* e *D. paulistorum* foram reunidas sob a denominação "willistoni" por não ter sido possível

TABELA 4. Resultados obtidos nas experiências de atração de drosófilas por vários levedos

Espécie de Drosophila	Moscas contadas	Nº de séries	Data	Pichia fermentans	Pichia membranae-faciens	Pichia chodati	Hansenula anomala	Candida mycoderma	Candida guilliermondii	Candida parapsilosis var. intermedia	Candida brasiliae	Candida brumptii	Saccharomyces cerevisiae	Saccharomyces sp. n.	Saccharomyces carlsbeggensis	Kloeckera apiculata	Torulopsis inconspicua
"medio"	1285	20	15-18/3/55	39.9 ± 2.8	28.6 ± 2.3	31.5 ± 2.1											
"willistoni"	4171	20	" "	82.4 ± 4.2	9.1 ± 2.5	8.4 ± 2.2											
griseolineata	237	10	" "	30.3 ± 7.4	26.5 ± 4.5	43.2 ± 5.4											
guaramunu	497	20	" "	33.1 ± 4.3	29.5 ± 3.7	37.4 ± 3.8											
polymorpha	193	10	" "	87.0 ± 4.5	9.3 ± 4.4	3.7 ± 2.6											
"medio"	743	10	1/4/55	28.1 ± 1.7					39.5 ± 3.1					32.4 ± 3.5			
"willistoni"	6337	10	"	61.0 ± 3.5					15.3 ± 2.1					23.7 ± 2.8			
guaramunu	945	10	"	28.1 ± 4.5					32.5 ± 7.1					39.4 ± 5.8			
polymorpha	179	10	"	84.4 ± 4.3					3.3 ± 3.2					12.3 ± 3.7			
bocainensis	210	10	"	22.8 ± 5.7					30.1 ± 6.2					47.1 ± 5.7			
"medio"	1243	10	14/4/55			30.2 ± 3.7	51.6 ± 3.9	18.2 ± 2.6									
"willistoni"	1937	10	"			34.1 ± 5.9	64.5 ± 6.1	1.4 ± 0.8									
polymorpha	303	10	"			55.8 ± 6.2	44.2 ± 6.2	0									
"medio"	1312	15	15/6/54	54.9 ± 3.0												45.1 ± 3.0	
"willistoni"	417	15	"	50.9 ± 7.9												49.1 ± 7.9	
capricorni	546	15	"	49.1 ± 4.4												50.9 ± 4.4	
"medio"	1617	14	25/6/54		57.5 ± 3.0					42.5 ± 3.0							
capricorni	366	14	"		58.7 ± 6.4					41.3 ± 6.4							
"medio"	1055	15	18/5/54		56.9 ± 4.4												43.1 ± 4.4
capricorni	410	15	"		31.7 ± 6.9												68.3 ± 6.9
"willistoni"	115	15	"		89.0												10.4
"medio"	2495	30	7 e 16/12/54	48.6 ± 3.2										51.4 ± 3.2			
"willistoni"	342	15	" "	61.6 ± 4.9										38.4 ± 4.9			
guaramunu	1215	30	" "	37.1 ± 3.2										62.9 ± 3.2			
bandierantorum	427	15	" "	40.9 ± 5.6										59.1 ± 5.6			
"medio"	1117	15	23/9/54	62.3 ± 3.7											37.7 ± 3.7		
"medio"	3153	18	3 e 10/5/55				34.0 ± 1.9						38.7 ± 2.2		27.3 ± 1.6		
"willistoni"	1027	18	" "				61.7 ± 3.2						15.7 ± 2.7		22.6 ± 3.2		
capricorni	704	18	" "				60.8 ± 3.9						16.6 ± 3.4		22.6 ± 3.3		
bandeirantorum	304	18	" "				75.7 ± 4.2						13.1 ± 4.4		11.2 ± 3.0		
"medio"	2242	20	19 e 26/4/55				35.6 ± 3.1				39.7 ± 2.8	24.7 ± 2.4					
"willistoni"	2345	20	" "				66.9 ± 5.6				23.0 ± 3.8	10.1 ± 2.7					
capricorni	390	19	" "				67.4 ± 6.5				23.8 ± 5.2	8.8 ± 2.4					
griseolineata	761	19	" "				38.2 ± 6.3				23.8 ± 5.2	37.4 ± 5.5					
bandeirantorum	111	19	" "				86.5 ± 2.3				9.0 ± 5.2	4.5 ± 1.0					

TABELA 5. Resultados obtidos nas experiências de atração de drosófilas por vários levedos.

Espécie de Drosophila	Moscas contadas	Nº de série	Data	Saccharomyces sp.n.	Saccharomyces carlsbergensis	Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoides	Saccharomyces rosei	Kloeckera apiculata	Hanseniaspora uvarum	Hanseniaspora valbyensis	Candida krusei A	Candida krusei B	Candida krusei C	Candida brasiliae	Candida guilliermondii	Candida humicola	Candida intermedia	Candida parapsilosis var. intermedia	Canc krusei
"medio"	1965	20	3,10/3/55											30.0 ± 1.9				39.2 ± 2.5	30.8 ± 2.0
"willistoni"	2577	20	" " "											35.9 ± 3.7				35.7 ± 3.7	28.4 ± 3.2
guaramunu	1083	20	" " "											26.1 ± 3.0				37.6 ± 3.9	36.3 ± 4.2
"medio"	2836	20	18,24/2/55	27.8 ± 2.4	28.3 ± 2.2	43,8 ± 2.8													
"willistoni"	1350	20	" " "	52.6 ± 3.7	24.5 ± 5.4	22.9 ± 4.3													
guaramunu	623	20	" " "	30.8 ± 2.8	34.6 ± 5.6	32.7 ± 3.3													
bandeirantorum	112	20	" " "	68.7	15.2	16.5													
polymorpha	71	20	" " "	59.1	21.1	19.7													
"medio"	3032	10	23/3/55												40.9 ± 3.8	17.2 ± 2.7	41.9 ± 3.1		
"willistoni"	3313	10	" " "												45.5 ± 3.3	8.3 ± 1.2	46.2 ± 3.9		
guaramunu	1746	10	" " "												45.1 ± 8.7	20.4 ± 5.8	34.5 ± 4.5		
griseolineata	827	10	" " "												36.7 ± 8.4	22.4 ± 3.2	40.9 ± 6.3		
bocainensis	109	10	" " "												41.3	16.5	42.2		
"medio"	1875	15	16,24/11/54															44.7 ± 3.1	55.3 ± 3.1
"willistoni"	259	14	" " "															18.5 ± 4.3	81.5 ± 4.3
guaramunu	703	14	" " "															45.0 ± 5.5	55.0 ± 5.5
bandeirantorum	484	14	" " "															21.7 ± 4.3	78.3 ± 4.3
"medio"	835	10	29/3/55					31.2 ± 2.4	27.9 ± 1.9	40.9 ± 1.3									
"willistoni"	7131	10	" " "					30.0 ± 2.8	38.0 ± 4.1	32.0 ± 3.7									
guaramunu	1740	10	" " "					30.6 ± 5.2	34.8 ± 5.1	34.6 ± 4.9									
bocainensis	387	10	" " "					41.3 ± 7.6	33.3 ± 6.7	25.3 ± 4.7									
polymorpha	512	10	" " "					29.7 ± 7.5	32.3 ± 7.6	31.8 ± 4.2									
"medio"	2060	16	8,26/10/54	45.0 ± 3.7						55.0 ± 3.7									
"medio"	1464	30	30/12/54-12/1/55	60.3 ± 2.2			39.7 ± 2.												
"willistoni"	1059	30	" "	80.3 ± 2.6			19.7 ± 2.												
guaramunu	956	30	" "	57.3 ± 2.7			42.7 ± 2.												
"medio"	873	15	5/11/54					65.4 ± 5.2											34.6 ± 5.2
"willistoni"	1743	24	7,14/1/53					60.6 ± 3.7			14.0 ± 2.5	10.7 ± 2.2	14.6 ± 2.5						
griseolineata	2065	23	" "					28.2 ± 2.8			21.8 ± 2.6	25.6 ± 2.8	24.4 ± 2.3						
capricorni	702	23	" "					48.5 ± 3.6			20.2 ± 2.7	15.8 ± 2.6	15.5 ± 2.8						
guaramunu	489	16	" "					29.0 ± 4.8			17.6 ± 3.3	23.6 ± 4.0	29.8 ± 4.9						
polymorpha	437	20	" "					28.5 ± 3.1			22.2 ± 2.4	26.3 ± 2.8	22.9 ± 2.5						
quadrum	275	11	" "					28.6 ± 4.9			19.1 ± 4.6	19.0 ± 4.6	33.3 ± 4.9						

distingui-las, o mesmo acontecendo com as espécies *D. mediostriata, D. mediosignata, D. mediopunctata, D. mediopicta* e *D. nigricincta* que são tôdas grupadas sob designação de "medio". Na tabela estão indicadas sòmente as espécies de *Drosophila* obtidas em número suficientemente grande para permitir análise. A atratividade de 20 espécies de levedos foi submetida à experimentação, sendo que de uma espécie (*Saccharomyces cerevisiae*) foram experimentadas duas variedades.

Na experiência em que as iscas foram fermentadas por *Pichia fermentans, P. membranaefaciens* e *P. chodati,* a quantidade de moscas "medio" atraída pela primeira espécie é significantemente maior do que a atraída pela segunda e insignificantemente maior do que a atraída pela terceira. Diferenças muito maiores do que as obtidas com as moscas do grupo "medio" foram verificadas com "willistoni" e com *D. polymorpha.* A média de "willistoni" atraída por *P. fermentans* foi de 82.4% do total da espécie e a de *D. polymorpha* 87%. Essas moscas têm, por conseguinte, uma grande preferência por *P. fermentans. D. griseolineata* e *D. guaramunu* foram mais abundantes em *P. chodati,* mas as diferenças com relação às 3 espécies de levedos não são significantes.

A mesma preferência nítida de "willistoni" e de *D. polymorpha* por *Pichia fermentans* é mostrada na experiência feita com *P. fermentans, Candida guilliermondii* e *Saccharomyces n. sp.*

"Medio". por outro lado, tem preferência por *C. guilliermondii* sendo a quantidade atraída por *C. guilliermondii* significantemente maior do que a atraída por *P. fermentans. D. bocainensis* é significantemente mais abundante em *Saccharomyces n. sp.* do que em *P. fermentans,* ocupando *C. guilliermondii* uma posição intermediária quanto à atratividade.

A mesma relação se encontra para *D. guaramunu,* mas as diferenças para essa espécie não são significantes. Assim, usando-se iscas com *Pichia fermentans, Candida guilliermondii* e *Saccharomyces n. sp., D. polymorpha* e "willistoni" preferem as com a primeira espécie de levedo, "medio" as com a segunda e *D. bocainensis* e *D. guaramunu* as com a terceira.

Na experiência em que *Pichia chodati, Hansenula anomala* e *Candida mycoderma* foram utilizadas, as diferenças de atratividade foram nítidas. Tanto "medio" como "willistoni" preferem *Hansenula anomala,* sendo mais pronunciada a preferência em "willistoni" do que em "medio". *D. polymorpha* é igualmente atraída por *H. anomala* e por *P. chodati.* Interessante é o que se verifica com *Candida mycoderma*: esta espécie de levedo atraiu 18.2% de "medio", 1.4% de "willistoni", apenas, e nenhuma *D. polymorpha.* Tanto "medio" como "willistoni", nessa experiência, revelaram preferirem *H. anomala* a *P. chodati* e êste a *C. mycoderma;*

enquanto isso, *D. polymorpha* foi mais freqüente, em *P. chodati* que nos demais levedos, ainda que as diferenças sejam insignificantes.

Kloeckera apiculata e *Pichia fermentans* apresentam a mesma capacidade de atração de "medio", "willistoni" e *D. capricorni.*

A experiência feita com iscas de *Pichia membranaefaciens* e de *Candida parapsilosis var. intermedia* deu resultados semelhantes para "medio" e para *D. capricorni.* Ambas as espécies de *Drosophila* são mais abundantes em iscas com *Pichia membranaefaciens,* mas as diferenças de atração, significantes para "medio", são insignificantes para *D. capricorni.*

Torulopsis inconspicua e *Pichia membranaefaciens* exercem igual atração para "medio"; *D. capricorni* é, porém, duas vêzes mais abundante nas iscas com o primeiro levedo e "willistoni", ao contrário, prefere o segundo.

Dos mais interessantes foi o resultado obtido na experiência em que as moscas tiveram como escôlha *Pichia fermentans,* e *Saccharomyces n. sp.*: "medio" foi igualmente atraída pelos dois levedo, "willistoni" mostrou grande preferência por *P. fermentans* e *D. guaramunu* preferiu, de maneira nítida, *Saccharomyces n. sp.; D. bandeirantorum* também foi mais atraída por *Saccharomyces n. sp.,* mas a diferença de atração exercida pelos dois levedos está no limite da significância.

A experiência com *Pichia fermentans* e *Saccharomyces carlsbergensis* foi realizada em dia frio e só as moscas "medio" foram coletadas em quantidade suficiente para análise. Êsse grupo revela uma preferência muito acentuada por *Pichia fermentans,* quando o outro levedo usado é *S. carlsbergensis.*

Hansenula anomala, S. carlsbergensis e *S. cerevisiae* também foram empregados em competição. As moscas "medio" foram significantemente mais atraídas por *S. cerevisiae* do que por *S. carlsbergensis. D. capricorni, D. bandeirantorum* e "willistoni" apresentaram, com relação a êsses 3 levedos, um comportamento bem diferente do de "medio", tendo fortes preferências por *Hansenula anomala.*

Uma combinação diferente, com *Hansenula anomala, Candida brasiliae* e *Candida brumpti,* foi utilizada. E, novamente, *D. capricorni,* "willistoni" e *D. bandeirantorum* foram significantemente mais atraídas por *H. anomala; H. anomala* e *C. brasiliae* mostraram uma atração significantemente maior para "medio" do que *C. brumpti.*

Três espécies do gênero *Candida* foram usadas juntamente, a saber: *C. brasiliae, C. parapsilosis var. intermedia* e *C. krusei.* "Medio" foi significantemente mais atraída por *C. parapsilosis var. intermedia* do que por *C. brasiliae,* enquanto que as outras espécies de *Drosophila* não apresentaram diferenças nas suas respostas aos 3 levedos.

Quando se usou a combinação *C. guilliermondii, C. humicola* e *C. intermedia,* o grupo "medio" foi significantemente mais atraído pela pri-

meira e pela última, o mesmo acontecendo com "willistoni" e com *D. bocainensis*. *D. guaramunu* não apresentou diferenças significantes na sua ocorrência nas 3 espécies de levedo, enquanto que *D. griseolineata* foi significantemente mais atraída por *C. intermedia* do que por *C. humicola*.

Na experiência em que se usou *Candida parapsilosis var. intermédia* com *C. krusei* a coleta de "willistoni" e de *D. bandeirantorum* foi significantemente maior em *C. krusei*. *D. guaramunu* e "medio" também foram mais atraídas por êsse levedo, mas as diferenças com relação ao outro não foram significantes.

Quando *Kloeckera apiculata, Hanseniaspora uvarum* e *Hanseniaspora valbyensis* foram usados, a única diferença significante obtida foi a relativa à maior atração de "medio" pela última espécie de levedo. *D. guaramunu*, "willistoni", *D. bocainensis* e *D. polymorpha* foram igualmente atraídas pelos 3 levedos.

As experiências com *Saccharomyces n. sp.* e *Hanseniaspora valbyensis* foram feitas em dias frios e sòmente "medio" foi obtido em grande quantidade. Não houve diferença significante na atração de "medio" pelas duas espécies de levedo.

Saccharomyces n. sp. e *S. rosei* foram usadas em duas experiências. A capacidade de atração de *Saccharomyces n.* sp. foi significantemente maior para "medio", "willistoni" e *D. guaramunu*. Todavia houve diferença de atração exercida por êste levedo com relação às drosófilas; êle atraiu 57.3% de *D. guaramunu*, 60.3% de "medio" e 80.3% de "willistoni".

Diferença significante na atração de "medio" também foi obtida na experiência com *Candida krusei* e *Kloeckera apiculata*. Esta última espécie atraiu 65.4% das moscas do grupo "medio".

Na tabela 5 estão também incluídos os dados de uma experiência feita em janeiro de 1953, já publicados por DOBZHANSKY e DA CUNHA (1955). Nessa experiência *Kloeckera apiculata* e três linhagens diferentes de *Candida krusei* foram utilizadas. *D. capricorni* e "willistoni" apresentam nítida preferência por *Kloeckera apiculata* enquanto que *D. griseolineata, D. guaramunu, D. polymorpha* e *D. quadrum* foram igualmente atraídas pelos dois levedos.

Essas experiências nos mostram, claramente, que as drosófilas diferem nas suas reações aos odores diversos dos produtos de levedos diferentes. As drosófilas mostram clara diferenciação nas suas preferências nutricionais estudadas por meio da atração exercida pelos levedos. As experiências realizadas revelaram diferenças de comportamento entre as espécies de *Drosophila* e relacionadas com as espécies de levedos.

Assim, por exemplo, na experiência com *Pichia fermentans* e *Saccharomyces n. sp.*, "medio" e *D. bandeirantorum* foram igualmente atraídas pelos dois levedos, enquanto que 61.6% de "willistoni" foram atraídos

por *Pichia fermentans* e 62.9% de *D. guaramunu* foram atraídos por *Saccharomyces n. sp.*

Nesses exemplos é possível distinguir alguns levedos que podem ser considerados como especialmente atraentes para certas espécies. Temos, por exemplo, *Pichia fermentans,* que em tôdas as experiências revelou a enorme preferência que lhe dispensa "willistoni". O mesmo aconteceu com *Hansenula anomala*. E' interessante assinalar aqui que a maioria dos isolamentos de *P. fermentans* (70%) foram feitos a partir de "willistoni".

Convém observar que existe uma certa correlação entre o comportamento das várias espécies de *Drosophila* medido pelas suas preferências. "Willistoni", *D. capricorni, D. polymorpha* e *D. bandeirantorum,* de um lado, e "medio", *D. guaramunu* e *D. griseolineata,* de outro, apresentam comportamento semelhante em muitas experiências. Todavia, essas espécies, de comportamento semelhante, divergem muito, algumas vêzes, em suas preferências. Assim, "willistoni" e *D. capricorni,* muitas vêzes de comportamento semelhante, mostraram na experiência com *Pichia membranaefaciens* e *Torulopsis inconspicua* que enquanto 89.6% de "willistoni" vão para o primeiro levedo, 68.3% de *D. capricorni* vão para o segundo. Espécies de drosófila que apresentam comportamento semelhante com relação a vários levedos podem divergir grandemente no seu comportamento com respeito a outros.

A especialização nutricional apresenta, para as drosófilas, a vantagem de uma eficiência muito maior na nutrição, por diminuir a competição com outras espécies. Uma excessiva especialização é, todavia, desvantajosa, pois a falta do alimento específico ocasionará a morte da população.

A falta de especialização traz a desvantagem do aumento de competição, e, conseqüentemente, da menor eficiência, mas garante encôntro do alimento.

As várias espécies de drosófila apresentam, em suas características nutricionais, como acabamos de ver, um compromisso entre as duas tendências acima indicadas: elas podem se alimentar de grande número de espécies de levedos, mas têm preferências variáveis de espécie para espécie.

Populações artificiais de D. willistoni

As populações artificiais de *D. willistoni* usadas no estudo da influência dos levedos sôbre a composição cromosômica das populações foram mantidas usando-se a mesma técnica e o mesmo tipo de caixas empregadas por DA CUNHA (1951). Tôdas as caixas foram mantidas na mesma câmara de temperatura constante regulada a 25°C.

O meio de cultura escolhido para as experiências foi o elaborado por MITTLER (1952). A composição dêsse meio é a seguinte:

Ingrediente	*Quantidade*
Agar	15 grs.
$C_6H_{12}O_6$ (dextrose)	30 "
KH_2PO_4	1 "
$NaKC_4H_4O_6$	8 "
$(NH_4)_2\ SO_4$	2 "
$Ca\ Cl_2$	0.5 grs.
Na Cl	0.5 "
$Mn\ SO_4$	0.5 "
$Mg\ SO_4$	0.5 "
$Fe\ SO_4$	0.5 "
H_2O	1 litro

Êsse meio de cultura foi escolhido por ser desprovido de proteinas e de vitaminas. Pode-se, assim, ter certeza de que todos os ácidos aminados e vitaminas utilizados pelas drosófilas são produzidos pelos levedos presentes. O meio de MITTLER apresenta ainda a vantagem de poder ser autoclavado sem perder a capacidade de se solidificar, o que não acontece com outros meios semelhantes, como o de KALMUS (1943).

Os levedos utilizados nas caixas foram: *Torulopsis inconspicua* (caixa 5), *Candida krusei* (caixa 59), *Rhodotorula mucilaginosa* (caixa 62), *Kloeckera apiculata* (caixa 72), *Pichia fermentans* (caixa 80) e *Pichia membranaefaciens* (caixa 257). De acôrdo com os dados expostos anteriormente, *T. inconspicua* constitui apenas 6.3% dos levedos encontrados em *D. willistoni*, mas é característico dessa espécie na qual *C. krusei* constitui 14.3%, *R. mucilaginosa*, 1.6%, *K. apiculata*, 22.2%, *P. fermentans*, 20.6%, sendo outro levedo característico de *D. willistoni* e, *P. membranaefaciens*, 11.1%. O conjunto dêsses representa, portanto, 76.1% dos levedos isolados de *D. willistoni*.

K. apiculata e *C. krusei* apresentam um crescimento muito deficiente no meio de cultura utilizado.

Tôdas as caixas de população foram irrigadas em dias alternados, com uma suspensão de levedo muito concentrada.

Os levedos para irrigação das culturas foram obtidos por crescimento em meio de cultura de Dextrose (50 grs. por litro) + Yeast nitrogen base Difco (6.7 grs. por litro). Uma vez atingido o crescimento máximo, os levedos foram centrifugados, lavados, centrifugados novamente e suspensos em água destilada. A quantidade de levedo usada em cada irrigação foi aproximadamente a mesma em tôdas as caixas de população.

Os vidros com meio de cultura eram inoculados com levedo, cêrca de 4-6 dias antes de serem colocados nas caixas. Para as inoculações serviram levedos suspensos em água destilada. A fim de aumentar a superfície do meio possibilitando maior crescimento dos levedos, depois de se colocar a suspensão dos mesmos no meio de cultura, êste era todo retalhado com uma espátula esterilizada.

As moscas utilizadas nas experiências provieram de Barreiras (Estado da Bahia). Foram coletadas em janeiro de 1953. Uma amostra derivada de 83 fêmeas foi estudada no laboratório. A descendência de 30 dessas fêmeas foi conservada, mantendo-se a linhagem em vidros de cultura de 1/4 de litro, com meio de banana-agar. Normalmente a linhagem era mantida em 12 vidros repicados cada 20 dias. A linhagem foi, assim, mantida constantemente com um número muito grande de indivíduos.

O número de culturas em vidros de 1/4 de litro foi muito aumentado para dar início às populações artificiais. Preparou-se um número suficientemente grande de culturas para produzir cêrca de 30.000 moscas adultas, e, uma vez obtidas, tôdas as culturas foram completamente misturadas, a fim de uniformizar a amostra. Seis lotes de aproximadamente 5.000 moscas foram então separados. Cada lote foi mantido durante uma semana em meio de cultura de banana-agar inoculado com o levedo que as moscas iriam receber nas caixas de população. Gôtas de suspensão do levedo foram adicionadas ao meio, diàriamente. Prepararam-se, então, 6 caixas de população, cada um com um tipo de levedo, e com cêrca de 5.000 moscas. Os vidros com meio de cultura, inicialmente colocados nessas caixas, foram renovados cada 24 horas, durante os primeiros dois dias, e dêles foram retiradas as amostras a serem utilizadas na determinação da composição inicial das populações.

A amostra inicial das populações foi constituída de um número de larvas de cada caixa, obtidas dos vidros de cultura retirados pela primeira vez.

As caixas de população foram periòdicamente vaporizadas externamente com uma solução de:

ácido propiônico	10%
benzoato de benzila	10%
álcool	80%

Todos os vidros com meio de cultura, antes de colocados nas caixas, foram pincelados com a mesma solução. Êsse tratamento visa proteger as caixas contra a infecção por acaros. Algumas vêzes os vidros com meio, já nas caixas, desenvolveram fungo e foram eliminados. Infecções com fungos foram raras e fàcilmente controladas.

Os vidros com meio de cultura foram observados atentamente para se estabelecer o tempo necessário à eclosão do número máximo de moscas. Êsse tempo variou entre 15 e 20 dias, período que pode ser assim tomado como de duração de uma geração.

Constituição inicial das populações

A composição inicial das populações é apresentada na tabela 6. A comparação da composição inicial das caixas com a amostra original de Barreiras (DA CUNHA and DOBZHANSKY, 1954) revela diferenças muito significantes. Inversões originalmente presentes na amostra de Barreiras estão ausentes na amostra do início das caixas. Outras inversões, presentes nas duas amostras apresentam-se nelas com freqüências muito diferentes. Como já foi mencionado, o "stock" de Barreiras, mantido no laboratório, foi obtido pela mistura da descendência de 30 das 83 fêmeas coletadas naquela localidade. A composição genética da amostra de Barreiras foi estabelecida pela análise de uma única larva filha de cada uma das fêmeas capturadas na natureza, fecundada por um macho também da mesma população. A análise de uma larva F_1 permite assim que se conheça um cromosoma paterno e um materno, de cada tipo, ficando os outros dois, um materno e outro paterno do mesmo tipo, ignorados.

Na análise cromosômica desta amostra, como nas de tôdas as outras do presente trabalho, só se fêz distinção dos indivíduos heterozigotos para os vários arranjos gênicos. Não foi possível distinguir os homozigotos por serem muito semelhantes.

As 30 linhagens usadas no "stock" de Barreiras representam, assim, uma amostra de 60 autosomas das fêmeas mães das linhagens, e 60 autosomas dos machos pais.

O "stock" mantido no laboratório teve, pois, como origem, uma amostra de 120 cromosomas de cada tipo, de Barreiras. A amostra de Barreiras, analisada cromosômicamente, era constituída de 166 autosomas de cada tipo. Dessa forma, a amostra que deu origem ao "stock" de Barreiras, usado nas experiências, era da mesma ordem de grandeza, quanto ao tamanho, que a amostra analisada cromosômicamente. E', pois, pouco provável que as diferenças grandes na freqüência dos tipos cromosômicos entre a amostra de Barreiras e o "stock" usado nas experiências de caixas de população tenham surgido devido ao tamanho das amostras, principalmente no que diz respeito à presença e à ausência de inversões.

Vejamos o que aconteceu, por exemplo, com o heterozigoto *Ee* do braço direito do segundo cromosoma. Êsse heterozigoto é extremamente característico e não passará desapercebido nem a um principiante. Na amostra de Barreiras, analisada cromosômicamente, êsse heterozigoto constituiu 38.5% da amostra, isto é, 32 indivíduos em 83. Na composição

TABELA 6

Composições cromosômicas da população de *D. willistoni* de Barreiras e da amostra de Barreiras depois de 14 meses de cultura no laboratório.

Arranjos gênicos	Barreiras Janeiro 1953	Início caixas Março 1954
III homoz.	3.6	9.5
Aa	39.8	44.9
Aa+Bb	4.8	0.7
Cc	2.4	
Dd	32.5	40.4
Ff	38.5	48.4
Hh	39.0	57.6
Jj	8.4	
Kk	2.4	14.8
Ll	62.6	54.9
Mm	34.9	28.2
IIL homoz.	18.0	33.5
AaBb	20.5	27.0
Aa	37.3	14.4
ou		
Bb		2.2
Dd	20.5	2.2
Dd+Ee	2.4	
Ff	30.1	42.3
Hh	3.6	
IIR homoz.	60.2	99.7
Bb	1.4	
Ee	38.5	0.3
Número de autosomas analisados	166	524
XL homoz.	9.1	28.8
AaBb	6.8	
Dd	65.9	26.1
Ff	47.7	57.6
Gg	38.6	12.6
Hh	25.0	
XR homoz.	40.9	20.7
Aa	18.2	
Bb	4.5	
Cc	38.0	49.5
Dd	15.9	31.5
Número de cromosomas X analisados	88	222

inicial das caixas o mesmo heterozigoto constituia 0.3% da amostra, ou seja 1 indivíduo em 262. Posteriormente foram analisados 2802 indivíduos das caixas e os heterozigotos *Ee* não foram encontrados nem uma única vez. Situação semelhante encontra-se com o heterozigoto *Dd* do braço esquerdo do segundo cromosoma e com outras inversões mais raras e menos características.

Provàvelmente essas inversões eram heteróticas no ambiente natural de Barreiras e não no ambiente de cultura no laboratório. Não sendo essas inversões heteróticas no laboratório, houve eliminação de um dos arranjos gênicos, tornando-se a população homozigota para um dos cromosomas.

A diferenciação do "stock" de Barreiras mantido no laboratório foi, provàvelmente, devida à seleção. Durante o período de aproximadamente 420 dias em que êle foi mantido, houve seleção da composição cromosômica melhor adaptada ao ambiente do laboratório, produzindo-se, então, as diferenças observadas.

População 5

A população 5 foi iniciada no dia 19 de março de 1954, servindo de alimento o levedo *Torulopsis inconspicua*. A população sempre se manteve muito grande e foram retiradas amostras após 92 (4-6 gerações) e 263 dias (13-17 gerações) ver tabela 7.

Durante o período de 263 dias de duração da experiência, observaram-se mudanças significantes na freqüência de vários heterozigotos. Assim, foram observadas mudanças significantes nas freqüências das seguintes combinações cromosômicas:

III Aa de 44.9% para 15.8%
III Ff de 48.4% para 29.2%
III Mm de 28.2% para 60.4%
II L Homozigotos de 33.5% para 50.3%
II L Ff de 42.3% para 28.4%
XL Dd de 26.1% para 63.9%
XR Dd de 31.5% para 68.0%

como se pode ver na tabela 11.

Na freqüência das outras combinações cromosômicas também houve mudanças, mas insignificantes. A amostra intermediária tirada aos 92 dias indica que, na maioria dos casos, as alterações foram mais freqüentes nos 92 dias iniciais do que nos 171 subseqüentes.

TABELA 7

Composições cromosômicas da população 5

Arranjos gênicos	Início	92 dias	263 dias
III homoz.	9.5	6.5	13.7
Aa	44.9	26.3	15.8
Bb	0.7		
Dd	40.4	54.8	49.7
Ff	48.4	26.7	29.2
Hh	57.6	55.7	61.5
Kk	14.8	5.2	8.7
Ll	54.9	56.5	57.6
Mm	28.2	58.3	60.4
IIL homoz.	33.5	57.4	50.3
AaBb	27.0	16.2	4.9
Aa	14.4	7.8	21.6
ou			
Bb	2.2	7.4	2.2
Dd	2.2	0.8	
Ff	42.3	15.3	28.4
IIR homoz.	99.7	100.0	100.0
Ee	0.3		
Número de autosomas analisados	524	456	732
XL homoz.	28.8	23.6	11.5
Dd	26.1	40.3	63.9
Ff	57.6	68.4	77.8
Gg	12.6	23.6	11.5
XR homoz.	20.7	24.5	13.9
Cc	49.5	26.3	33.6
Dd	31.5	70.1	68.0
Número de cromosomas X analisados	222	228	244

População 59

A população 59 foi iniciada no dia 13 de abril de 1954. O levedo utilizado como alimento dessa população foi *Candida krusei,* que cresce mal no meio de cultura empregado nas caixas. A população manteve-se grande por algum tempo, mas decresceu em número de indivíduos ràpidamente, sendo mantida, a partir de então, com grande dificuldade, e, finalmente, eliminada. Por essa razão, apenas uma amostra da caixa, aos 38 dias, quando a população ainda era grande, foi obtida. Essa amostra corresponde, pois, a um período de 2.-2.5 gerações. Apesar do curto tempo entre o início da experiência e a retirada da amostra, mudanças significantes foram observadas na freqüência de dois tipos heterozigotos (tabelas 8 e 11), a saber:

III Mm de 28.2% para 53.1%
XR Dd de 31.5% para 56.5%

População 62

A população 62, alimentada com o levedo *Rhodotorula mucilaginosa,* foi iniciada no dia 19 de março de 1954. Essa população manteve-se sempre bem, com um número de indivíduos muito alto. Duas amostras dessa população foram analisadas, tendo sido retiradas aos 92 (4-6 gerações) e aos 263 dias (13-17 gerações) respectivamente. Entre o início da experiência e a segunda amostra, houve mudanças significantes nas freqüências das 9 combinações cromosômicas seguintes:

III Aa de 44.9% para 17.5%
III Dd de 40.4% para 53.3%
III Ff de 48.4% para 35.9%
III Mm de 28.2% para 60.3%
II L Homozigotos de 33.5% para 49.8%
II L Ff de 42.3% para 27.2%
XL Dd de 26.1% para 41.0%
XR Cc de 49.5% para 17.5%
XR Dd de 31.5% para 70.0%

como se ve nas tabelas 9 e 11.

Como nos casos anteriores a mudança foi maior nas primeiras 4-6 gerações do que nas 8-11 subsequentes.

TABELA 8

Composições cromosômicas das populações 72, 59 e 257.

		caixa 72	caixa 59	caixa 257
Arranjos gênicos	Início	114 dias	38 dias	92 dias
III homoz.	9.5	4.0	10.9	11.2
Aa	44.9	27.5	41.0	31.4
Bb	0.7		1.9	
Dd	40.4	39.3	37.8	50.4
Ff	48.4	48.8	54.2	27.1
Hh	57.6	58.4	55.8	60.3
Kk	14.8	2.9	2.3	1.7
Ll	54.9	54.4	58.2	57.7
Mm	28.2	55.1	53.1	57.7
IIL homoz.	33.5	48.1	42.1	50.8
AaBb	27.0	11.7	14.4	12.9
Aa	14.4	16.9	12.1	11.6
ou				
Bb	2.2	3.6	7.4	8.1
Dd	2.2	0.4		
Ff	42.3	30.5	36.3	26.2
IIR homoz.	99.7	100.0	100.0	100.0
Ee	0.3			
Número de autosomas analisados	524	544	512	464
XL homoz.	28.8	14.7	37.1	28.0
Dd	26.1	53.6	25.6	33.0
Ff	57.6	80.1	51.3	57.0
Gg	12.6	41.9	11.5	12.0
XR homoz.	20.7	13.2	25.6	25.0
Cc	49.5	52.2	40.7	17.0
Dd	31.5	72.0	56.6	70.0
Número de cromosomas X analisados	222	272	226	200

TABELA 9

Composições cromosômicas da população 62

Arranjos gênicos	Início	92 dias	263 dias
III homoz.	9.5	11.0	10.3
Aa	44.9	33.4	17.5
Bb	0.7		
Dd	40.4	47.0	53.3
Ff	48.4	38.1	35.9
Hh	57.6	58.0	55.3
Kk	14.8	2.5	7.2
Ll	54.9	59.3	59.4
Mm	28.2	53.8	60.3
IIL homoz.	33.5	43.6	49.8
AaBb	27.0	13.1	2.6
Aa	14.4	16.1	26.1
ou			
Bb	2.2	5.0	0.9
Dd	2.2		
Ff	42.3	32.2	27.2
IIR homoz.	99.7	100.0	100.0
Ee	0.3		
Número de autosomas analisados	524	472	912
XL homoz.	28.8	28.1	30.0
Dd	26.1	37.8	41.0
Ff	57.6	55.3	59.0
Gg	12.6	16.5	7.5
XR homoz.	20.7	23.3	25.5
Cc	49.5	29.1	17.5
Dd	31.5	60.1	70.0
Número de cromosomas X analisados	222	206	400

População 72

A população 72 estabelecida a 19 de março de 1954, recebeu como alimento *Kloeckera apiculata*. Êsse levedo desenvolve-se dificilmente no meio de MITTLER, utilizado. A primeira amostra da população foi obtida aos 114 dias (ver tabela 8). Depois dêsse tempo a população começou a decrescer e não foi mais conveniente tirar nenhuma amostra devido ao seu tamanho pequeno. No período de 114 dias (6-8 gerações), várias mudanças significantes foram obtidas (tabela2 e 11).

III Aa de 44.9% para 27.5%
III Mm de 28.2% para 55.1%
II L homozigoto de 33.5% para 48.1%
II L Ff de 42.3% para 30.5%
XL Dd de 26.1% para 53.0%
XL Ff de 57.6% para 80.1%
XL Gg de 12.6% para 41.9%
XR Dd de 31.5% para 72.0%

Nesta caixa houve, portanto, num período de 6-8 gerações, modificações da amplitude das observadas em 13-17 gerações, da população anterior.

População 80

O levedo usado na população 80, iniciada a 19-3-54, foi *Pichia fermentans*, que manteve uma população uniformemente grande durante tôda experiência. Duas amostras foram estudadas, uma obtida aos 77 dias (4-5 gerações) e a outra aos 263 dias (13-17 gerações) e os resultados acham-se na tabela 10.

Entre o início da experiência e a segunda amostra, houve mudanças significantes nas freqüências de 8 combinações cromosômicas (tabela10 e 11):

III Aa de 44.9% para 26.3%
III Ff de 48.4% para 30.8%
III Mm de 28.2% para 57.3%
II L homozigoto de 33.5% para 48.2%
II L Ff de 42.3% para 48.8%
XL Dd de 26.1% para 67.1%
XL Ff de 57.6% para 67.6%
XR Dd de 31.5% para 72.4%

TABELA 10

Composições cromosômicas da população 80

Arranjos gênicos	Início	77 dias	263 dias
III homoz.	9.5	6.7	11.6
Aa	44.9	37.9	26.3
Bb	0.7	0.7	0.4
Dd	40.4	37.5	47.9
Ff	48.4	51.5	30.8
Hh	57.6	61.6	55.3
Kk	14.8	2.6	7.1
Ll	54.9	63.5	55.5
Mm	28.2	59.0	57.3
IIL homoz.	33.5	29.3	48.2
AaBb	27.0	24.4	7.7
Aa	14.4	12.7	24.9
ou			
Bb	2.2	3.3	2.4
Dd	2.2		
Ff	42.3	48.8	26.9
IIR homoz.	99.7	100.0	100.0
Ee	0.3		
Número de autosomas analisados	524	532	980
XL homoz.	28.8	26.2	12.2
Dd	26.1	21.2	67.1
Ff	57.6	60.2	67.6
Gg	12.6	4.2	10.9
XR homoz.	20.7	15.6	15.2
Cc	49.5	31.9	34.8
Dd	31.5	74.4	72.4
Número de cromosomas X analisados	222	282	420

Como nos casos anteriores, a comparação da 1a. e da 2a. amostras revela que as mudanças foram mais drásticas nas primeiras gerações.

População 257

Iniciada a 19-3-54, usando-se o levedo *Pichia membranaefaciens*, manteve esta população inicialmente um elevado número de indíviduos, sosofrendo, depois, um decréscimo. O fermento utilizado na experiência, desenvolve-se muito bem no meio de cultura empregado na caixa e o decréscimo da população não pode ser devido, pois, a uma deficiência de alimento. A amostra obtida aos 92 dias (4-6 gerações) foi extraída ainda no período em que a população era muito grande. Uma vez diminuido o seu tamanho, apesar de todos os cuidados foi impossível aumentá-lo.

Durante as 4-6 gerações da experiência houve mudanças significantes nas freqüências dos seguintes genotipos (tabela 8 e 11):

III Aa de 44.9% para 31.4%
III Ff de 48.4% para 27.1%
III Mm de 28.2% para 57.7%
II L homozigoto de 33.5% para 50.8%
II L Ff de 42.3% para 26.2%
XR Cc de 49.5% para 17.0%
XR Dd de 31.5% para 70.0%

Comparação entre as populações

O estudo comparativo dos resultados obtidos nas várias caixas de populações, revela um paralelismo muito pronunciado na evolução das várias populações. Algumas diferenças entre as caixas são grandes e significantes, como é o caso do heterozigoto XL Dd, que nas amostras de 263 dias tem as freqüências de 63.9% na caixa 5, 41.0% na 62 e 67.1% na 80; e também do XL Ff que nas mesmas amostras tem as freqüências de 77.8% na caixa 5, 59% na 62 e 67.6% na 80.

Valor adaptativo das inversões heterozigotas

As mudanças significantes encontradas nas freqüências de vários heterozigotos mostram que os vários arranjos gênicos devem ter valor seletivo, caso as mudanças sejam devidas à seleção, o que é mais provável.

A demostração mais clara do valor adaptativo das inversões heterozigotas é dada, todavia, pela própria freqüência dos heterozigotos. É fato bem estabelecido que numa população em equilíbrio, na qual exis-

TABELA 11

Constituições cromosômicas cujas freqüências mudaram significantemente entre o início e o fim das experiências.

Caixa	Constituições	χ^2	P
5	III Aa	46.417	<.001
	III Ff	17.485	<.001
	III Mm	33.576	<.001
	IIL homoz.	9.834	.01 — .001
	IIL Ff	8.691	.01 — .001
	XL Dd	18.074	<.001
	XR Dd	15.325	<.001
59	III Mm	19.769	<.001
	XR Dd	9.091	.01 — .001
62	III Aa	45.488	<.001
	III Dd	5.611	.02 — .01
	III Ff	6.481	.02 — .01
	III Mm	35.135	<.001
	IIL homoz.	9.984	.01 — .001
	IIL Ff	11.668	<.001
	XL Dd	4.410	.05 — .02
	XR Cc	25.395	<.001
	XR Dd	18.810	<.001
72	III Aa	11.364	<.001
	III Mm	23.181	<.001
	IIL homoz.	6.952	.01 — .001
	IIL Ff	5.152	.05 — .02
	XL Dd	11.186	<.001
	XL Ff	4.450	.05 — .02
	XL Gg	18.290	<.001
	XR Dd	18.714	<.001
80	III Aa	18.248	<.001
	III Ff	14.403	<.001
	III Mm	30.661	<.001
	IIL homoz.	8.403	.01 — .001
	IIL Ff	12.641	<.001
	XL Dd	23.087	<.001
	XL Ff	4.114	.05 — .02
	XR Dd	20.872	<.001
257	III Aa	5.786	.02 — .01
	III Ff	14.495	<.001
	III Mm	25.431	<.001
	IIL homoz.	8.845	.01 — .001
	IIL Ff	9.155	.01 — .001
	XR Cc	16.499	<.001
	XR Dd	15.600	<.001

TABELA 12

Heterozigotos que alcançaram freqüência significantemente superiores a 50% nas caixas de população.

Caixa	heterozigoto	%	χ^2	P
5	III Hh	61.5	19.278	<.001
	III Ll	57.6	8.568	.01 — .001
	III Mm	60.4	15.781	<.001
	XL Dd	63 9	9.475	.01 — .001
	XL Ff	77.8	37.901	<.001
	XR Dd	68.0	15.868	<.001
59	III Ll	58.2	6.890	.01 — .001
62	III Hh	55.3	5.053	.05 — .02
	III Ll	59.4	16.219	< 001
	III Mm	60.3	19.377	<.001
	XL Ff	59.0	6.480	.02 — .01
	XR Dd	70.0	32.000	<.001
72	III Hh	58 4	8.557	.01 — .001
	XL Ff	80.1	49.441	<.001
	XR Dd	72.0	26.470	< 001
80	III Hh	55.3	5.518	.02 — .01
	III Ll	55.5	5.951	.02 — .01
	III Mm	57.3	10.579	.01 — .001
	XL Dd	67.1	24.685	<.001
	XL Ff	67.6	26.076	<.001
	XR Dd	72 4	42.076	<.001
257	III Hh	60 3	9.931	.01 — .001
	III Ll	57.7	5.586	.02 — .01
	III Mm	57.7	5.586	.02 — .01
	XR Dd	70.0	16.000	<.001

tam dois arranjos gênicos alternativos, a freqüência dos seus heterozigotos não pode exceder a 50%, a não ser que o valor adaptativo dos heterozigotos seja maior do que os valores adaptativos dos homozigotos.

Desvios significantes superiores a 50%, na freqüência de heterozigotos, constituem, dessa forma, evidência clara de seleção em valor dos heterozigotos.

As seguintes freqüências de heterozigotos obtidas nas populações estudadas são significantemente superiores a 50% (ver tabela 12).

---

5 III Hh, 61.5%; 5 III Ll, 57.6%
5 III Mm, 60.4%; 5 XL Dd, 63.9%
5 XL Ff, 77.8%; 5 XR Dd, 68.0%

---

59 III Ll, 58.2%

---

62 III Mm, 60.3%; 62 III Ll, 59.4%
62 III Hh, 55.3%; 62 XL Ff, 59.0%
62 XR Dd, 70.0%;

---

72 III Hh, 58.4%; 72 XL Ff, 80.1%
72 XR Dd, 72.0%;

---

80 III Hh, 55.3%; 80 III Ll, 55.5%
80 III Mm, 57.3%; 80 XL Dd, 67.1%
80 XL Ff, 67.6%; 80 XR Dd, 72.4%

---

257 III Hh, 60.3%; 257 III Ll, 57.7%
257 III Mm, 57.7%; 257 XR Dd, 70.0%

Essas freqüências de heterozigotos são as obtidas nas amostras de 263 dias, das populações 5, 62 e 80, de 38, 92 e 114 dias, respectivamente, nas populações 59, 257 e 72.

Êsses resultados estabelecem claramente o fato de serem heteróticas as inversões de *D. willistoni*.

Discussão

WAGNER (1944) estudou a alimentação de duas espécies de *Drosiphila, D. mulleri* e *D. aldrichi,* ambas encontradas em frutos de cactus (*Opuntia Lindheimeri*), sendo a primeira muito mais comum nesse habitat. O autor isolou 8 espécies de levedos de tais frutos, onde havia larvas das duas espécies mencionadas de *Drosophila*.

O valor nutritivo dessas espécies de levedo foi estudado em relação a *D. mulleri* e *D. aldrichi.* Enquanto a primeira é capaz de se desenvolver recebendo qualquer das 8 espécies como alimento, a segunda só se desenvolve com 5 delas. Essas observações foram posteriormente ampliadas com o estudo do comportamento de outras espécies de *Drosophila* do grupo *mulleri* em relação aos mesmos levedos (WAGNER, 1949), confirmando-se o fato de que *D. mulleri* cresce em meio de cultura com qualquer dos 8 levedos, enquanto *D. aldrichi* não cresce com Y-1, Y-3, Y-8. Além disso foi constatado que *D. mojavensis* não se desenvolve com Y-7 e Y-8; *D. buzzatii* não cresce em Y-2 e Y-7.*

Êsses resultados de WAGNER mostram claramente que as espécies de *Drosophila* do grupo *mulleri* são diferenciadas fisiològicamente com respeito às exigências nutritivas. Essa diferenciação fisiológica, como veremos, é de grande importância na ecologia das espécies.

DUDGEON (1954) isolou levedos de várias espécies norte-americanas de *Drosophila* com as quais realizou experiências de nutrição com as diversas espécies de levedos isolados. Como nas experiências de WAGNER, acima mencionadas, grandes diferenças fisiológicas foram constatadas entre as diversas espécies de *Drosophila* que se comportaram de modo variável em presença das diferentes linhagens de levedos. Certos levedos que permitem ótimo desenvolvimento de determinadas espécies de *Drosophila,* não são satisfatórios para outras. E enquanto que certas moscas, como *Drosophila montana,* são muito sensíveis a diferentes dietas de levedos,outras, como *D. virilis,* são capazes de se utilizar, com sucesso, de um grande número de levedos DUDGEON mostrou, igualmente, que há diferenciação específica das drosófilas, no que concerne às espécies de levedos que elas podem utilizar como alimento. O grau de versatilidade nutricional varia, extraordinariamente, encontrando-se espécies de drosófilas com exigências máximas e outras com um mínimo de especialização.

Diversidades de exigências nutricionais encontram-se não só entre espécies diferentes de *Drosophila,* mas também entre indivíduos da mesma espécie. DA CUNHA (1951), DOBZHANSKY (1954) mostraram,

* As linhagens de levedo não foram classificadas.

em *D. pseudoobscura,* que o valor adaptativo de indivíduos com certas combinações cromosômicas, depende da espécie de levedo usada como alimento. Diferenças fisiológicas também foram encontardas por LEVINE (1952) ao estudar, em *D. pseudoobscura,* o efeito de vários levedos sôbre moscas de constituições genéticas diferentes.

A diferenciação nutricional das espécies de *Drosophila* em geral é evidenciada, no presente trabalho, a) pelas dietas diversas das várias espécies, na natureza; b) pela atração diferencial que várias espécies de levedo, utilizadas nas experiências, exercem sôbre as moscas.

As diferenças nas dietas das várias espécies de *Drosophila,* na região da Cantareira, são indicadas pela variação da freqüência dos diversos levedos encontrados nas espécies de moscas analisadas. Tais diferenças, bem como as evidenciadas por WAGNER (1944, 1949) e por DUDGEON (1954), constituem importantes elementos para a compreensão da adaptação ecológica das espécies.

Como foi demonstrado principalmente por GAUSE (1934) duas espécies igualmente adaptadas não podem viver simpàtricamente. E' extremamente improvável que elas apresentam a mesma eficiência e qualquer diferença entre elas determina a eliminação da espécie menos eficiente.

PAVAN (1952) já mostrou, com enorme acervo de observações, que as espécies, simpáticas de *Drosophila* são diferentemente adaptadas ao ambiente. Em seu trabalho, as relações das espécies de *Drosophila* com o "habitat" foram estudadas considerando-se vários fatôres ambientais ao mesmo tempo.

No presente trabalho, a nutrição, um único fator ecológico, embora complexo, foi isolado. Os dados obtidos indicam que a diferenciação das espécies, quanto às suas dietas, é um dos mecanismos de sua coadaptação à vida no mesmo ambiente.

A mesma diferença nutricional é indicada pelas experiências de atração de drosófilas por diversas espécies de levedos. Os trabalhos de DA CUNHA, SOKOLOFF e DOBZHANSKY (1951) e de DOBZHANSKY e col. (no prelo), sôbre atração de drosófilas por levedos, assim como os dados sôbre o mesmo tipo de experiência aqui apresentados, mostram que tal atração é diferencial.

As espécies de *Drosophila* apresentam nítidas preferências, no que tange a atração exercida pelos levedos. O grau de preferência, indicado pelas freqüências relativas com que as espécies são atraídas, varia entre as espécies de *Drosophila* e varia, também, de espécie para espécie de levedo. As preferências são quantitativas e não qualitativas: as várias espécies de *Drosophila* são atraídas por todos os levedos, mas o grau de atração depende do levedo utilizado na isca e da espécie de *Drosophila* que se considere. Dessa forma os vários levedos são utilizados diferencialmente pelas diversas espécies de *Drosophila,* que são guiadas na escô-

lha de seu alimento, pela diversidade de cheiro das substâncias produzidas pelos levedos.

A comparação dos dados obtidos no presente trabalho com os de PHAFF e colaboradores (em impressão) mostra que a diferenciação nutricional das drosófilas é muito maior entre as espécies tropicais do que entre as espécies de regiões temperadas. As diferenças entre as dietas das drosófilas tropicais são grandes enquanto nas drosófilas de regiões temperadas tais diferenças são muito reduzidas ou inexistentes. As espécies tropicais de drosófila mostraram grandes diferenças na sua atração por diversos levedos enquanto as espécies temperadas foram igualmente atraídas pelos vários levedos usados por PHAFF e seus colaboradores.

A grande diversidade da flora tropical permite às drosófilas um grau de diferenciação muito maior do que o possível nas regiões temperadas.

A diferenciação nutricional das drosófilas, indicada pela composição do seu conteúdo estomacal e pela atração diferencial exercida pelos levedos constitui uma confirmação das conclusões de GAUSE (1934).

As espécies simpátricas de *Drosophila,* são diferenciadas fisiològicamente e coadaptadas à vida num mesmo "habitat" pela interação de mutações e da seleção natural. Os vários nichos ecológicos ocupados pelas espécies de *Drosophila,* são entre elas distribuídos, sendo tal distribuição feita quantitativamente.

Diferentes espécies de *Drosophila* são capazes de utilizar os mesmos nichos ecológicos, mas a sua eficiência varia de nicho para nicho.

Uma espécie pode ser a mais eficiente em certo nicho ecológico, e ocupar vários outros nichos, mas nestes será menos eficiente do que outras espécies. Anàlogamente, certo nicho ecológico pode ser utilizado por muitas espécies, enquanto outros nichos podem sustentar apenas um número reduzido de formas. Estas conclusões não são específicas para o caso das drosófilas, mas são gerais. Como diz LACK (1954) em relação às aves: "cada espécie vivendo numa mesma região depende de alimentos primàriamente diferentes". Tal diferenciação foi encontrada em todos os casos analisados com a exceção aparente dos casos em que há excesso de um mesmo tipo de alimento, quando várias espécies podem usar o alimento em excesso (LACK, 1954).

Interessante, também, é comparar a composição da alimentação de espécies norte-americanas de *Drosophila* com a das drosófilas da Cantareira. SHEHATA e MRAK (1952) isolaram 80 linhagens de levedo do estômago de *D. pseudoobscura* em duas localidades da Sierra Nevada. Entre essas linhagens isoladas, havia 25 espécies diferentes. Isolaram, também, 22 espécies de levedos de frutos, de exudações de caules, de rizomas e de solos. Na Cantareira, de 394 linhagens de levedo obtidos de tratos digestivos de drosófilas, foram isoladas 43 espécies, e de 46

linhagens encontradas em frutos, 10 espécies diferentes foram identificadas.

Das 25 espécies de levedo obtidas em moscas da Califórnia, sòmente 7 estão representadas entre as 43 retiradas de moscas da Cantareira. Das 22 espécies de levedos encontradas em solos ou em material vegetal, na Califórnia, só 6 foram encontradas entre as 45 espécies isoladas de moscas e de frutas, na Cantareira.

Esses dados dão uma boa idéia da diversidade da flora utilizada pelas drosófilas para a sua alimentação.

Outra comparação interessante é a da utilização, pelas drosófilas, dos levedos obtidos em material vegetal na Califórnia e na Cantareira. Lá, das 25 espécies de levedo das drosófilas e das 22 de solos e de material vegetal, apenas 2 ocorrem em qualquer das fontes. Na Cantareira, 8 das 10 espécies de levedo de frutas estão representadas entre as 45 isoladas de *Drosophila*.

CARSON e cols. (no prelo) ampliaram as pesquisas de SHEHATA e MRAK (1952) chegando à mesma conclusão, de que, na Califórnia, os levedos isolados das moscas e os obtidos de material vegetal, "slime fluxes" no caso, não são os mesmos. Na Cantareira as drosófilas alimentam-se, evidentemente, com os levedos encontrados em material vegetal em fermentação. Na Califórnia o mesmo deve acontecer, mas a fonte de onde as drosófilas retiraram so levedos ainda não é conhecida.

As experiências com populações artificiais de *D. willistoni* mostraram que as inversões cromosômicas dessa espécie constituem, como é o caso com outras espécies, uma característica adaptativa.* A sensibilidade dos vários tipos cromosômicos de *D. willistoni* a fatôres nutricionais parece ser menor do que a de *D. pseudoobscura*. As populações artificiais de *D. willistoni* alimentadas com diferentes levedos evoluiram paralelamente e só pequenas diferenças se desenvolveram entre elas. Diferenças muito maiores foram observadas em populações artificiais de *D. pseudoobscura* alimentadas diversamente (DA CUNHA, 1951; DOBZHANSKY e SPASSKY, 1954).

As experiências com populações artificiais de *D. willistoni*, aqui apresentadas, deixam claro o valor adaptatvio das inversões cromosômicas nessa espécie. Em várias populações, muitas inversões apresentam-se heterozigotas em um número de indivíduos significantemente maior do que 50%. Numa população em equilíbrio, como está bem estabelecido, duas formas gênicas ou cromosômicas alternativas só podem existir, em estado heterozigoto, numa freqüência superior a 50%, se o heterozigoto tiver um valor adaptativo superior ao dos homozigotos. Freqüência de heterozigotos superior a 50% é, pois, uma prova do valor heterótico das inversões que os compõem.

---

* Um apanhado geral do problema encontra-se em da Cunha (1955).

Especialmente interessante é o fato de várias inversões do cromosoma X serem heteróticas. Pensou-se até pouco tempo que tal cromosoma fôsse genèticamente muito mais homogêneo do que os autosomas. Os machos sendo haplóides com relação ao cromosoma X causariam a eliminação da maioria das mutações nele aparecidas. KERR e KERR (1952) mostraram, todavia, que nos cromosomas X está armazenada grande variabilidade gênica e que essa variabilidade deve-se a gens com efeitos limitados ao sexo. WALLACE (1948) estudando o arranjo gênico "sex-ratio", em *D. pseudoobscura,* mostrou que êsse arranjo está associado a gens com efeitos limitados ao sexo. Os dados de DA CUNHA (1953), obtidos em populações naturais de *D. willistoni* e de *D. paulistorum,* e os do presente trabalho, obtidos em populações da primeira espécie, mostram que inversões heteróticas são comuns nos cromosomas sexuais dessas espécies. Os cromosomas X, portanto, longe de serem homogêneos como se pensava, são variáveis e essa variabilidade é devida a gens com efeitos heteróticos limitados ao sexo feminino.

Êsses achados são especialmente interessantes para as pesquisas em animais que têm um sexo haplóide, como os Hymenoptera. A haploidia dos machos não deve acarretar uma homogeneidade das populações, desde que apareçam gens heteróticos nas fêmeas. KERR e LAIDLAW (no prelo) fizeram uma revisão dos conhecimentos genéticos das populações de abelhas e mostraram que, efetivamente, as populações dêsses animais são variáveis e não homogeneas, como se pensava inicialmente. Mostraram, ainda, que essa variabilidade é devida a gens heteróticos nas fêmeas, e, portanto, com efeitos limitados ao sexo.

A linhagem de *D. willistoni* utilizada nas experiências com populações artificiais proveio de um ambiente muito heterogêneo, Barreiras (E. da Bahia). A população dessa localidade apresenta grande variabilidade cromosômica, como é a regra em tôda a região ecològicamente muito heterogênea. DA CUNHA, BURLA e DOBZHANSKY (1950), DA CUNHA, DOBZHANSKY (1954) e DA CUNHA, BRNCIC e SALZANO (1953) mostraram que em *Drosophila* o grau de polimorfismo cromosômico está correlacionado com o grau de heterogeneidade do ambiente. Populações que vivem em ambientes heterogêneos apresentam uma freqüência de inversões heterozigotas maior do que populações de ambientes mais homogêneos.

Durante a manutenção da linhagem de Barreiras, no laboratório, houve perda de algumas inversões. Provàvelmente tratam-se de inversões que não são heteróticas nas condições de cultura usuais no laboratório. Enorme variabilidade foi ainda mantida, todavia, tanto nos vidros de cultura usuais, como nas caixas de populações. Êsse fato demonstra que o valor adaptativo das populações é baseado principalmente nas propriedades dos heterozigotos que são em geral superiores aos dos homozigotos. Uma vez desenvolvida grande variabilidade heterótica

numa população, em resposta às condições de ambientes heterogêneos, a maior parte dessa variabilidade mantêm-se mesmo quando a população é transferida para ambientes mais uniformes. O valor adaptativo das populações de *D. willistoni* é, pois, baseado na coadaptação harmônica de combinações heteróticas, confirmando-se, assim, as idéias atuais da adaptação genética das populações. A adaptação das populações baseada no valor adaptativo dos heterozigotos permite, de um lado, uma grande homeostase e de outro, uma grande plasticidade. Dessa forma a população se torna capaz de resistir plàsticamente às variações do ambiente, no tempo de vida de uma geração e também de se transformar, de uma geração a outra, acompanhando as variações de longa duração do ambiente.*

RESUMO E CONCLUSÕES

No presente trabalho acham-se relatados os resultados obtidos:

a) na análise dos levedos do conteúdo estomacal de drosófilas obtidas na natureza;
b) em experiências feitas atraindo-se drosófilas por meio de banana fermentada por diferentes levedos;
c) na análise das mudanças nas freqüências de vários tipos cromosômicos em populações artificiais de *Drosophila willistoni,* alimentadas com diferentes levedos.

Os dados obtidos permitem concluir:

1) — As drosófilas, nas matas da Cantareira, alimentam-se de grande variedade de levedos, alguns raros, outros muito abundantes.
2) — A freqüência de ocorrência das várias espécies de levedo é diferente nas diversas espécies de *Drosophila*. Essas espécies diferem, portanto, quanto à composição de sua dieta.
3) — As experiências de atração das drosófilas por várias espécies de levedos mostram que as diversas espécies de *Drosophila* são atraídas diferencialmente. As preferências das moscas pelos levedos são diferentes quantitativa e não qualitativamente.
4) — As experiências feitas com populações artificiais de *D. willistoni* provam, claramente, que as inversões cromosômicas dessa espécie são adaptativas, conferindo aos heterozigotos um valor adaptativo superior ao dos homozigotos.
5) — As experiências feitas com populações artificiais de *D. willistoni,* alimentadas com diferentes espécies de levedo, deram resultados semelhantes. Diferenças nítidas nas freqüências de inversões heterozigotas em populações alimentadas com levedos diferentes só foram encontradas para poucas inversões.

* Ver principalmente Lerner (1954) para um apanhado geral do assunto.

6) — Várias inversões do cromosoma X são fortemente heteróticas, indicando a existência de gens com efeitos limitados ao sexo feminino.

7) — A adaptação das populações de *D. willistoni* é baseada no valor adaptativo superior, dos indivíduos heterozigotos.

AGRADECIMENTOS

O autor é especialmente grato aos Profs. Crodowaldo Pavan e A. El-Tabey Shehata. O Prof. C. Pavan tornou possível o presente trabalho pondo à disposição do autor todos os recursos necessários assim como fornecendo numerosas sugestões. O Prof. Shehata classificou tôdas as linhagens de levedos usadas no trabalho, isolou parte das linhagens e também deu sugestões na escôlha dos levedos para as experiências de atração. O Sr. Waldemar de Oliveira prestou precioso auxílio participando de tôdas as experiências de atração, assim como preparando todos os meios de cultura utilizados nas experiências.

A Srta. Therezinha de M. Ungaretti encarregou-se da parte datilográfica do trabalho com sua habitual eficiência e interêsse.

O Prof. Mario Guimarães Ferri pacientemente leu o trabalho e muito melhorou a sua apresentação.

Os Lics. Luiz Edmundo de Magalhães, Juan Nacrur, Jeannette Saraiva de Toledo e Hebe M. Laghi inúmeras vêzes auxiliaram na classificação do material coletado. Auxiliaram também na coleta do material D. Marta E. Breuer, Dra. Elisa P. Knapp, Dr. F. M. Salzano e o Sr. Rafael A. de Moraes.

A tôdas essas pessoas que tanto auxiliaram a execução e a apresentação do trabalho deixo aqui os mais sinceros agradecimentos.

Aqui deixo também o meu tributo de gratidão ao Prof. Eurípedes Simões de Paula, DD. Diretor da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras, à Fundação Rockefeller e ao Conselho Nacional de Pesquisas.

O Prof. E. Simões de Paula sempre fêz tudo que pôde para auxiliar as pesquisas do Departamento de Biologia e à sua compreensão e ao seu interêsse muito devemos.

As pesquisas feitas no presente trabalho não teriam sido possíveis sem os valiosos auxílios fornecidos pela Fundação Rockefeller e pelo Conselho Nacional de Pesquisas.

O autor é também extremamente grato aos Profs. André Dreyfus e Theodosius Dobzhansky e ao Dr. Harry M. Miller Jr., principais responsáveis pelo progresso da genética animal em nosso país.

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras

TABELA 13

Dados meteorológicos obtidos na Cantareira nos dias em que foram feitas as experiências de atração de drosófilas por levedos.

1 9 5 4

Dias	Temp. Ar	Média Temp. Máx.	Temp. Mín.	Média Um. Rel. %	Um. Máx.	Um. Mín.	Total de Chuva em mms.
			Abril				
22	18.9	24.1	10.6	81	92	64	0.0
23	20.1	27.0	14.4	75	94	45	0.0
			Maio				
17	19.0	21.6	16.5	84	91	77	0.0
18	20.2	25.7	14.1	82	99	71	7.9
27	16.0	22.0	9.3	86	99	63	0.1
28	15.7	20.7	7.8	84	96	62	0.2
			Junho				
14	19.0	24.0	14.2	80	95	61	0.1
15	17.9	24.8	10.5	83	98	56	0.1
24	17.7	22.0	13.4	88	95	74	0.1
25	17.2	22.7	12.7	84	97	63	0.0
			Julho				
20	17.0	23.3	10.8	82	94	65	0.1
21	17.1	26.0	8.2	77	98	46	0.1
			Setembro				
22	22.4	25.8	18.0	60	73	50	0.0
23	19.1	26.6	12.6	66	89	39	0.0
			Outubro				
25	20.8	28.6	11.6	67	89	37	0.0
26	21.6	30.8	12.6	71	93	32	0.0
			Dezembro				
6	23.0	29.0	11.2	60	86	40	0.0
7	18.1	23.6	14.0	90	99	85	0.0
15	22.3	28.6	12.6	75	94	52	0.0
16	23.5	30.3	15.0	76	95	57	0.0
29	16.9	19.6	15.0	88	89	87	4.8
30	17.9	22.4	12.8	77	84	67	0.1

1 9 5 5

Janeiro

Dias	Temp. Ar	Média Temp. Máx.	Temp. Mín.	Média Um. Rel. %	Um. Máx.	Um. Mín.	Total de Chuva em mms.
11	23.4	27.6	17.0	85	93	74	9.8
12	22.4	28.2	19.4	93	94	91	4.2
			Fevereiro				
17	23.3	30.8	16.0	72	86	52	0.0
18	24.8	32.1	13.6	69	88	41	0.0
23	19.5	24.6	17.2	94	99	87	1.6
24	19.4	23.5	15.1	90	97	86	14.1
			Março				
2	20.1	26.1	15.6	92	96	87	25.3
3	23.0	28.8	15.7	69	97	19	8.5
9	21.3	27.0	17.3	84	98	64	0.1
10	22.3	27.2	16.6	80	94	63	18.5
14	24.5	29.2	15.2	73	80	64	0.0
15	21.9	27.2	18.5	86	96	75	18.2
17	17.9	22.0	13.0	80	92	73	0.0
18	20.8	26.0	13.8	77	86	71	0.0
22	23.3	28.2	14.2	77	93	56	0.0
23	23.3	28.3	15.4	77	90	56	0.0
28	22.7	25.8	18.8	80	85	69	0.5
29	23.1	27.8	18.9	81	95	63	0.5
31	16.9	19.6	14.4	87	94	83	23.9
			Abril				
1	18.8	22.4	13.2	84	92	73	0.0
13	20.5	26.8	14.6	85	98	61	3.8
14	22.6	28.8	15.3	80	93	56	0.0
18	22.0	26.6	17.8	87	93	74	0.8
19	22.2	27.0	18.0	87	99	68	0.0
25	19.1	24.8	11.5	80	93	63	0.0
26	18.8	26.4	11.4	79	96	49	0.1
			Maio				
2	18.6	23.8	10.8	80	91	63	0.0
3	19.6	25.7	12.2	77	92	52	0.0
9	16.6	24.3	6.3	83	99	56	0.1
10	16.6	24.3	7.0	82	95	58	0.0
26	12.0	20.4	3.6	80	98	51	0.1

BIBLIOGRAFIA

BARROS, R., 1950 — A new species of the genus *Drosophila* with discussion about speciation in the *mercatorum* subgroup. *Rev. Brasil. Biol.* 10: 265-278.

BRIEGER, F. G., 1950 — The genetic basis of heterosis in maize. *Genetics,* 35: 420-445.

BURLA, H., 1955 — The order of attraction of Drosophila species to cut palm trees. *Ecology,* 36: 153-155.

BURLA, H., Da CUNHA, A. B., CORDEIRO, A. R., DOBZHANSKY, Th., MALOGOLOWKIN, C., and PAVAN, C., 1949 — The *willistoni* group of sibling species of *Drosophila. Evolution,* 3: 300-314.

BURLA, H., and PAVAN, C., 1953 — The "calloptera" group of species (Drosophila, Diptera). *Rev. Brasil. Biol.,* 13: 291-314.

CORDEIRO, A. R., 1952 — Experiments on the effects in heterozygous condition of second chromosomes from natural populations of *Drosophila willistoni. Proceedings of the National Academy of Sciences,* 38: 471-478.

CORDEIRO, A. R., 1952 — *Drosophila* (Hirtodrosophila) *caxiensis,* a new spceies of fungus-feeding fly from Brazil, *Dusenia,* 3: 303-308.

CORDEIRO, A. R., and DOBZHANSKY, Th., 1954 — Combining ability of certain chromosomes in *D. willistoni* and invalidation of the "wild-type" concept. *The American Naturalist,* 88: 75-86.

CROW, J. F., 1948 — Alternative hypothesis of hybrid vigour. *Genetics,* 33: 477-487.

Da CUNHA, A. B., 1949 — Genetic analysis of the polymorphism of color pattern in *Drosophila polymorpha. Evolution,* 3: 239-251.

Da CUNHA, A. B., 1951 — Modification of the adaptive values of chromosomal types in *Drosophila pseudoobscura* by nutritional variables. *Evolution,* 5: 395-404.

Da CUNHA, A. B., 1953 — A further analysis of the polymorphiam of *Drosophila polymorpha.* Nature, 171: 887.

Da CUNHA, A. B., 1953, Chromosomal inversions with sex-limited effects, *Nature,* 172: 815.

Da CUNHA, A. B., 1955 — Sôbre duas raças de *Drosophila neocardini* Streisinger (Drosophilidae, Diptera). *Rev. Brasil. Biol.,* 15: 117-125.

Da CUNHA, A. B., 1955 — Chromosomal polymorphism in the Diptera. *Advances in Genetics,* 7: 93-138.

Da CUNHA, A. B., BRNCIC, D., and SALZANO, F. M., 1953 — A comparative study of chromosomal polymorphism in certain South American species of Drosophila, *Heredity,* 7: 193-202.

Da CUNHA, A. B., BURLA, H., and DOBZHANSKY, Th., 1950 — Adaptive chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni. Evolution,* 4. 212-235.

Da CUNHA, A. B., DOBZHANSKY, Th., and SOKOLOFF, A., 1951 — On food preferences of sympatric species of *Drosophila, Evolution,* 5: 97-101.

Da CUNHA, A. B., and DOBZHANSKY, Th., 1954 — A further study of chromosomal polymorphism in *Drosophila willistoni* in its relation to the environment. *Evolution,* 8: 119-134.

DANSEREAU, P., 1952 — The varieties of evolutionry opportunity. *Rev. Canad. Biol.*, 11: 305-388.

DOBZHANSKY, Th., 1946 — Complete reproductive isolation between two morphologically similar species of *Drosophila*. *Ecology*, 27: 205-211.

DOBZHANSKY, Th., 1951 — "Genetics and the origin of species". 3rd. rev. ed. 364 pp. Columbia University Press. New York.

DOBZHANSKY, Th., BURLA, H., and Da CUNHA, A. B., 1950 — A comparative study of chromosomal polymorphism in sibling species of the *willistoni* group of Drosophila, *The American Naturalist*, 84: 229-246.

DOBZHANSKY, Th., and Da CUNHA, A. B., 1955 — Differentiation of nutritional preferences in Brazilian species of Drosophila. *Ecology*, 36: 34-39.

DOBZHANSKY, Th., and PAVAN, C., 1950 — Local and seasonal variations in relative frequencies of species of *Drosophila* in Brazil, *The Journal of Animal Ecology*, 19: 1-14.

DOBZHANSKY, Th., and SPASSKY, B., 1954 — Genetics of natural populations. XXII. A comparison of the concealed variability in *Drosophila prosaltans* with that of other species. *Genetics*, 39: 472-487.

DOBZHANSKY, Th., SPASSKY, B., and SPASSKY, N., 1952 — A comparative study of mutation rates in two ecologically diverse species of Drosophila. *Genetics*, 37: 650-664.

DOBZHANSKY, Th., SPASSKY, B., and SPASSKY, N., 1954 — Rates of spontaneous mutation in the second chromosomes of the sibling species, *Drosophila pseudoobscura* and *Drosophila persimilis*. *Genetics*, 39: 899-907.

DOBZHANSKY, Th., and SPASSKY, N., 1954 — Environmental modification of heterosis in *Drosophila pseudoobscura*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 40: 407-415.

DOBZHANSKY, Th., and WALLACE, B., 1953 — The genetics of homeostasis in Drosophila. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 39: 162-171.

DUDA, O., 1925 — Die sudamerikanischen Drosophiliden Dipterer unter Benücksichtigung auch der anderen neotropischen sowie nearktischen Arten. *Arch. Naturgesch*, 91: 1-228.

DUDGEON, E., 1954 — Species differences in the utilization of wild yeasts by *Drosophila*. Univ. Texas Publ. 5422: 65-97.

FREIRE-MAIA, N., 1949 — Balanced polymorphism in *Drosophila montium*. *Evolution*, 3: 98.

FROTA-PESSOA, O., 1954 — Revision of the *tripunctata* group of *Drosophila* with description of fifteen new species (*Drosophilidae, Diptera*). Arquivos do Museu Paranaense, 10: 253-330.

GAUSE, G. F., 1954 — The struggle for existence. Williams and Wilkins, Baltimore.

HENDEL, F., 1936 — Ergebnisse einer zoologischen Sammelreise Nach Brasilien, insbesondere in das Amazonas gebiet, ausgefürhrt von Dr. H. Zerny. X. Diptera. Muscidae acalyptratae. *Ann. nat. Mus. Wien*, 47: 61-106.

HEUTS, J., 1947 — Influence of humidity on the survival of different chromosomal types in *Drosophila pseudoobscura*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 33: 210-213.

HEUTS, J., 1948 — Adaptive properties of carriers of certain gene arrangements in *Drosophila pseudoobscura*. *Heredity*, 2: 63-75.

HUXLEY, J., 1942 — "Evolution, the modern synthesis", 645 pp. Harper and Brothers, New York and London.

JAEGER, C. P., and SALZANO, F. M., 1953 — *Drosophila gaucha*, a new species from Brasil. *Rev. Brasil., Biol.*, 13: 205-208.

KALMUS, H., 1943 — A factorial experiment of the mineral requirements of a Drosophila culture. *The American Naturalist*, 77: 376-380.

KERR, W. E. and KERR, L. S., 1952 — Concealed variability in the X chromosome of *Drosophila melanogaster*. *The American Naturalist*, 84: 229.

KING, J. C., 1947 — A comparative analysis of the chromosomes of the guarani group of *Drosophila*. *Evolution*, 1: 48-62.

LACK, D., 1954 — The natural regulation of animal numbers. Oxford University Press.

LERNER, I. M., 1954 — Genetic homeostasis. Oliver and Boyd, Edinburgh.

LEVINE, R. P., 1952 — Adaptive responses of some third chromosome types of *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution*, 6: 216-233.

LODDER, J. and KREGER-van RIJ, N. J. W., 1952, "The yeasts", North-Holland Publ. Co., Amsterdam.

MITTLER, S., 1952 — Influence of nutrition upon appearance of tumors in Tu50j stock of *D. melanogaster*. *Science*, 115: 271-272.

MULLER, H. J., 1952 — Isolating mechanisms, evolution and temperature. *Biological Symposium*, 6: 71-125.

PAVAN, C., 1950 — Espécies brasileiras de Drosophila II. *Bol. Fac. Fil., Ciên. e Letr.* N. 111, *Biologia Geral* 8: 1-37.

PAVAN, C., 1952 — Relações entre populações naturais de Drosophila e o meio ambiente. Tese, 1-107.

PAVAN, C., e BREUER, M. E., 1954 — Two new species of Drosophila of the "dreyfusi" group (Diptera). *Rev. Brasil. Biol.*, 14: 459-463.

PAVAN, C., CORDEIRO, A. R., DOBZHANSKY, N., DOBZHANSKY, Th., MALOGOLOWKIN, C., SPASSKY, B., and WEDEL, M., 1951 — Concealed genic variability in Brazilian populations of *Drosophila willistoni*, *Genetics*, 36: 13-30.

PAVAN, C., e Da CUNHA, A. B., 1947 — Espécies brasileiras de Drosophila. *Bol. Fac. Fil., Ciên. e Letr. Univ. São Paulo* N. 86 — *Biologia Geral*, 7: 3-46.

PAVAN, C., and KNAPP, E. N., 1954 — The genetic population structure of Brazilian *Drosophila willistoni*. *Evolution*, 8: 303-313.

PAVAN, C., e NACRUR, J., 1950 — Duas novas espécies de *Drosophila* (Diptera) do grupo *annulimana*. *Dusenia*, 1: 263-274.

ROBERTSON, F. W., and REEVE, E. C. R., 1952 — Heterozygosity, environmental variation and heterosis, *Nature* 170: 296.

SCHMALHAUSEN, I. I., 1949 — Factors of evolution, 327 pp. The Blackiston Co., Philadelphia.

SHEHATA, A. M. EL-TABEY and MRAK, E. M., 1952 — Intestinal yeast floras of successive populations of Drosophila, *Evolution* 6: 325-332.

SPASSKY, B., 1951 — Effect of temperature and moisture content of the nutrient medium on the viability of chromosomal types in *Drosophila pseudoobscura*. *The American Naturalist*, 85: 177-180.

SPIESS, E. B., 1950 — Experimental populations of *D. persimilis* from an altitudinal transect of the Sierra Nevada. *Evolution*, 4: 14-33.

STREISINGER, G., 1946 — The cardini species group of the genus Drosophila. *Journ. N. Y. Entom. Soc.*, 54: 105-113.

TOWNSEND, J. I., 1952 — Genetics of marginal populations of *Drosophila willistoni*. *Evolution*, 6: 428-442.

WAGNER, R. P., 1944 — The nutrition of *Drosophila mulleri* and *D. aldrichi*. Growth of the larvae on cactus extract and the microorganismus found in cactus. Univ. Texas Publ. 4445, 104-128.

WAGNER, R. P., 1949 — Nutritional differences in the mulleri group. Univ. Texas Publ. 4.920, 39-41.

WALLACE, B., KING, J. C., MADDEN, C. V., KAUFMANN, B., and McGUNNIGLE, E. C., 1953 — An analysis of variability arising through recombination. *Genetics*, 38: 272-307.

WRIGHT, S., and DOBZHANSKY, Th., 1946 — Genetics of natural populations. XII. Experimental reproductions of some of the changes caused by natural selection in certain populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 31: 125-156.

COMPOSTO E IMPRESSO NA SECÇÃO GRÁFICA DA
FACULDADE DE FILOSOFIA, CIÊNCIAS E LETRAS DA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
1957