



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

**“VARIAÇÃO MORFOLÓGICA EM POPULAÇÕES BRASILEIRAS DE
DROSOPHILA MELANOGASTER:
VARIAÇÃO LATITUDINAL E TEMPORAL, HERDABILIDADE E
ASSOCIAÇÃO COM INVERSÕES CROMOSSÔMICAS”**

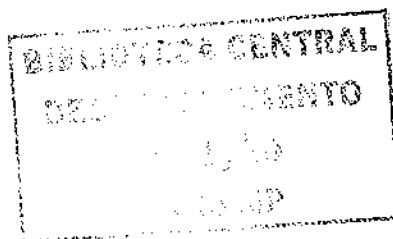
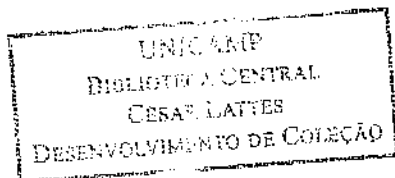
Laura Helena Hafner da Silva

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
LAURA HELENA HAFNER
DA SILVA
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biologia para
obtenção do Título de Mestre
em Genética e Biologia
Molecular, na área de
Genética Animal e Evolução.

Orientador: Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko

Campinas, 2006



UNIDADE	FL
Nº CHAMADA:	T/UNICAMP
	SP/SP/
V.	Ed.
TOMBO BC/	71960
PROC.	16-145-07
C ☐	D ☒
PREÇO	11.00
DATA	3-4-07
BIB-ID	406320

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

SI386v

Silva, Laura Helena Hafner da
Variação morfológica em populações brasileiras de
Drosophila melanogaster: variação latitudinal e temporal,
herdabilidade e associação com inversões cromossômicas /
Laura Helena Hafner da Silva. – Campinas, SP: [s.n.],
2006.

Orientador: Louis Bernard Klaczko.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Variação morfológica. 2. *Drosophila melanogaster*.
3. Clines. 4. Herdabilidade. 5. Inversão cromossômica.
I. Klaczko, Louis Bernard. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

(scs/lb)

Título em inglês: Morphological variation in Brazilian populations of *Drosophila melanogaster*: latitudinal and temporal variation, heritability and association with chromosomal inversions.

Palavras-chave em inglês: Morphological variation; *Drosophila melanogaster*; Clines; Heritability; Inversion; Chromosome.

Área de concentração: Genética Animal e Evolução.

Titulação: Mestre em Genética e Biologia Molecular.

Banca examinadora: Louis Bernard Klaczko, Vera Nisaka Solferini, Rosana Tidon-Sklorz.

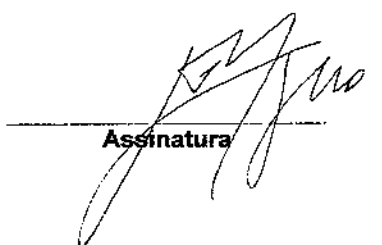
Data da defesa: 24/08/2006.

Programa de Pós-Graduação: Genética e Biologia Molecular.

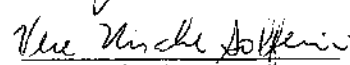
Campinas, 24 de agosto de 2006

BANCA EXAMINADORA

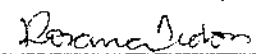
Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko (Orientador)


Assinatura

Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini


Assinatura

Profa. Dra. Rosana Tidon-Sklorz

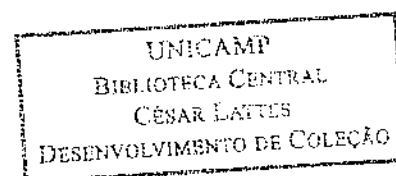

Assinatura

Profa. Dra. Ana Maria Lima de Azeredo-Espin

Assinatura

Prof. Dr. Sergio Russo Matoli

Assinatura



AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko, por me orientar sempre de forma cordial, paciente e esclarecedora em todos os aspectos não só deste trabalho, mas também de muitas outras circunstâncias acadêmicas e científicas que vivi nos últimos cinco anos.

Aos colegas Galina Ananina, Horácio Montenegro, Luciane Hatadani, Hermes de Medeiros, Carlos Alberto Andrade, Felipe Rocha, Marcos Baptista, Roberto Vieira e Luciana Araripe, pelo convívio sempre aprazível no laboratório e pela ajuda com diversos aspectos técnicos no decorrer deste trabalho.

A Carlos Alberto Andrade, Hermes de Medeiros, Luciana Araripe, José Carlos Medeiros e Lygia Fonseca, por gentilmente providenciar múltiplas coletas de *Drosophila melanogaster* providas do Recife e do Rio de Janeiro, que foram o material fundamental utilizado neste trabalho.

Aos funcionários do laboratório: Maria Salete Campos, Wilma de Souza, Laércio Santana, Priscila De Lima Polatto e Sandra Queiroz, pela qualidade e eficiência do apoio técnico prestado.

Ao Prof. Dr. André Victor Lucci Freitas, pelo apoio incondicional no campo pessoal e pelos conselhos e orientações gerais ligadas à minha vida profissional.

Às professoras Dra. Ana Maria Lima de Azeredo-Espin, Dra. Rosana Tidon-Sklorz e Dra. Vera Nisaka Solferini, pela participação, atenção e valiosos comentários oferecidos na ocasião da pré-banca e da defesa desta tese.

Às seguintes instituições, pelo apoio financeiro a este trabalho e ao laboratório: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundo de Apoio ao Ensino e Pesquisa da UNICAMP (FAEP-UNICAMP) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

“Scientists often have a naive faith that if only they could discover enough facts about a problem, these facts would somehow arrange themselves in a compelling and true solution.”

Theodosius Dobzhansky

ÍNDICE

I. Introdução

I.1. Clines latitudinais.....	1
I.1.I Influência da temperatura.....	2
I.2. Clines em espécies invasoras.....	4
I.3. Variação morfológica.....	5
I.4. Herdabilidade.....	8
I.5. Interação genótipo-ambiente.....	10
I.6. Inversões cromossômicas.....	12
I.7. Objetivos.....	15

II. Materiais e Métodos

II.1. Coleta e preparação do material.....	16
II.2. Obtenção dos dados.....	18
II.3. Análise dos dados.....	18

III. Resultados e Discussão

III.1. Variação latitudinal.....	22
III.1.I. Tamanho e forma das asas.....	22
III.1.II. Condições de desenvolvimento.....	28

III.2. Variação temporal.....	31
III.2.I. Recife.....	31
III.2.II. Rio de Janeiro.....	34
III.3. Herdabilidade.....	38
III.4. Inversões cromossômicas.....	44
III.4.I. Efeito sobre o tamanho.....	44
III.4.II. Efeito sobre a forma.....	46
IV. Conclusão.....	52
IV. Referências Bibliográficas.....	53

RESUMO

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar a variação do tamanho e forma das asas de populações de *Drosophila melanogaster* em três pontos ao longo de uma grande amplitude latitudinal na costa brasileira. O trabalho foi feito a partir de coletas realizadas no Recife, Rio de Janeiro e Porto Alegre, e os seguintes aspectos foram abordados: 1) variação geográfica; 2) variação temporal; 3) herdabilidade; e 4) a influência de inversões cromossômicas. Para este fim, o método da elipse foi aplicado a imagens digitalizadas das asas, e foram analisados: o tamanho das asas, sua forma e as posições dos pontos de junção e das extremidades das veias (caracterizadas por suas coordenadas angulares e radiais, essas padronizadas pelo tamanho da asa).

Os resultados obtidos mostraram que a variação de tamanho em *D. melanogaster* no Brasil segue a tendência mundial de formação de clines latitudinais, com indivíduos maiores sendo encontrados a latitudes também maiores. No entanto, a herdabilidade e a variação temporal entre múltiplas coletas realizadas no Recife e no Rio de Janeiro não apresentou um padrão regular nítido.

O único efeito consistente e significativo de inversões cromossômicas que pudemos observar foi o de *In(3R)Payne* sobre o tamanho corporal, sendo também consistente com achados prévios descritos na literatura. Entretanto, não detectamos efeito significativo de interação genótipo-ambiente, quer entre coletas, quer entre localidades.

ABSTRACT

The present work aims to characterize the variation of wing size and shape in *Drosophila melanogaster* populations from three localities distributed along a wide latitudinal range of the Brazilian coast. The work was performed based on collections made in the cities of Recife, Rio de Janeiro and Porto Alegre. The aspects studied were: 1) geographic variation; 2) temporal variation; 3) heritability; and 4) the influence of chromosomal inversions. To this end, the ellipse method was applied to digitized images of the wings. We analyzed wing size, wing shape and the position of vein junctions and extremities (characterized by their angular and radial coordinates, the latter being standardized by wing size).

The results obtained showed that size variation in Brazilian *D. melanogaster* follows the worldwide tendency toward the formation of latitudinal clines, with larger individuals being found at higher latitudes. However, the heritability and temporal variation among multiple collections performed in Recife and Rio de Janeiro did not show a clear regular pattern.

The only consistent and significant effect of chromosomal inversions that we could observe was that of *In(3R)Payne* on body size, which is also consistent with previous findings reported in the literature. However, we did not detect a significant effect of genotype-environment interactions, neither among collections, nor among localities.

I. Introdução

I.1. Clines latitudinais

Em algumas espécies polimórficas, a frequência dos diferentes morfos varia geograficamente. Algumas vezes, a frequência de um dos morfos aumenta progressivamente em uma direção ao longo da distribuição da espécie. Gradientes deste tipo são chamados de clines ou clinas. O conceito de cline, no entanto, não está restrito aos caracteres descontínuos, pois características contínuas também podem apresentar variação clinal. Clines podem ser formados por uma variedade de processos, incluindo seleção diferencial em seus extremos, variação gradual de coeficientes de seleção ao longo de um transecto geográfico e migração (Haldane, 1948; Pegueroles *et al.*, 1995), além de processos estocásticos, tais como a deriva genética em combinação com fluxo gênico e com o isolamento geográfico (Endler, 1977).

Muitas espécies possuem distribuição ecogeográfica com variação clinal de caracteres de acordo com a latitude ou a longitude. Clines latitudinais para diversos caracteres foram encontrados em várias espécies de *Drosophila*, entre elas *D. melanogaster*, *D. robusta*, *D. simulans*, *D. obscura*, *D. subobscura* e *D. kikkawai* (referências em Gilchrist *et al.*, 2001 e Debat *et al.*, 2003). As evidências mais convincentes de clines formados pela seleção climática provavelmente vêm dos muitos estudos sobre variação clinal latitudinal em *D. melanogaster* (Umina *et al.*, 2005), na qual foi encontrada variação clinal no comprimento da asa e na frequência de inversões e alozimas (Van't Land *et al.*, 2000). Em estoques de moscas coletadas ao longo de um cline latitudinal, o cline se repete na progênie criada no laboratório, independentemente

da temperatura de criação, indicando haver influência genética, além da ambiental (Van't Land *et al.*, 2000; Kennington *et al.*, 2003).

Endler (1986) aponta que a observação de uma correlação paralela (e.g. tamanho x latitude) em duas ou mais espécies diferentes sugere fortemente que estas espécies são afetadas por fatores ambientais similares e que os padrões observados não refletem o impacto do acaso, mas sim da seleção natural. Em *Drosophila*, a repetibilidade de clines de tamanho corporal em diferentes espécies e na mesma espécie através de diferentes continentes é tomada como forte evidência de que as diferenças genéticas subjacentes a estes clines são causadas primariamente pela seleção natural, ao invés de pela deriva genética, a dispersão ou outros aspectos da história natural destas espécies (Partridge & French, 1996; Gilchrist *et al.*, 2001; Gockel *et al.*, 2001, 2002; Santos *et al.*, 2004).

1.1.1. Influência da temperatura

A relação entre temperatura ambiental e tamanho corporal tem intrigado os biólogos por mais de um século, e a descoberta de padrões amplamente distribuídos em diversos táxons tem causado uma ressurgência de interesse ao longo da última década (Angilletta *et al.*, 2004). As espécies de grande distribuição geográfica exibem, muitas vezes, clines termais de tamanho corporal, sendo maiores em ambientes mais frios, um padrão que também já foi confirmado diversas vezes em experimentos de laboratório utilizando condições padronizadas de temperatura (Partridge & French, 1996; Ashton, 2004). Isto foi observado não só em espécies de clima temperado, no qual há maior variação de temperatura ambiental no decorrer do ano (Anderson, 1966, 1973; Pegueroles *et al.*, 1995; Santos *et al.*, 2004), mas também em espécies tropicais

(Powell, 1974; French *et al.*, 1998). Este padrão de variação geográfica do tamanho corporal é consistente com a versão intraespecífica da regra de Bergmann (1847), que afirma que as raças de uma espécie tendem a ser maiores em ambientes mais frios (para uma revisão este conceito, veja Ashton, 2004). A regra de Bergmann se referia originalmente à variação geográfica clinal de espécies endotérmicas, mas descobriu-se que ela se estende a organismos ectotérmicos. Estes clines evoluem repetida e previsivelmente, e, por isso, muitos os consideram adaptativos (Partridge & Coyne, 1997; Huey *et al.*, 2000). No entanto, ainda existe muito debate sobre este assunto; o fato de os clines de Bergmann evoluírem rapidamente depois da introdução de espécies em novos continentes constitui uma evidência indireta de seu caráter adaptativo (*e.g.* *D. subobscura*: Huey *et al.*, 2000, Gilchrist *et al.*, 2001), mas isto também pode ser explicado por processos fisiológicos básicos, tais como restrições a processos celulares, ou pela plasticidade fenotípica (Atkinson & Sibly, 1997; Partridge & Coyne, 1997; Huey *et al.*, 2000). Ambientes que restringem o crescimento (*e.g.* escassez de alimento) geralmente produzem tamanhos corporais menores, mas as baixas temperaturas são uma notável exceção (Atkinson & Sibly, 1997). A natureza adaptativa dos clines só poderia ser demonstrada efetivamente através de evidências diretas de aumento do valor adaptativo de tamanhos corporais menores em ambientes mais quentes. Estas demonstrações são muito raras, e, até hoje, não existe qualquer estudo conclusivo neste sentido (Blanckenhorn & Demont, 2004). Além disto, há exceções documentadas à regra de Bergmann (*e.g.* Brehm & Fiedler, 2004).

Apesar de não ser incomum haver uma base genética para a divergência de tamanho corporal entre populações (Partridge & Coyne, 1997), a plasticidade fenotípica é provavelmente uma das maiores contribuintes para os clines geográficos de tamanho,

já que os experimentos laboratoriais mostraram que a redução da temperatura ambiental causa o aumento do tamanho dos adultos na maioria dos ectotermos estudados até o presente (Atkinson, 1994, 1995; Atkinson *et al.*, 2003). Esta plasticidade termal já foi observada em bactérias, protistas, plantas e animais, tornando-a uma das regras mais arraigadas da Biologia. Há autores que sugerem que a plasticidade fenotípica seja, ela mesma, fruto da seleção natural (e.g. Fischer & Fiedler, 2002; Danks, 2006).

1.2. Clines em espécies invasoras

Acredita-se que *D. melanogaster* se originou no leste da África, colonizando então a Eurásia, e apenas recentemente a Austrália e a América (Lemeunier *et al.*, 1986; David & Capy, 1988; Hale & Singh, 1991; Capy *et al.*, 1993). Espécies recentemente introduzidas que rapidamente colonizam grandes áreas oferecem uma oportunidade especial para estudar tanto a velocidade quanto a previsibilidade da evolução em uma escala geográfica. Em *D. subobscura*, que invadiu a América há apenas 20 anos, já houve a rápida evolução de um cline latitudinal de tamanho corporal semelhante ao encontrado em populações nativas desta espécie na Europa (Huey *et al.*, 2000; Gilchrist & Huey, 2004). Em *D. melanogaster*, clines latitudinais morfológicos e moleculares já foram encontrados e reiterados em múltiplas regiões do mundo: América do Norte (Coyne & Beecham, 1987; Capy *et al.*, 1993), Europa Ocidental e África (Capy *et al.*, 1993), Europa Oriental e Ásia (Imasheva *et al.*, 1994), costa oeste da América do Sul (Van't Land *et al.*, 1995) e Austrália (James *et al.*, 1995). No entanto, ainda não existe estudo semelhante para a costa leste da América do Sul.

Populações de *Drosophila* são capazes de evoluir rapidamente quando mantidas em laboratório (Cavicchi *et al.*, 1985; Partridge *et al.*, 1994, Santos *et al.*, 2005). Experimentos feitos com populações mantidas a temperaturas diferentes no laboratório têm mostrado que os caracteres biométricos de algumas espécies de *Drosophila* podem mudar significativamente em poucos anos (Pegueroles *et al.*, 1995). Entretanto, o significado adaptativo dos padrões encontrados permanece obscuro (Gilchrist *et al.*, 2001). Estes experimentos sugerem que os clines latitudinais para o tamanho das asas, observados no campo, podem refletir a ação da seleção a favor de tamanho corporal maior nas temperaturas mais baixas associadas ao aumento da latitude, reforçando a natureza adaptativa de clines para tamanho corporal de acordo com a temperatura. No entanto, a convergência deste padrão observado em diferentes regiões do mundo pode ter ocorrido através de mecanismos diferentes em cada local (Gilchrist & Partridge, 1999, 2001; Huey *et al.*, 2000).

Desta forma, as espécies invasoras representam uma rara oportunidade de estudar processos adaptativos que ocorreram em espaços de tempo relativamente pequenos. Das espécies invasoras, nenhuma é tão bem estudada quanto *Drosophila melanogaster*. Entretanto, pouco se sabe sobre as populações "naturais" desta espécie no Brasil: uma revisão bibliográfica revelou-se infrutífera, ressaltando-se um artigo de nosso grupo (Montenegro *et al.*, 2000).

I.3. Variação morfológica

A presença da variabilidade genética é o principal pressuposto do Darwinismo. Sem ela, a seleção natural não pode ser efetiva. Segundo o teorema fundamental da seleção natural de Fisher (1930), a taxa de evolução devida à seleção

natural e o aumento do valor adaptativo de uma população são determinados pela extensão de sua variabilidade genética.

A morfologia é provavelmente onde se torna mais evidente a presença de adaptações, geradas pela seleção natural. Conseqüentemente, uma boa maneira de tentar compreender aspectos da seleção natural e da evolução é através da análise da variabilidade morfológica e sua base genética.

Caracteres morfológicos, comumente, representam alvos diretos da seleção natural, e, por isso, podem revelar dados interessantes que não poderiam ser obtidos através de marcadores moleculares neutros (Cain & Sheppard, 1954; Loh & Bitner-Mathé, 2005). Por este motivo, as asas de *Drosophila* têm tradicionalmente sido usadas no estudo dos efeitos da seleção natural sobre populações naturais (Bitner-Mathé & Klaczko, 1999b; Hoffmann & Shirriffs, 2002). A asa de *Drosophila* é um bom modelo para isso por diversas razões. Os detalhes de seu desenvolvimento são bem compreendidos e seu padrão de venação é altamente conservado, possibilitando a identificação de muitos *landmarks* (pontos de referência, ver Bookstein *et al.*, 1985) que serão homólogos não só entre os indivíduos da mesma espécie como também entre indivíduos de várias espécies de drosofilídeos (Debat *et al.*, 2003). Além disso, muitos dos caracteres das asas de *D. melanogaster* apresentam correlação genética superior a 0,90 entre si (Cowley *et al.*, 1986). O tamanho da asa é altamente correlacionado com o tamanho geral do corpo, e sua bidimensionalidade faz com que possa ser medida com muito mais precisão do que outras medidas corporais. Ela também não varia com a idade, a nutrição ou o estado reprodutivo do adulto, ao contrário do peso corporal (Kennington *et al.*, 2003). A forma da asa também já foi utilizada para estudar a variação quantitativa em populações naturais de *Drosophila* (Bitner-Mathé & Klaczko,

1999b; Gilchrist *et al.*, 2000; Hoffmann & Shirriffs, 2002, Moraes *et al.*, 2004). Alguns estudos sugerem uma possível natureza adaptativa deste caráter, baseados em padrões clinais observados na asa ou em respostas a condições laboratoriais (Imasheva *et al.*, 1995; Azevedo *et al.*, 1998; Gilchrist *et al.*, 2000; Gilchrist & Partridge, 2001; Hoffmann & Shirriffs, 2002; Matta & Bitner-Mathé, 2004).

As asas de *Drosophila* possuem um formato elíptico. Com isto, o tamanho e a forma da asa podem ser caracterizados através dos parâmetros de uma elipse a ela ajustada (Klaczko & Bitner-Mathé, 1990; Klaczko, 2006) (figura 1). Em síntese, uma medida de tamanho da asa (**SI**), independente da sua forma, pode ser obtida através da média geométrica dos dois eixos da elipse (eixo maior = **a**; eixo menor = **b**; **SI** = $\sqrt{ab}$). Esta medida é igual ao raio da circunferência de mesma área que a elipse. Por outro lado, a razão **b/a** é uma medida de forma da elipse (**SH**), independente de seu tamanho. Este método também possibilita a determinação da posição das extremidades e intersecções das veias da asa, através de suas coordenadas polares: a coordenada radial **r** – a distância do ponto à origem do sistema cartesiano, tomado como sendo o centro da elipse – e a coordenada angular θ – o ângulo entre a reta que une o ponto à origem e a abscissa do sistema, medido em sentido anti-horário (Weisstein, 2004; Klaczko, 2006) (figura 1). No caso das extremidades das veias, pode-se utilizar apenas a coordenada angular, pois, sabendo-se os valores de θ , **a** e **b**, o valor de **r** pode ser prontamente calculado através da fórmula $r = (ab)/\sqrt{[a^2 - (a^2 - b^2) \cos^2(\theta)]}$. Desta forma, a posição do ponto pode ser precisamente descrita através de um único parâmetro (θ), que tem a vantagem adicional de não ser redundante com o tamanho das asas (**SI**) (Klaczko & Bitner-Mathé, 1990; Bitner-Mathé & Klaczko, 1999a,c; Klaczko, 2006). No entanto, ambas as coordenadas polares devem ser utilizadas na descrição dos pontos

internos (intersecções das veias). Para obter um parâmetro independente do tamanho para estes pontos, deve-se padronizar a coordenada radial (r), dividindo-a pelo valor de SI . (Moraes *et al.*, 2004; Klaczko, 2006).

I.4. Herdabilidade

A proporção da variação de caracteres quantitativos devida ao componente genético aditivo, geralmente expressa como herdabilidade, é importante para a diferenciação morfológica entre populações. O sucesso da seleção depende da herdabilidade dos caracteres selecionados. Estudos de variação morfológica entre populações baseados em características não herdáveis avaliam, na realidade, apenas fontes ambientais e residuais de variação, as quais têm pouca importância na evolução morfológica. A herdabilidade *strictu sensu* (h^2) é uma medida conveniente para a proporção da variação fenotípica que se deve à variância genética aditiva, representando um dos parâmetros centrais utilizados na genética quantitativa (Falconer & Mackay, 1996; Roff, 1997). Medir a herdabilidade de caracteres em populações naturais torna possível a identificação das taxas e direções da evolução a curto prazo na natureza. Já existem alguns estudos tratando da herdabilidade da morfologia da asa em *Drosophila* (Bitner-Mathé & Klaczko 1999a,b; Hoffmann & Shirriffs, 2002; Matta & Bitner-Mathé, 2004; Moraes & Sene, 2004; Moraes *et al.*, 2004).

É importante saber se a variação herdável é tão abundante na natureza quanto em populações domesticadas ou de laboratório. Em geral, admite-se que as herdabilidades no campo serão mais baixas que as de laboratório. Esta conclusão é baseada na premissa de que a variância ambiental é maior na natureza e isso aumentará a variância fenotípica relativamente à variância genética aditiva (Coyne &

Beecham, 1987; Falconer & Mackay, 1996). As estimativas de herdabilidade empregando animais criados em laboratório geralmente mostram valores altos (Roff & Mousseau, 1987), podendo ocorrer superestimativas causadas pelo ambiente comum e pela variância devida à dominância ($2[1/2V_A + 1/4V_D + V_{Ec}]/V_P$) (Moraes & Sene, 2004). Consistentemente, em geral as estimativas de herdabilidade no campo (herdabilidade natural) são relativamente modestas (Coyne & Beecham, 1987; Gibert *et al.*, 1998; Bitner-Mathé & Klaczko, 1999b; Matta & Bitner-Mathé, 2004). Este resultado pode se dever à maior variação ambiental presente no campo, como mencionado acima, ou então à presença de interações genótipo-ambiente (Bitner-Mathé *et al.*, 1995; Falconer & Mackay, 1996; Bitner-Mathé & Klaczko, 1999b; Matta & Bitner-Mathé, 2004). Por outro lado, em alguns estudos examinados por Weigensberg & Roff (1996), nos quais foram estimadas herdabilidades no campo e no laboratório, as herdabilidades naturais foram tão grandes quanto, ou até maiores que, as herdabilidades no laboratório. Isto sugere que as herdabilidades naturais não são necessariamente reduzidas pelo aumento da variância ambiental no campo (Lynch & Walsh, 1998).

Outra demonstração de que a causa da redução da herdabilidade não é necessariamente a maior variância ambiental no campo foi feita por Matta e Bitner-Mathé (2004), que mostraram que a herdabilidade de caracteres da asa de *D. simulans*, especialmente o tamanho, pode ser influenciada pela magnitude da diferença entre os ambientes nos quais pais e filhos se desenvolveram, ao invés de pela diferença de variância entre os dois ambientes. Neste trabalho, tanto a geração parental quanto a progênie foram mantidas em temperatura constante, e quanto maior foi diferença entre a temperatura de criação dos parentais (16,5°C) e a temperatura de criação da prole (16,5°C, 20°C ou 30°C), menor foi a herdabilidade observada (0,28, 0,04 e 0,02,

respectivamente). Como ambas as gerações foram mantidas em condições padronizadas, sem diferença significativa entre os valores de variância fenotípica, uma possível explicação é a ocorrência de interação genótipo-ambiente, no caso a interação genótipo-temperatura (Falconer & Mackay, 1996).

Estudos de herdabilidade natural podem ser feitos através da correlação entre caracteres parentais e os de sua prole no campo, mas, para muitos animais, incluindo *Drosophila*, isto é logisticamente impossível. Uma outra forma de estimar herdabilidade natural é correlacionar caracteres de indivíduos coletados no campo com os de sua prole criada em laboratório (Coyne & Beecham, 1987). No entanto, a regressão dos valores das filhas criadas no laboratório no das mães coletadas no campo só é confiável quando a variância genética aditiva estimada é similar em diferentes ambientes e quando não há interação genótipo-ambiente (Riska *et al.*, 1989).

1.5. Interação Genótipo-ambiente

Na genética quantitativa clássica, é de costume presumir que o componente ambiental (E) do fenótipo (P) é independente do efeito genético (G), sendo o fenótipo final uma simples soma destes dois componentes ($P = G + E$) (Falconer & Mackay, 1996; Lynch & Walsh, 1998). Nas populações naturais, os caracteres quantitativos geralmente se encontram sob seleção estabilizadora, na qual espera-se um declínio da variância fenotípica ao longo das gerações. No entanto, os resultados experimentais obtidos ao longo de muitos anos revelam que a variabilidade fenotípica é, muitas vezes, mantida mesmo em populações altamente endogâmicas. Isto mostra que abordagens simplistas baseadas na equação acima, que pressupõe uma variância ambiental constante, não permitem uma boa compreensão dos fatores que determinam e mantêm

a variabilidade genética e fenotípica de uma população (Falconer & Mackay, 1996). É necessário levar em consideração outros fatores que influenciam o componente ambiental da variabilidade, tais como as interações genótipo-ambiente (Zhang, 2005).

A interação genótipo-ambiente se dá quando o efeito de um determinado genótipo não é fixo, mas varia de acordo com o ambiente no qual é expresso. Isto gera uma norma de reação específica para cada genótipo, *i.e.* um conjunto de resultados diferentes observados com a expressão do genótipo em diferentes ambientes (Lewontin, 2000). Esta variação de efeito é muito similar ao conceito de plasticidade fenotípica, sendo os dois conceitos muitas vezes considerados sinônimos. As interações genótipo-ambiente são comumente observadas em vários caracteres quantitativos, inclusive aqueles ligados à aptidão. Trata-se de um fenômeno geneticamente controlado e que responde à seleção, o que indica que esta seja uma propriedade fundamental das populações naturais. Um exemplo de interação genótipo-ambiente observada no campo é o trabalho de Bitner-Mathé *et al.* (1995), no qual cariótipos para arranjos gênicos do segundo cromossomo de *D. mediopunctata* tiveram influência diferente no tamanho corporal das moscas dependendo do mês em que foram coletadas. Neste trabalho, os dois cariótipos relacionados às maiores moscas coletadas em agosto estiveram relacionados às menores moscas coletadas em março do ano seguinte.

Para aumentar suas chances de sobrevivência e reprodução em diferentes condições ambientais, uma população que ocupa ambientes espacial ou temporalmente heterogêneos deve possuir uma constituição genética que permita a adaptação da variabilidade fenotípica a diversos ambientes. Em uma população geneticamente variável, cada genótipo pode estar melhor adaptado a um determinado conjunto de

condições ambientais, que podem ou não se sobrepor. Intuitivamente, espera-se que a variabilidade fenotípica de uma população frente a um ambiente heterogêneo evolua de forma que o valor fenotípico médio em cada conjunto de condições ambientais seja o mais próximo possível do valor ótimo (Zhivotovsky *et al.*, 1996). Desta forma, a interação genótipo-ambiente pode ter papel importante na manutenção da variabilidade genética. Baseando-se nisto, Gillespie e Turelli (1989) elaboraram um modelo para a interação genótipo-ambiente em ambientes heterogêneos, partindo do pressuposto de que ambientes diferentes poderão favorecer genótipos diferentes. Este modelo ficou fortalecido com o trabalho de Zhivotovsky e Gavrillets (1992), no qual os autores chegaram à conclusão de que genótipos diferencialmente sensíveis a ambientes heterogêneos podem manter a variabilidade genética. Modelos subseqüentes, tais como o de Zhang (2005) também mostram que a plasticidade em ambientes heterogêneos pode contribuir para o aumento da aptidão de uma população.

A interação genótipo-ambiente não se aplica somente a estudos teóricos sobre evolução e adaptação. Trata-se também de um fenômeno de grande importância econômica. No campo da agropecuária e do melhoramento genético vegetal e animal, a presença de interação genótipo-ambiente faz com que nem sempre seja possível determinar um cultivar ou raça universalmente superior aos demais e que, portanto, seja mais apropriado para qualquer ambiente de cultivo ou criação (veja exemplos em: Rorato *et al.*, 2000; Gonçalves *et al.*, 2003).

1.6. Inversões cromossômicas

As frequências das inversões cromossômicas em *Drosophila* configuram-se, muitas vezes, em clines latitudinais estáveis associados a variáveis climáticas, que se

repetem em vários continentes (Knibb, 1982). Isto é reforçado pelo fato de que já foram encontrados padrões clinais altitudinais análogos aos padrões latitudinais clássicos (Bitner-Mathé & Klaczko, 1999b; Collinge *et al.*, 2006), ou seja, é bem provável que estes padrões sejam ocasionados por fatores climáticos. Estes clines sugerem prováveis efeitos benéficos associados às inversões. Além disso, dado que existem clines latitudinais ocorrendo paralelamente para o tamanho corporal e a frequência de determinadas inversões, é altamente plausível que haja uma associação entre os dois fatores (Hoffmann *et al.*, 2004). Por exemplo, em *D. melanogaster* foram observados clines particularmente íngremes para *In(3R)P*, sugerindo que uma possível seleção latitudinal agindo sobre esta inversão seria especialmente forte (Anderson *et al.*, 2005; Kennington *et al.*, 2006).

A hipótese de que inversões cromossômicas e morfologia podem estar correlacionadas foi primeiramente proposta por Stalker e Carson (1947). Desde então, diversos estudos têm revelado efeitos significativos das inversões sobre caracteres morfológicos (veja revisões em Weeks *et al.*, 2002 e Hoffmann *et al.*, 2004). Em *Drosophila*, alguns dos caracteres cuja variação já foi associada a inversões cromossômicas são viabilidade, tempo de desenvolvimento, longevidade, sucesso sexual, fecundidade, número de cerdas, resistência a frio e calor, tamanho corporal e polimorfismos de pigmentação (Hatadani *et al.*, 2004; Hoffmann *et al.*, 2004). As associações entre inversões e tamanho corporal são especialmente comuns, tendo sido demonstradas em várias espécies do gênero *Drosophila*.

Em *D. melanogaster*, a inversão *In(2L)t* já foi associada ao peso corporal (Van Delden & Kamping, 1991) e *In(3L)P* já foi ligada à resistência ao frio (Weeks *et al.*, 2002), mas o efeito mais marcante já encontrado é o efeito do braço direito do

cromossomo 3 – região que contém a inversão cosmopolita *In(3R)P* – sobre o tamanho corporal. Este efeito já foi documentado na Austrália e na costa oeste da América do Sul por diversos autores (Gockel *et al.*, 2002; Weeks *et al.*, 2002; Calboli *et al.*, 2003). No entanto, até hoje a associação entre *In(3R)P* e o tamanho corporal de *D. melanogaster* só foi demonstrada indiretamente, geralmente através do uso de marcadores moleculares sabidamente ligados à inversão ou contidos nela (Gockel *et al.*, 2002; Weeks *et al.*, 2002; Calboli *et al.*, 2003), mas, já que não existe um marcador específico para *In(3R)P*, não se sabe se os marcadores utilizados estavam sempre associados à presença da inversão (Weeks *et al.*, 2002). No entanto, até agora, o cariótipo para *In(3R)P* – a inversão mais fortemente ligada ao tamanho corporal – e o tamanho corporal do mesmo conjunto de moscas nunca foram analisados simultaneamente. Talvez, por isto mesmo, ainda que fartamente documentada a influência da região cromossômica contendo *In(3R)P* sobre o tamanho corporal, não há testes na literatura para interação genótipo-ambiente no efeito desta inversão.

I.7. Objetivos

Os objetivos deste trabalho são:

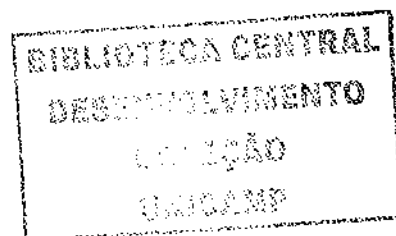
I.7.I. Caracterizar e comparar a variação geográfica de duas grandes fontes de variação morfológica – tamanho e forma das asas - em três populações naturais de *Drosophila melanogaster* distribuídas por uma grande amplitude latitudinal ao longo da costa brasileira, utilizando para isso o método da elipse.

I.7.II. Caracterizar e comparar a variação temporal de tamanho e forma das asas em duas destas populações.

I.7.III. Estimar a herdabilidade natural destes caracteres (tamanho e forma das asas) em cada uma das populações estudadas, além de examinar sua consistência ao longo do tempo nas populações em que foram feitas múltiplas coletas.

I.7.IV. Verificar a possível associação de algumas inversões cromossômicas comuns com a variação morfológica encontrada.

I.7.V. Verificar se há interação genótipo-ambiente entre o efeito causado pelas inversões examinadas e a data ou o local de coleta.



II. Materiais e Métodos

II.1. Coleta e preparação do material

Para a realização deste trabalho, nossa estratégia inicial foi focalizada em realizar coletas múltiplas de machos e fêmeas de *Drosophila melanogaster* nas cidades de Recife (PE) e Rio de Janeiro (RJ), devido a facilidades logísticas para a obtenção de material nestes locais. Posteriormente, tivemos a oportunidade de acrescentar uma coleta única realizada em Porto Alegre (RS). Idealmente, locais adicionais de coleta deveriam ser incluídos no trabalho, mas o tempo disponível para tal foi um dos fatores limitantes. As localidades de coleta foram escolhidas por serem cidades litorâneas, para minimizar possíveis efeitos da altitude sobre os resultados obtidos.

Com isso, machos e fêmeas de *D. melanogaster* foram coletados em três localidades ao longo da costa brasileira: Recife-PE (8°11'S, 34°55'O), Rio de Janeiro-RJ (22°54'S, 43°16'O) e Porto Alegre-RS (30°02'S, 51°13'O). No Recife e no Rio de Janeiro foram feitas múltiplas coletas ao longo do ano de 2004 e primeiros sete meses de 2005, de forma a possibilitar uma análise de variação temporal.

As fêmeas coletadas no campo foram colocadas individualmente em frascos contendo meio de cultura padrão e mantidas à temperatura constante de 24°C. A manutenção de todas as moscas em temperatura igual e constante, e em meio padronizado, minimiza a variação ambiental entre moscas de diferentes origens e, por isso, admite-se que as diferenças entre elas podem ser atribuídas a fatores genéticos.

A cada dois dias, estas moscas foram repicadas, obtendo-se um total de três frascos com a F1 de cada fêmea. Como a discriminação entre fêmeas de *D.*

melanogaster e *D. simulans* é muito difícil pela simples observação morfológica, cada linhagem foi analisada para confirmar a espécie como sendo de fato *D. melanogaster*, através da análise da genitália dos machos da F1. As mães e até três fêmeas F1 foram tomadas de cada linhagem isofêmea e conservadas em álcool 70%.

Os machos foram cruzados individualmente no laboratório com três fêmeas virgens de uma linhagem homocariotípica de composição genética conhecida (Peixoto & Klaczko, 1991; Bitner-Mathé *et al.*, 1995) e posteriormente conservados em álcool 70%. As datas e tamanhos amostrais de cada coleta estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Datas e tamanhos amostrais de cada coleta realizada. Mães: número de fêmeas fertilizadas obtidas no campo; lrm2+: número de linhagens cuja F1 apresentou duas ou mais fêmeas, possibilitando análises completas de herdabilidade; Machos: número de machos obtidos no campo cujo genótipo pôde ser determinado através de cruzamentos.

Data	Local	Mães	lrm2+	Machos
Janeiro 2004	Recife	70	53	-
Abril 2004	Recife	84	57	49
Setembro 2004	Recife	28	27	-
Novembro 2004	Recife	70	62	47
Janeiro 2005	Recife	89	78	49
Abril 2005	Recife	33	28	-
Julho 2005	Recife	47	38	-
Março 2004	Rio de Janeiro	53	45	49
Setembro 2004	Rio de Janeiro	41	31	-
Novembro 2004	Rio de Janeiro	61	57	62
Maio 2005	Porto Alegre	102	102	36

II.2. Obtenção dos dados

A asa esquerda de cada mosca foi retirada e montada em uma lâmina de microscopia, sendo em seguida fotografada com ampliação de 16x através de uma câmera de vídeo acoplada a uma lupa. O programa TpsDig v1.40 (Rohlf, 2004) foi utilizado para tomar as coordenadas cartesianas de 30 pontos ao longo do contorno das asas. Para a obtenção de dados de tamanho e forma das asas, foi ajustada uma elipse sobre estes pontos, conforme o método descrito por Klaczko & Bitner-Mathé (1990). Além disto, a posição dos pontos das extremidades das veias da asa, totalizando 5 pontos (figura 2), foi estimada usando-se a coordenada angular (θ_A , θ_B , etc.), distância angular de cada um destes pontos ao eixo maior da elipse (veja Bitner-Mathé & Klaczko, 1999a). Todos os parâmetros foram estimados usando o programa ASALK v2.0 (L. B. Klaczko, 1999). Para os cinco pontos internos de intersecção das veias de cada asa (F, G, H, I e J), além das coordenadas angulares, foram tomadas suas coordenadas radiais (distância linear ao centro da elipse r_F a r_J). Estas, por sua vez, foram padronizadas pelo valor obtido para SI , obtendo-se as variáveis D_F a D_J (e.g. $D_F = r_F/SI$). Os valores de a , b e SI foram convertidos para milímetros (mm).

II.3. Análise dos dados

Os programas Systat v10.0 (Systat Software Inc., 2000) e Minitab v14 (Minitab Inc., 2004) foram utilizados em todas as análises estatísticas.

As comparações entre coletas e entre localidades foram feitas para as mães e as filhas separadamente, através de análises de variância tendo por variável independente a data ou a localidade de cada coleta. Diferenças par a par foram analisadas através do teste *post hoc* de Tukey.

O estudo da variação latitudinal foi feito em três partes: uma parte principal, abrangendo as três localidades amostradas, e duas partes secundárias, nas quais figuraram apenas Rio de Janeiro e Recife (os locais em que foram feitas múltiplas coletas). Apenas uma coleta de cada localidade foi utilizada em cada análise. Para a análise principal, foram escolhidas as coletas do Rio de Janeiro e do Recife feitas na época do ano mais próxima da data da coleta única de Porto Alegre (maio 2005). No caso, as coletas utilizadas foram as de março de 2004 (Rio de Janeiro) e abril de 2004 (Recife). As duas análises secundárias foram feitas a partir das coletas de setembro e novembro de 2004 nestas duas localidades.

No que diz respeito à herdabilidade, a variação temporal foi testada através de uma análise de covariância com interação. Para cada parâmetro em estudo, a variável dependente foi seu valor nas filhas, a variável independente foi a coleta (testa o efeito temporal) e a co-variável foi o valor do parâmetro nas mães (permitindo testar a herdabilidade). A interação "coleta-mães" testa a variação da herdabilidade ao longo do tempo. Uma análise semelhante foi feita por Bitner-Mathé & Klaczko (1999b). A herdabilidade no laboratório foi calculada como o dobro do coeficiente de correlação intraclasses entre irmãs e, para o cálculo da herdabilidade natural, utilizamos a regressão do valor das médias das variáveis nas irmandades no das mães.

O efeito das inversões cromossômicas sobre caracteres de tamanho e forma foi estudado usando os machos trazidos do campo, cujos cariótipos para os arranjos gênicos dos cromossomos X, II e III foram determinados através da análise dos cromossomos politênicos das glândulas salivares de até oito larvas F1 (Arnold, 1981; Klaczko, 1995). A análise citológica foi feita pela Dra. Galina Ananina em nosso laboratório. Análises de variância para parâmetros da asa foram realizadas para testar

o efeito das inversões. Cada macho teve seu cariótipo codificado de acordo com o seguinte critério: o cariótipo padrão recebeu o valor zero, o heterozigoto valor um e o homozigoto para a inversão valor dois. Para cada inversão, um segundo agrupamento foi feito, formando dois grupos: um contendo apenas as moscas com cariótipo padrão (+/+) e outro contendo aquelas apresentando pelo menos um cromossomo invertido. Desta forma, foi feita uma análise de variância para tentar verificar um possível efeito do cariótipo para inversões (definido como variável categórica) sobre as variáveis morfológicas analisadas, em cada coleta individual, em cada localidade (neste caso foi feita uma ANOVA aninhada para discriminar o efeito devido a diferenças entre coletas), e em todas as coletas tomadas em conjunto.

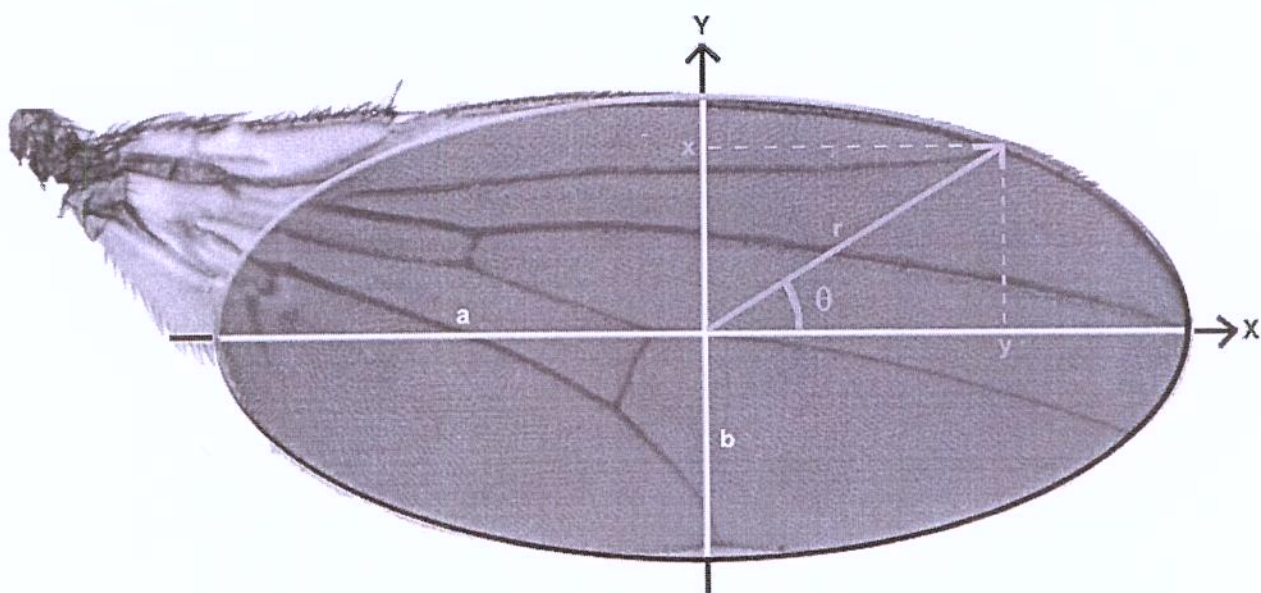


Figura 1 – Elipse ajustada a uma asa de *Drosophila melanogaster*. a e b = raios da elipse; r e θ = coordenadas radial e angular de ponto na borda da asa.

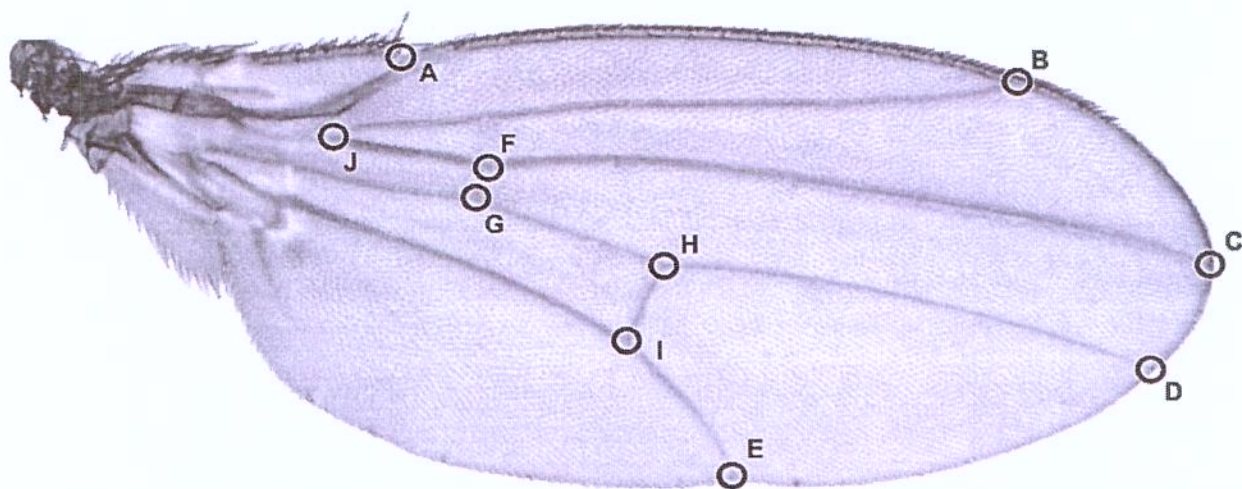


Figura 2 – Asa de *D. melanogaster*. A a J são landmarks nas extremidades e pontos de intersecção das veias.

III. Resultados e Discussão

Analizamos sete coletas realizadas no Recife (janeiro, abril, setembro e novembro de 2004; janeiro, abril e julho de 2005), três no Rio de Janeiro (março, setembro e novembro de 2004) e uma em Porto Alegre (maio de 2005). Em todas as tabelas apresentadas: a e b são os eixos maior e menor da elipse, respectivamente; θ_A a θ_J : distância angular dos pontos A a J; Sl : tamanho da asa; SH : forma da asa; D_F a D_J : distância entre cada ponto interno (F a J) ao centro da elipse, padronizada por Sl .

III.1. Variação latitudinal

Na tabela 2 estão apresentadas as médias de cada variável em cada localidade, sendo os valores mostrados para Rio de Janeiro e Recife a média de todos os indivíduos coletados ou nascidos durante o trabalho. As médias de cada variável analisada para as coletas utilizadas na análise principal de variação latitudinal (Porto Alegre – maio de 2005; Rio de Janeiro – março de 2004; Recife – abril de 2004) estão representadas na tabela 3.

III.1.1. Tamanho e forma das asas

Na análise principal da variação latitudinal entre as coletas, o tamanho corporal aumentou com o aumento da latitude, tanto no caso das mães quanto no das filhas (tabela 3). Isto significa que, em ambos os casos, as moscas de Porto Alegre foram maiores que as do Rio de Janeiro, que foram maiores que as do Recife. As análises secundárias de setembro e novembro de 2004 mostram que, no primeiro caso, houve diferença de tamanho entre as duas localidades, sendo as moscas do Rio de

Janeiro maiores que as do Recife, similarmente ao observado na análise principal. Esta diferença, porém, não foi observada em novembro (tabela 4).

O aumento do tamanho corporal com o aumento da latitude está de acordo com os resultados mais comumente encontrados na literatura (ver Introdução). A identificação em laboratório de padrões evolutivos é geralmente feita através da manutenção de organismos em condições uniformes, nos chamados experimentos de jardim comum. Isto separa o efeito imediato do ambiente dos efeitos genéticos sobre o caráter estudado (Hoffmann *et al.*, 2005). Sabe-se que a temperatura é um fator de grande influência no tamanho corporal, observando-se geralmente a associação entre aumento de tamanho e redução da temperatura.

No que diz respeito ao tamanho corporal, existe um paralelismo entre os clines geográficos observados em populações de *Drosophila* e a plasticidade fenotípica das mesmas em diferentes temperaturas, pois em ambos os casos são observadas moscas maiores em condições mais frias (Moreteau & David, 2005). A repetibilidade de clines de tamanho corporal através de continentes e espécies de *Drosophila*, juntamente com experimentos laboratoriais onde a adaptação a temperaturas mais baixas consistentemente produziu tamanhos corporais maiores, levou a maioria dos estudos a concluir que os clines geográficos de tamanho corporal em *Drosophila* são de fato resultado da adaptação a diferentes temperaturas (Santos *et al.*, 2004), mesmo não se sabendo o alvo exato da seleção (Atkinson, 1994; Atkinson & Sibly, 1997). A adaptação climática não se restringe ao tamanho. Em *D. melanogaster*, diversos outros caracteres quantitativos – tais como número de cerdas, número de ovariolos e pigmentação corporal – exibem clines latitudinais, apesar de não estarem diretamente relacionados ao tamanho corporal (Capy *et al.*, 1993; Gibert *et al.*, 2004).

No entanto, deve-se ter cautela com a interpretação destes resultados, pois eles podem estar comprometidos pela seleção artificial não intencional causada pela falta de controle sobre variáveis tais como a densidade larval, que afetam os estágios iniciais de vida. Com isto, as adaptações fisiológicas à temperatura podem não ser independentes das adaptações a diferentes níveis de densidade larval (Santos *et al.*, 2004). Neste caso, os diferentes níveis de excretas larvais (Borash *et al.*, 1998, 2000), assim como a variação na disponibilidade de alimento, covariam com as pressões seletivas ao determinar o processamento de recursos pelas larvas (Bochdanovits & de Jong, 2003a,b). Um estudo de seleção termal em *D. subobscura* com densidade larval controlada foi feito recentemente por Santos e colaboradores (2005), e, nestas condições, não se confirmou o cline de tamanho corporal previamente constatado (Huey *et al.*, 2000; Gilchrist *et al.*, 2001).

Em todas as análises realizadas, a variação latitudinal da forma só foi encontrada nas moscas vindas diretamente do campo (mães), na análise principal e em setembro de 2004 ($P_{SH} = 0,000$ e $0,001$, respectivamente). Ambos os casos indicam a ocorrência de asas progressivamente mais alongadas com o aumento da latitude. No primeiro, as asas das moscas de Porto Alegre foram mais alongadas que as do Rio de Janeiro e de Recife, que não apresentaram diferença significativa entre si mas apresentaram tendência na mesma direção. No segundo, as asas das moscas do Rio de Janeiro foram mais alongadas que as do Recife. Em geral, mesmo as análises com valores não significativos também seguiram esta tendência (tabelas 3 e 4). Estes resultados seguem a mesma tendência publicada recentemente por Matta & Bitner-Mathé (2004), que observaram uma relação direta entre o alongamento da forma das asas de *D. simulans* e a diminuição da temperatura. Ao submeter a temperaturas

diferentes (16.5°C, 20°C e 30°C) moscas de linhagens isofêmeas criadas a partir de uma coleta realizada na Chapada Diamantina (BA), as asas apresentaram-se mais alongadas em temperaturas menores. Isto sugere que a possível variação clinal encontrada por nós é causada pelo menos em parte pela temperatura, que, em média, diminui com o aumento da latitude. No caso particular, as temperaturas médias anuais são, para Recife, Rio de Janeiro e Porto Alegre, respectivamente, 25,5°C, 23,5°C e 19,5°C (fonte: br.weather.com).

Tabela 2 – Médias e desvios padrão para cada variável em mães e filhas das três localidades amostradas. Valores para *a*, *b* e *SI* em mm.

	Porto Alegre				Rio de Janeiro				Recife			
	MÃES		FILHAS		MÃES		FILHAS		MÃES		FILHAS	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
<i>a</i>	1,100	0,058	1,097	0,054	0,966	0,026	1,089	0,020	0,933	0,032	1,048	0,033
<i>b</i>	0,498	0,020	0,492	0,027	0,440	0,005	0,487	0,005	0,431	0,010	0,468	0,007
θ_A	0,658	0,040	0,666	0,035	0,654	0,013	0,671	0,013	0,655	0,010	0,681	0,008
θ_B	2,696	0,029	2,700	0,029	2,663	0,016	2,707	0,008	2,662	0,016	2,710	0,006
θ_C	3,158	0,010	3,159	0,011	3,159	0,001	3,156	0,002	3,163	0,002	3,167	0,008
θ_D	3,349	0,012	3,345	0,013	3,356	0,003	3,345	0,003	3,354	0,004	3,352	0,009
θ_E	4,425	0,060	4,401	0,063	4,449	0,024	4,406	0,016	4,428	0,021	4,371	0,017
θ_F	0,497	0,042	0,504	0,039	0,476	0,016	0,508	0,011	0,474	0,009	0,511	0,011
D_F	0,610	0,039	0,598	0,037	0,625	0,015	0,597	0,009	0,621	0,012	0,590	0,013
θ_G	0,314	0,034	0,320	0,029	0,298	0,009	0,324	0,009	0,288	0,009	0,328	0,020
D_G	0,614	0,040	0,599	0,040	0,623	0,014	0,594	0,007	0,621	0,010	0,589	0,010
θ_H	4,960	0,909	4,521	0,878	5,171	0,279	4,514	0,162	5,205	0,154	4,484	0,187
D_H	0,050	0,024	0,051	0,027	0,063	0,007	0,045	0,002	0,062	0,005	0,048	0,006
θ_I	5,022	0,141	4,923	0,156	5,087	0,053	4,959	0,036	5,086	0,036	4,935	0,035
D_I	0,291	0,018	0,289	0,018	0,296	0,009	0,285	0,005	0,299	0,005	0,283	0,007
θ_J	0,355	0,026	0,358	0,025	0,352	0,002	0,363	0,003	0,346	0,003	0,362	0,002
D_J	1,082	0,048	1,076	0,047	1,086	0,000	1,067	0,002	1,091	0,010	1,060	0,009
<i>SI</i>	0,740	0,033	0,735	0,036	0,652	0,013	0,728	0,010	0,634	0,018	0,699	0,015
<i>SH</i>	0,453	0,013	0,449	0,015	0,456	0,006	0,447	0,004	0,462	0,006	0,448	0,005

Tabela 3 – Análises de Variância para o efeito da localidade sobre variáveis de coletas de Porto Alegre (maio 2005), Rio de Janeiro (março 2004) e Recife (abril 2004). Os valores significativos ($P < 0,05$) estão em **negrito** (na análise das mães os graus de liberdade são 2 e 236; na das filhas, 2 e 550). Para cada localidade estão expressas as médias de cada variável. Valores de *a*, *b* e *SI* em milímetros.

	Mães			Filhas		
	F	P	P.Alegre / Rio / Recife	F	P	P.Alegre / Rio / Recife
<i>a</i>	253,091	0,000	1,100 ^a : 0,942 ^b : 0,879 ^c	74,845	0,000	1,097 ^a : 1,067 ^b : 1,038 ^c
<i>b</i>	266,585	0,000	0,498 ^a : 0,436 ^b : 0,411 ^c	63,600	0,000	0,492 ^a : 0,480 ^b : 0,467 ^c
θ_A	6,084	0,065	0,658 ^a : 0,647 ^{a,b} : 0,636 ^b	10,535	0,003	0,666 ^a : 0,663 ^a : 0,680 ^b
θ_B	49,464	0,000	2,696 ^a : 2,643 ^a : 2,636 ^b	8,608	0,020	2,700 ^a : 2,698 ^a : 2,711 ^b
θ_C	2,781	0,097	3,158 ^a : 3,159 ^a : 3,163 ^a	15,473	0,000	3,159 ^a : 3,155 ^b : 3,163 ^c
θ_D	11,914	0,001	3,349 ^a : 3,358 ^a : 3,360 ^b	3,567	0,088	3,345 ^a : 3,346 ^{a,b} : 3,349 ^b
θ_E	11,886	0,001	4,425 ^a : 4,468 ^a : 4,467 ^b	17,421	0,000	4,401 ^a : 4,412 ^a : 4,370 ^b
θ_F	18,372	0,000	0,497 ^a : 0,473 ^a : 0,457 ^b	0,063	0,941	0,504 ^a : 0,503 ^a : 0,503 ^a
D_F	14,572	0,000	0,610 ^a : 0,638 ^a : 0,644 ^b	6,741	0,028	0,598 ^a : 0,606 ^a : 0,589 ^b
θ_G	31,438	0,000	0,314 ^a : 0,290 ^b : 0,274 ^c	2,585	0,025	0,320 ^a : 0,316 ^a : 0,314 ^a
D_G	5,718	0,075	0,614 ^a : 0,631 ^{a,b} : 0,636 ^b	7,612	0,054	0,599 ^a : 0,598 ^a : 0,584 ^b
θ_H	10,342	0,004	4,960 ^a : 5,268 ^{a,b} : 5,495 ^b	0,392	0,637	4,521 ^a : 4,468 ^a : 4,445 ^a
D_H	10,090	0,006	0,050 ^a : 0,069 ^b : 0,066 ^b	1,150	0,328	0,051 ^a : 0,047 ^a : 0,047 ^a
θ_I	18,778	0,000	5,022 ^a : 5,114 ^b : 5,157 ^b	7,093	0,090	4,923 ^a : 4,975 ^b : 4,911 ^a
D_I	13,264	0,000	0,291 ^a : 0,304 ^b : 0,307 ^b	6,364	0,085	0,289 ^a : 0,290 ^a : 0,282 ^b
θ_J	8,287	0,033	0,355 ^a : 0,354 ^a : 0,340 ^b	1,873	0,158	0,358 ^a : 0,363 ^a : 0,362 ^a
D_J	3,060	0,073	1,082 ^a : 1,085 ^{a,b} : 1,099 ^b	16,643	0,000	1,076 ^a : 1,065 ^a : 1,049 ^b
<i>SI</i>	274,685	0,000	0,740 ^a : 0,641 ^b : 0,601 ^c	78,496	0,000	0,735 ^a : 0,716 ^b : 0,696 ^c
<i>SH</i>	23,226	0,000	0,453 ^a : 0,463 ^b : 0,468 ^b	0,701	0,436	0,449 ^a : 0,450 ^a : 0,450 ^a

Tabela 4 – Médias de cada variável nas mães e filhas de Recife e do Rio de Janeiro nas análises secundárias de setembro e novembro de 2004. Os casos de diferença significativa entre as duas localidades estão em **negrito**. Valores de *a*, *b* e *SI* em milímetros.

	Setembro 2004				Novembro 2004			
	Mães		Filhas		Mães		Filhas	
	Recife	RJ	Recife	RJ	Recife	RJ	Recife	RJ
<i>a</i>	0,935	0,995	1,049	1,108	0,979	0,961	1,115	1,090
<i>b</i>	0,433	0,447	0,467	0,490	0,445	0,438	0,483	0,490
θ_A	0,659	0,669	0,690	0,687	0,650	0,645	0,666	0,664
θ_B	2,659	2,671	2,716	2,713	2,679	2,674	2,702	2,709
θ_C	3,166	3,157	3,164	3,155	3,160	3,161	3,185	3,159
θ_D	3,360	3,353	3,349	3,342	3,353	3,357	3,373	3,349
θ_E	4,446	4,422	4,371	4,387	4,406	4,458	4,356	4,419
θ_F	0,480	0,494	0,518	0,521	0,473	0,461	0,500	0,499
D_F	0,617	0,608	0,585	0,586	0,608	0,629	0,601	0,598
θ_G	0,292	0,308	0,323	0,334	0,292	0,295	0,369	0,322
D_G	0,627	0,607	0,589	0,585	0,609	0,631	0,601	0,597
θ_H	5,193	4,856	4,398	4,380	5,044	5,390	4,602	4,694
D_H	0,068	0,055	0,046	0,042	0,053	0,064	0,062	0,045
θ_I	5,106	5,025	4,935	4,917	5,050	5,121	4,928	4,985
D_I	0,302	0,286	0,278	0,279	0,293	0,299	0,295	0,287
θ_J	0,347	0,353	0,363	0,366	0,348	0,349	0,361	0,359
D_J	1,099	1,087	1,061	1,066	1,075	1,086	1,059	1,071
<i>SI</i>	0,636	0,667	0,700	0,737	0,660	0,649	0,730	0,731
<i>SH</i>	0,464	0,450	0,446	0,442	0,455	0,456	0,447	0,450

A documentação de clines latitudinais pode servir como um bioindicador de mudanças climáticas. Em estudos realizados na Austrália, mudanças em relação a dados passados foram observadas no padrão clinal do polimorfismo *Adh*, assim como no da inversão cosmopolita *In(3R)P* (Anderson *et al.*, 2005; Umina *et al.*, 2005). Ambos apresentam freqüências correlacionadas com a temperatura e a precipitação. No decorrer de aproximadamente 20 anos, as freqüências tanto dos alelos de *Adh* quanto da inversão nos locais amostrados haviam mudado para valores previamente

encontrados em latitudes menores, *i.e.* mais quentes e secas. De fato, na Austrália a temperatura média das localidades litorâneas está aumentando a uma taxa de 0,1°C a 0,3°C a cada dez anos, enquanto a quantidade de chuvas tem diminuído de 10 a 70mm por ano. Como o tamanho corporal também é uma característica que exibe variação clinal associada a fatores climáticos, seria de grande interesse saber se um estudo semelhante abordando esta característica revelaria o mesmo tipo de resultado.

III.1.II Condições de desenvolvimento

O tamanho das asas (SI) das filhas foi significativamente maior que o das mães ($P \leq 0,01$) em todas as coletas com exceção da de Porto Alegre ($P = 0,246$) (tabela 2), enquanto que o coeficiente de variação das mães foi aproximadamente duas vezes maior que o das filhas em quase todos os casos (tabela 5).

O tamanho maior das filhas criadas em laboratório em relação ao tamanho das mães é um padrão geral já observado diversas vezes no passado (Prout & Barker, 1989; Ruiz *et al.*, 1991; Bitner-Mathé & Klaczko 1999a). É interessante, no entanto, a ausência de diferença de tamanho entre mães e filhas da coleta de Porto Alegre, que contradiz este padrão geral. Isto pode estar relacionado ao fato de que a temperatura de criação das filhas (24°C) foi mais alta que a temperatura máxima registrada em Porto Alegre nas duas semanas anteriores à coleta (período no qual provavelmente as moscas coletadas se desenvolveram), o que não ocorreu nas outras duas localidades. Com isto, a diferença de tamanho esperada pela criação em condições mais favoráveis no laboratório pode ter sido contrabalançada pelo aumento de tamanho causado pelas baixas temperaturas vividas pelas mães durante o desenvolvimento.

Tabela 5 – Coeficientes de variação (CV) para o tamanho (Sl) de mães e filhas, dentro de cada coleta e entre coletas da mesma localidade.

	Coleta	CV Mães	CV Filhas	CV Mães/ CV Filhas
R E C I F E	Jan/04	0,077	0,038	2,04
	Abr/04	0,065	0,03	2,14
	Set/04	0,089	0,035	2,54
	Nov/04	0,054	0,029	1,88
	Jan/05	0,062	0,032	1,93
	Abr/05	0,038	0,042	0,90
	Jul/05	0,074	0,035	2,11
	CV médio	0,057	0,030	1,93
	CV entre coletas	0,029	0,022	1,32
R J	Mar/04	0,090	0,042	2,16
	Set/04	0,091	0,030	3,00
	Nov/04	0,088	0,028	3,12
	CV médio	0,089	0,033	2,76
	CV entre coletas	0,020	0,014	1,14
PoA	Mai/05	0,045	0,050	0,90

Uma vez que o tamanho das asas é fortemente influenciado pelas condições ambientais, a diferença observada em quantidade de variação entre mães e filhas é, provavelmente, causada pela constância ambiental gerada pela criação em laboratório. Estes resultados mostram semelhanças notáveis com os achados em *D. mediopunctata*, espécie nativa de mata no Brasil e de biologia bastante distinta da de *D. melanogaster* (Klaczko, 1995; Bitner-Mathé & Klaczko, 1999a,b). Para as mães, as médias dos coeficientes de variação das coletas foi diferente entre as duas localidades ($t = -3,72$; G.L. = 6.3; $P = 0,009$ [teste para variâncias diferentes]), assim como a variação nos coeficientes de variação médios entre coletas ($P = 0,443$). O mesmo não ocorreu para as filhas (coeficientes de variação médios - $t = 0,25$; G.L. = 2.7 $P = 0,823$ [teste para variâncias diferentes]; coeficientes de variação entre coletas - $P = 0,772$).

Este resultado era o esperado, intuitivamente, pois enquanto as condições de desenvolvimento das filhas de ambas as localidades foram iguais, o mesmo não pode ser dito para as mães. A cidade do Rio de Janeiro apresenta uma variação de temperatura anual bem maior que a do Recife (veja figura 3). Sabendo que a temperatura tem grande influência sobre o tamanho corporal de *Drosophila*, seria de se esperar que o coeficiente de variação entre coletas das moscas provindas destas localidades refletisse esta diferença. Nas mães, a diferença que encontramos entre os coeficientes de variação médios entre coletas foi significativa, mas a maior diferença foi observada entre os coeficientes de variação médios observados dentro de cada coleta. O coeficiente maior encontrado no Rio de Janeiro sugere que esta localidade apresenta não só maior heterogeneidade temporal, como também uma maior heterogeneidade espacial em comparação com a encontrada no Recife.

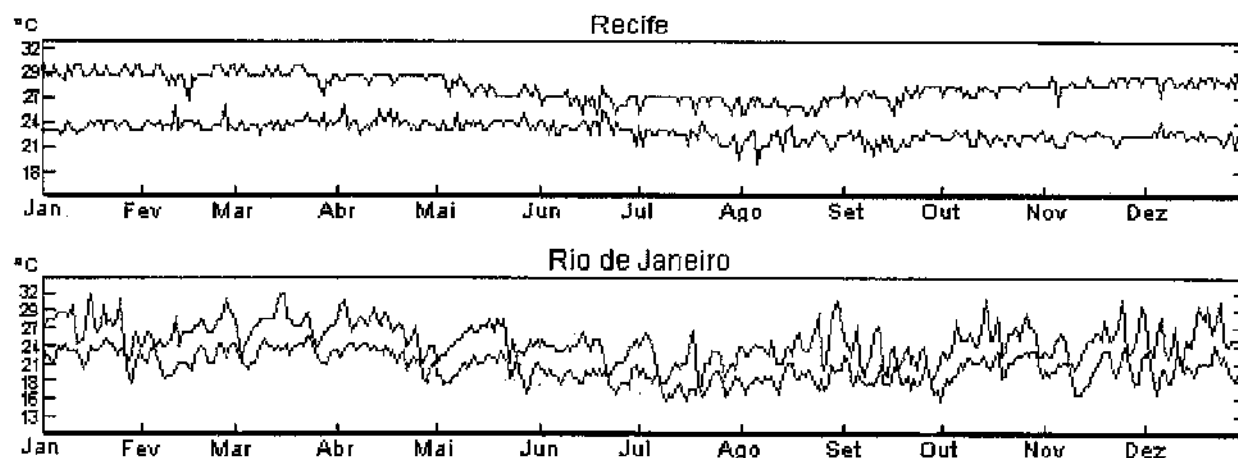


Figura 3 – Variação de temperatura anual no Recife e no Rio de Janeiro.

Linha vermelha – temperatura média; linha verde – ponto de orvalho.

Fonte: www.wunderground.com.

III.2. Variação temporal

A variação temporal do tamanho (SI) e forma (SH) das asas de mães e filhas do Recife e do Rio de Janeiro está representada nas figuras 4 e 5, respectivamente.

III.2.1. Recife

As médias para cada parâmetro em cada uma das coletas realizadas no Recife estão apresentadas nas tabelas 6 (mães) e 7 (filhas).

É especialmente interessante notar que, no Recife, a variação temporal das variáveis de tamanho nas mães foi a oposta da verificada nas filhas no período de janeiro a abril (figura 4). Enquanto as fêmeas coletadas no campo em abril foram menores do que aquelas coletadas em janeiro, suas filhas criadas em laboratório foram maiores do que as de janeiro.

Tanto nas mães quanto nas filhas, observamos um padrão de aumento progressivo no tamanho corporal no período de abril a novembro, apesar de nas filhas isto ter sido apenas uma tendência não significativa. Após atingirem seu tamanho máximo, as coletas de janeiro de 2005 em diante produziram moscas menores que as de novembro de 2004 e de tamanho estatisticamente igual entre si. Podemos observar que a população estudada de *D. melanogaster* do Recife apresentou um padrão de variação no tamanho corporal no período de janeiro de 2004 a janeiro de 2005 que talvez seja cíclico, pois não houve diferença estatística entre estas coletas no caso das mães ($P_{SI} = 0,552$), cujo tamanho é diretamente influenciado pelas condições observadas no campo. No entanto, nem nas mães nem nas filhas pudemos observar uma correlação entre a temperatura média das duas semanas anteriores às coletas e o tamanho corporal (figura 6).

A variação de forma teve resultados diferentes entre mães e filhas (figura 5). Nas mães, não houve variação entre janeiro e setembro de 2004. Entre setembro e novembro houve redução de SH (alongamento das asas), de novembro a abril as asas voltaram a se arredondar, retornando a um valor de SH igual ao período anterior a setembro ($P_{SH} = 0,847$). De abril a julho de 2005, as asas voltaram a se alongar, e novamente SH se tornou estatisticamente igual ($P_{SH} = 0,415$) ao de novembro do ano anterior. Nas filhas, não houve variação significativa neste período, e sim apenas de janeiro a abril de 2004, no qual houve alongamento das asas. Também não houve correlação entre forma das asas e temperatura (figura 7).

Estes resultados são curiosos, pois aceita-se que a forma das asas tenha herdabilidade natural muito maior que a do tamanho, e, no entanto, o padrão de variação temporal entre mães e filhas do Recife foi muito mais parecido no caso do tamanho do que no da forma.

Tabela 6 – Médias obtidas para cada parâmetro nas fêmeas coletadas no Recife (mães).

Valores de *a*, *b* e *SI* em milímetros.

	Jan. 04	Abr. 04	Set. 04	Nov. 04	Jan. 05	Abr. 05	Jul. 05
a	0,912 ^{a,c}	0,879 ^b	0,935 ^{a,c}	0,979 ^d	0,928 ^{a,c}	0,941 ^{a,c,d}	0,958 ^{c,d}
b	0,428 ^a	0,411 ^b	0,433 ^{a,c}	0,445 ^c	0,426 ^a	0,437 ^{a,c}	0,433 ^{a,c}
θ_A	0,660 ^a	0,636 ^b	0,659 ^{a,b}	0,650 ^{a,b}	0,659 ^a	0,650 ^{a,b}	0,668 ^a
θ_B	2,667 ^a	2,636 ^b	2,659 ^{a,b}	2,679 ^a	2,649 ^{a,b}	2,662 ^a	2,682 ^a
θ_C	3,165 ^a	3,163 ^a	3,166 ^a	3,160 ^a	3,162 ^a	3,162 ^a	3,164 ^a
θ_D	3,355 ^{a,b}	3,360 ^b	3,360 ^b	3,353 ^{a,b}	3,348 ^a	3,352 ^{a,b}	3,354 ^{a,b}
θ_E	4,430 ^a	4,467 ^b	4,446 ^{a,b}	4,406 ^a	4,410 ^a	4,424 ^a	4,415 ^a
θ_F	0,465 ^{a,b}	0,457 ^b	0,480 ^{a,b}	0,473 ^{a,b}	0,478 ^{a,b}	0,479 ^{a,b}	0,483 ^a
D_F	0,634 ^{a,b}	0,644 ^b	0,617 ^{a,b,c}	0,608 ^c	0,618 ^{a,c}	0,620 ^{a,b,c}	0,610 ^{a,c}
θ_G	0,284 ^{a,b}	0,274 ^b	0,292 ^{a,b,c}	0,292 ^{a,c}	0,288 ^{a,b,c}	0,286 ^{a,b,c}	0,304 ^c
D_G	0,623 ^{a,b}	0,636 ^b	0,627 ^{a,b}	0,609 ^a	0,615 ^a	0,626 ^{a,b}	0,610 ^a
θ_H	5,258 ^{a,b}	5,495 ^b	5,193 ^{a,b}	5,044 ^a	5,126 ^a	5,257 ^{a,b}	5,059 ^a
D_H	0,064 ^a	0,066 ^a	0,068 ^a	0,053 ^a	0,059 ^a	0,058 ^a	0,061 ^a
θ_I	5,091 ^{a,b}	5,157 ^b	5,106 ^{a,b}	5,050 ^a	5,062 ^a	5,062 ^{a,b}	5,071 ^{a,b}
D_I	0,303 ^{a,b}	0,307 ^b	0,302 ^{a,b}	0,293 ^a	0,295 ^a	0,297 ^{a,b}	0,295 ^{a,b}
θ_J	0,352 ^a	0,340 ^a	0,347 ^a	0,348 ^a	0,345 ^a	0,344 ^a	0,349 ^a
D_J	1,083 ^{a,b}	1,099 ^b	1,099 ^{a,b}	1,075 ^a	1,092 ^{a,b}	1,104 ^{a,b}	1,086 ^{a,b}
SI	0,625 ^a	0,601 ^b	0,636 ^{a,c}	0,660 ^c	0,629 ^a	0,642 ^{a,c}	0,644 ^{a,c}
SH	0,470 ^a	0,468 ^a	0,464 ^{a,b,c}	0,455 ^{b,c}	0,460 ^{b,c}	0,465 ^{a,b}	0,452 ^c

Tabela 7 – Médias obtidas para cada parâmetro nas fêmeas do Recife criadas em laboratório (filhas).Valores de *a*, *b* e *SI* em milímetros.

	Jan. 04	Abr. 04	Set. 04	Nov. 04	Jan. 05	Abr. 05	Jul. 05
<i>a</i>	1,000 ^a	1,038 ^{a,b}	1,049 ^{a,b}	1,115 ^b	1,040 ^{a,b}	1,045 ^{a,b}	1,047 ^{a,b}
<i>b</i>	0,459 ^a	0,467 ^a	0,467 ^a	0,483 ^b	0,465 ^a	0,465 ^a	0,466 ^a
θ_A	0,673 ^{a,b}	0,680 ^{a,b,c}	0,690 ^{a,c}	0,666 ^b	0,687 ^c	0,688 ^{a,c}	0,687 ^{a,c}
θ_B	2,700 ^a	2,711 ^a	2,716 ^a	2,702 ^a	2,710 ^a	2,718 ^a	2,715 ^a
θ_C	3,161 ^a	3,163 ^a	3,164 ^a	3,185 ^a	3,165 ^a	3,165 ^a	3,167 ^a
θ_D	3,347 ^a	3,349 ^a	3,349 ^a	3,373 ^a	3,349 ^a	3,348 ^a	3,351 ^a
θ_E	4,406 ^a	4,370 ^a	4,371 ^a	4,356 ^a	4,376 ^a	4,351 ^a	4,368 ^a
θ_F	0,495 ^{a,c}	0,503 ^{a,b,c}	0,518 ^{b,d}	0,500 ^c	0,514 ^b	0,524 ^{b,d}	0,524 ^{b,d}
D_F	0,611 ^a	0,589 ^{b,c}	0,585 ^{b,c}	0,601 ^{a,b}	0,592 ^b	0,581 ^{b,c}	0,570 ^c
θ_G	0,303 ^a	0,314 ^a	0,323 ^a	0,369 ^a	0,329 ^a	0,327 ^a	0,327 ^a
D_G	0,602 ^a	0,584 ^{a,b}	0,589 ^{a,b}	0,601 ^a	0,591 ^{a,b}	0,584 ^{a,b}	0,574 ^b
θ_H	4,814 ^a	4,445 ^b	4,398 ^b	4,602 ^{a,b}	4,547 ^{a,b}	4,282 ^b	4,300 ^b
D_H	0,043 ^a	0,047 ^a	0,046 ^a	0,062 ^a	0,041 ^a	0,048 ^a	0,052 ^a
θ_I	5,004 ^a	4,911 ^b	4,935 ^{a,b}	4,928 ^b	4,957 ^{a,b}	4,909 ^b	4,902 ^b
D_I	0,290 ^a	0,282 ^a	0,278 ^a	0,295 ^a	0,278 ^a	0,276 ^a	0,283 ^a
θ_J	0,358 ^a	0,362 ^a	0,363 ^a	0,361 ^a	0,363 ^a	0,363 ^a	0,367 ^a
D_J	1,073 ^a	1,049 ^b	1,061 ^{a,b}	1,059 ^{a,b}	1,067 ^a	1,063 ^{a,b}	1,047 ^b
<i>SI</i>	0,678 ^a	0,696 ^a	0,700 ^{a,b}	0,730 ^b	0,696 ^a	0,697 ^{a,b}	0,698 ^{a,b}
<i>SH</i>	0,460 ^a	0,450 ^b	0,446 ^b	0,447 ^b	0,448 ^b	0,445 ^b	0,445 ^b

III.2.II. Rio de Janeiro

As médias para cada parâmetro em cada uma das coletas realizadas no Rio de Janeiro estão apresentadas na tabela 8.

Nas coletas cariocas, não observamos qualquer padrão que sugira variação temporal regular de tamanho (figura 4). As mães não apresentaram variação significativa alguma em *SI*, apesar de ter ocorrido um aumento significativo do valor de *a* entre março e setembro de 2004. Já as filhas apresentaram um aumento do tamanho corporal entre março e setembro de 2004.

Quanto à forma das asas, tanto as mães quanto as filhas apresentaram

asas mais alongadas em setembro que em março de 2004 (figura 5), sendo que o valor de *SH* em novembro foi novamente mais alto (asas mais arredondadas). Este arredondamento só foi significativo, no entanto, nas filhas. Como no Recife, no Rio de Janeiro não pudemos observar uma correlação entre as temperaturas médias nas duas semanas anteriores às coletas e o tamanho ou a forma das asas (figuras 6 e 7).

Tabela 8 – Médias obtidas para cada parâmetro nas fêmeas do Rio de Janeiro (mães e filhas).
Valores de *a*, *b* e *SI* em milímetros.

Mães				Filhas			
	Mar. 04	Set. 04	Nov. 04		Mar. 04	Set. 04	Nov. 04
<i>a</i>	0,942 ^a	0,995 ^b	0,961 ^{a,b}	<i>a</i>	1,067 ^a	1,108 ^b	1,090 ^c
<i>b</i>	0,436 ^a	0,447 ^a	0,438 ^a	<i>b</i>	0,480 ^a	0,490 ^b	0,490 ^b
θ_A	0,647 ^{a,b}	0,669 ^a	0,645 ^b	θ_A	0,663 ^a	0,687 ^b	0,664 ^a
θ_B	2,643 ^a	2,671 ^b	2,674 ^b	θ_B	2,698 ^a	2,713 ^b	2,709 ^b
θ_C	3,159 ^a	3,157 ^a	3,161 ^a	θ_C	3,155 ^a	3,155 ^a	3,159 ^b
θ_D	3,358 ^a	3,353 ^{a,b}	3,357 ^a	θ_D	3,346 ^{a,b}	3,342 ^a	3,349 ^b
θ_E	4,468 ^a	4,422 ^b	4,458 ^{a,b}	θ_E	4,412 ^a	4,387 ^b	4,419 ^a
θ_F	0,473 ^{a,b}	0,494 ^a	0,461 ^b	θ_F	0,503 ^a	0,521 ^b	0,499 ^a
D_F	0,638 ^a	0,608 ^b	0,629 ^{a,b}	D_F	0,606 ^a	0,586 ^b	0,598 ^{a,b}
θ_G	0,290 ^a	0,308 ^a	0,295 ^a	θ_G	0,316 ^a	0,334 ^b	0,322 ^a
D_G	0,631 ^a	0,607 ^a	0,631 ^a	D_G	0,598 ^a	0,585 ^a	0,597 ^a
θ_H	5,268 ^{a,b}	4,856 ^b	5,390 ^a	θ_H	4,468 ^{a,b}	4,380 ^{a,b}	4,694 ^a
D_H	0,069 ^a	0,055 ^{a,b}	0,064 ^{a,b}	D_H	0,047 ^a	0,042 ^a	0,045 ^a
θ_I	5,114 ^{a,b}	5,025 ^b	5,121 ^a	θ_I	4,975 ^a	4,917 ^b	4,985 ^a
D_I	0,304 ^a	0,286 ^b	0,299 ^{a,b}	D_I	0,290 ^a	0,279 ^b	0,287 ^a
θ_J	0,354 ^a	0,353 ^a	0,349 ^a	θ_J	0,363 ^{a,b}	0,366 ^{a,b}	0,359 ^a
D_J	1,085 ^a	1,087 ^a	1,086 ^a	D_J	1,065 ^a	1,066 ^a	1,071 ^a
<i>SI</i>	0,641 ^a	0,667 ^a	0,649 ^a	<i>SI</i>	0,716 ^a	0,737 ^b	0,731 ^b
<i>SH</i>	0,463 ^a	0,450 ^b	0,456 ^{a,b}	<i>SH</i>	0,450 ^a	0,442 ^b	0,450 ^a

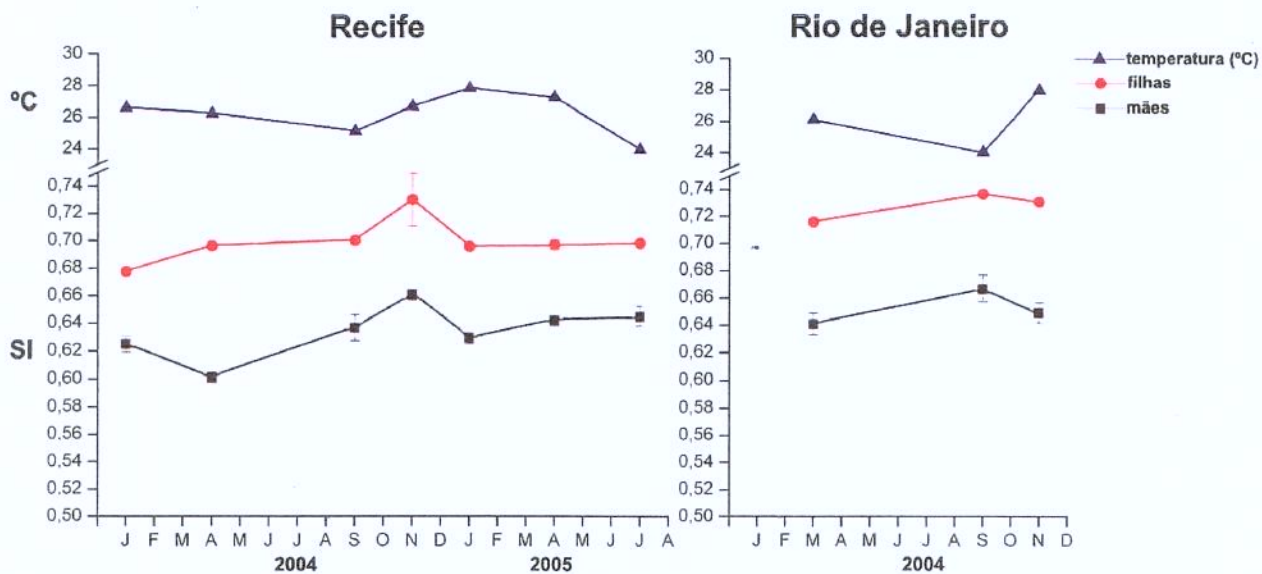


Figura 4 – Variação temporal de tamanho (SI) nas mães e filhas do Recife e do Rio de Janeiro.

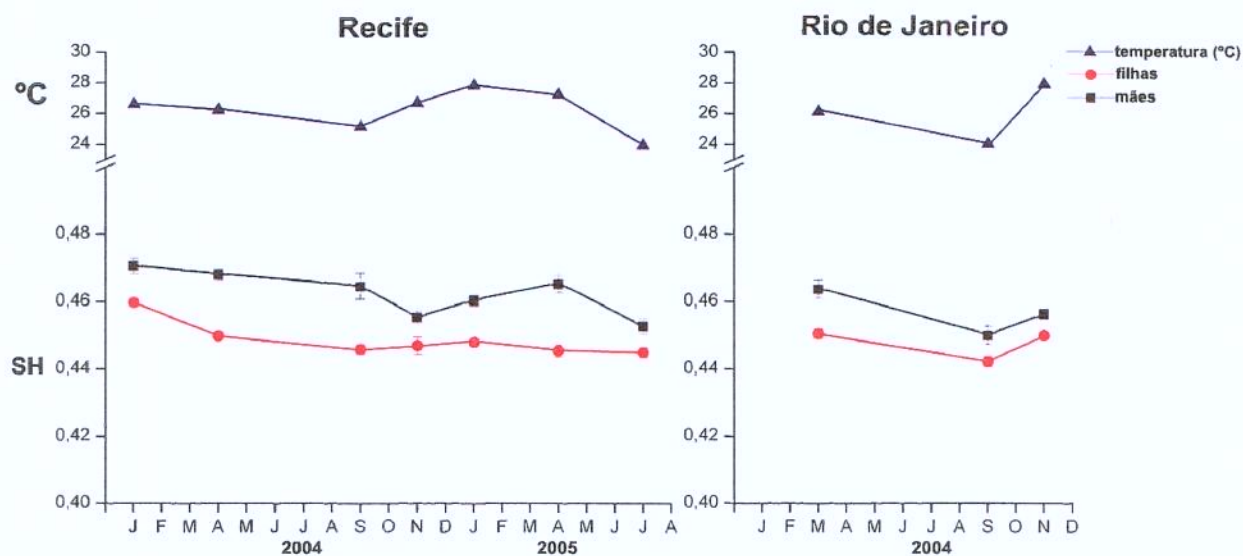


Figura 5 – Variação temporal da forma das asas (SH) nas mães e filhas do Recife e do Rio de Janeiro.

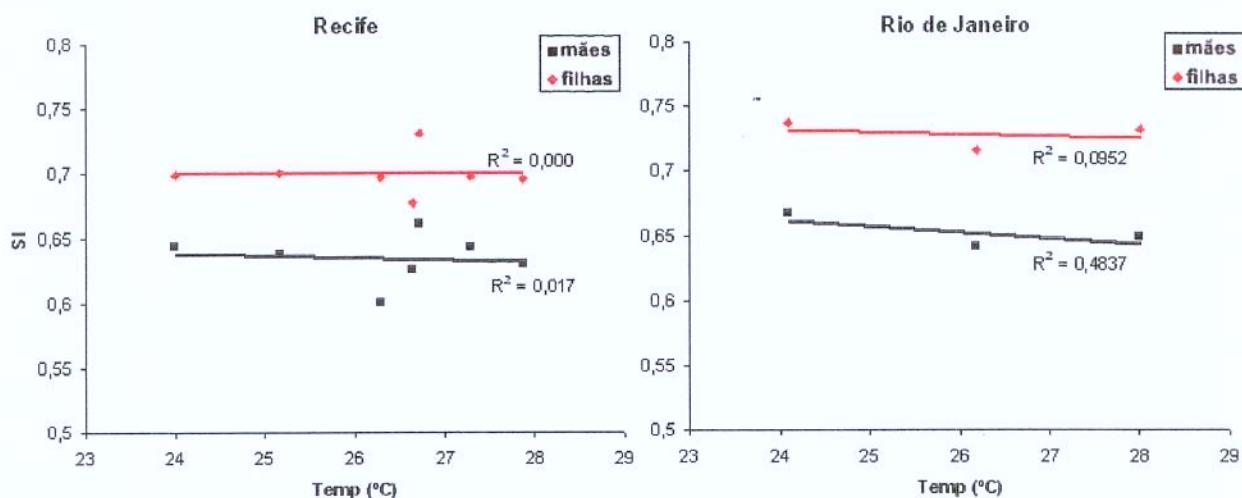


Figura 6 – SI (em mm) x temperatura média das duas semanas anteriores a cada coleta, no Recife e no Rio de Janeiro.

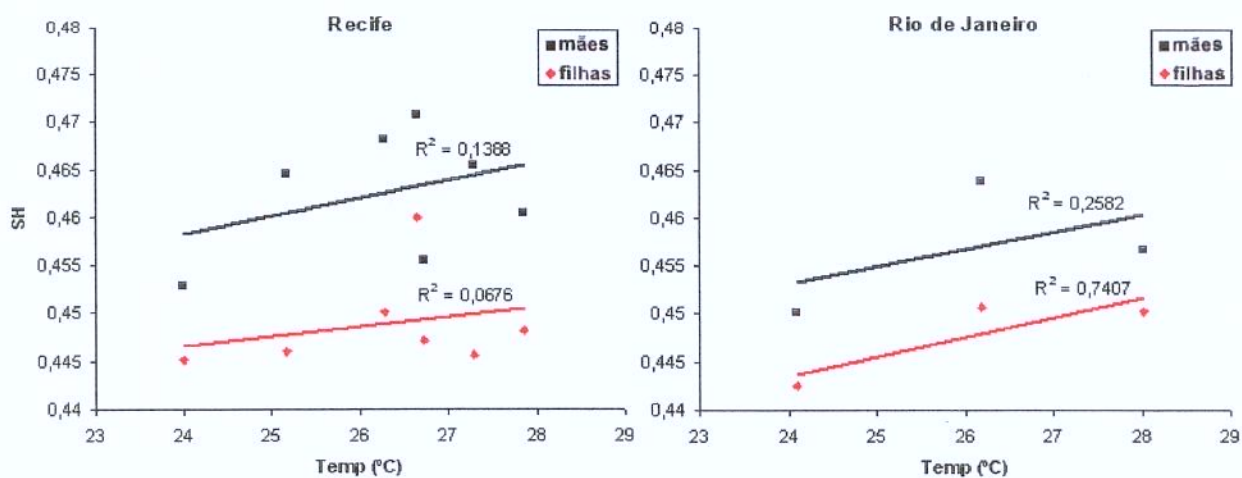


Figura 7 – SH x temperatura média das duas semanas anteriores a cada coleta, no Recife e no Rio de Janeiro.

III.3. Herdabilidade

Os resultados obtidos para herdabilidade natural e no laboratório para *SI* e *SH* estão representados nas figuras 8 e 9, respectivamente. As tabelas 9 e 11 apresentam os valores obtidos para herdabilidades no laboratório nas três localidades, e as herdabilidades naturais estão representadas nas tabelas 10 e 12.

A forma das asas apresentou herdabilidade natural significativa em muitas das coletas (principalmente no Recife), o que não ocorreu com o tamanho, que teve herdabilidade significativa principalmente no laboratório. A diferença geral entre os valores de h^2_{lab} e h^2_{nat} para tamanho e forma é facilmente observável nas figuras 8 e 9: a herdabilidade natural de *SI* é visivelmente menor e menos variável que a herdabilidade no laboratório, enquanto, no caso da forma, não há tanta diferença entre os dois conjuntos de herdabilidades de *SH*.

A variação temporal da herdabilidade natural de *SI* e *SH* que encontramos não foi significativa. No Recife, observamos uma tendência de aumento progressivo da herdabilidade de tamanho de janeiro de 2004 a janeiro de 2005, e na herdabilidade da forma talvez haja uma tendência bimodal, com picos em abril de 2004 e 2005. No Rio de Janeiro a herdabilidade de tamanho também foi maior na coleta de novembro que na de março de 2004. Evidentemente, mais coletas são necessárias para estabelecer qualquer padrão temporal.

Nossos resultados indicam que o tamanho das asas sofre mais influência ambiental do que a forma destas, que teria forte determinação genética. Diversos estudos já foram realizados em populações naturais de *Drosophila* para medir a variabilidade genética do tamanho e da forma das asas, obtendo resultados muito semelhantes aos nossos. Não foi detectada herdabilidade natural significativa para o

tamanho em estudos com *D. buzzatii* (Leibowitz *et al.*, 1995), *D. mediopunctata* (Bitner-Mathé & Klaczko, 1999a, b), *D. gouveai* (Moraes & Sene, 2004), *D. mercatorum* e *D. paranaensis* (Moraes *et al.*, 2004). Em relação à forma das asas, a herdabilidade encontrada em diversas espécies variou de 30 a 60% (*D. mediopunctata* – Bitner-Mathé & Klaczko 1999a,b; *D. melanogaster* – Gilchrist & Partridge, 2001; *D. serrata* – Hoffmann & Shirriffs, 2002; *D. mercatorum* e *D. paranaensis* – Moraes *et al.*, 2004). Uma notável exceção é *D. gouveai*, cuja herdabilidade de forma encontrada não foi significativamente diferente de zero (Moraes & Sene, 2004).

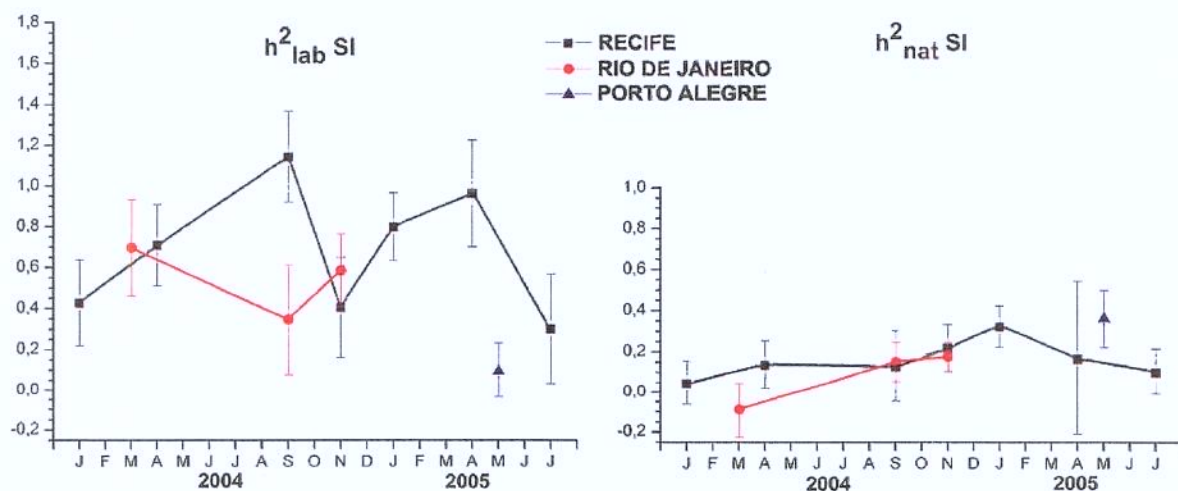


Figura 8 – Herdabilidade de laboratório e natural do tamanho das asas (SI) nas três localidades.

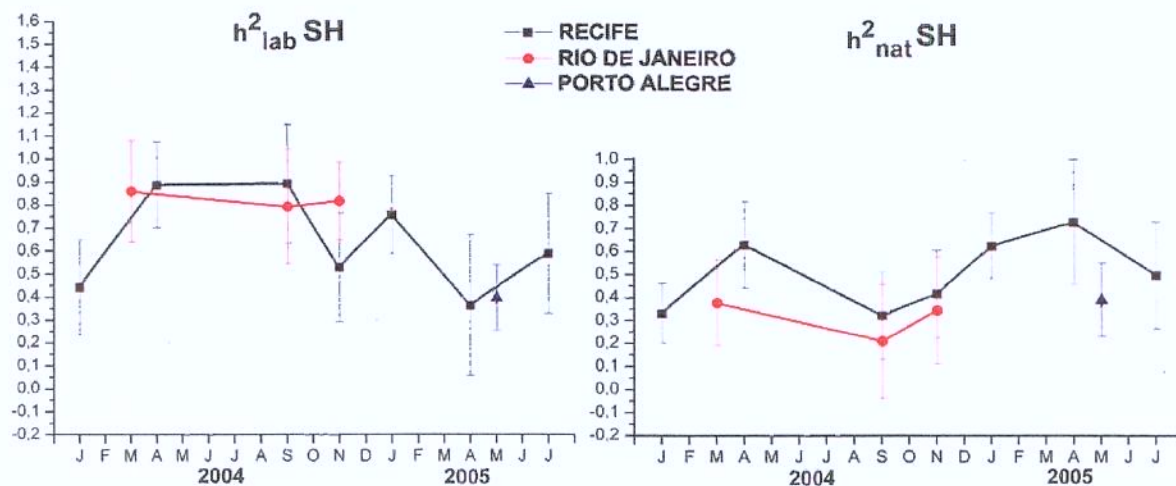


Figura 9 – Herdabilidade de laboratório e natural da forma das asas (SH) nas três localidades.

Tabela 9 – Valores de h^2_{lab} (herdabilidade no laboratório) para os parâmetros de tamanho e forma das coletas do Recife. EP = Erro padrão. Valores significativos em **negrito**.

h ² _{lab} Recife														
	Jan.04		Abr.04		Set.04		Nov.04		Jan.05		Abr.05		Jul.05	
	h ² _{lab}	EP	h ² _{lab}	EP	h ² _{lab}	EP	h ² _{lab}	EP	h ² _{lab}	EP	h ² _{lab}	EP	h ² _{lab}	EP
a	0,288	0,209	0,653	0,202	1,275	0,198	0,458	0,241	0,839	0,164	0,821	0,279	0,178	0,267
b	0,621	0,203	0,827	0,190	0,923	0,253	0,398	0,244	0,699	0,173	0,948	0,263	0,519	0,263
θ _A	0,115	0,206	0,426	0,214	0,554	0,282	0,449	0,242	0,528	0,180	0,418	0,306	0,463	0,265
θ _B	0,398	0,209	0,438	0,211	1,079	0,232	0,448	0,242	0,502	0,181	0,250	0,307	0,482	0,264
θ _C	0,467	0,208	0,795	0,193	1,013	0,241	0,300	0,249	0,817	0,165	0,383	0,306	1,116	0,204
θ _D	0,478	0,201	0,851	0,188	0,518	0,28	0,306	0,249	0,497	0,181	0,272	0,307	0,878	0,235
θ _E	0,184	0,208	0,876	0,186	1,062	0,234	0,498	0,239	0,683	0,179	0,146	0,304	0,808	0,242
θ _F	0,021	0,203	0,508	0,209	0,642	0,278	0,272	0,250	0,568	0,179	0,472	0,304	0,543	0,262
D _F	0,151	0,207	0,812	0,192	0,637	0,278	0,418	0,243	0,621	0,176	0,636	0,296	0,676	0,254
θ _G	0,094	0,205	0,392	0,212	0,700	0,274	0,299	0,249	0,698	0,173	0,540	0,301	0,597	0,259
D _G	0,078	0,205	0,801	0,192	0,714	0,273	0,495	0,239	0,597	0,177	0,647	0,295	0,630	0,257
θ _H	-0,405	0,170	0,749	0,196	0,623	0,279	0,473	0,240	0,429	0,183	0,379	0,306	0,515	0,263
D _H	-0,070	0,198	0,398	0,212	0,168	0,272	0,065	0,254	0,071	0,182	0,349	0,307	0,104	0,265
θ _I	0,227	0,209	0,830	0,190	0,473	0,285	0,619	0,230	0,392	0,183	0,269	0,307	0,611	0,258
D _I	0,196	0,208	0,520	0,208	0,838	0,262	0,195	0,252	0,735	0,171	0,314	0,307	0,626	0,257
θ _J	0,338	0,209	0,368	0,212	0,702	0,274	0,098	0,254	0,339	0,184	0,380	0,306	0,547	0,261
D _J	0,189	0,208	0,834	0,190	0,689	0,275	0,473	0,240	0,489	0,181	-0,020	0,295	0,855	0,238
SI	0,428	0,209	0,709	0,199	1,141	0,222	0,406	0,244	0,798	0,167	0,960	0,261	0,301	0,268
SH	0,442	0,208	0,887	0,185	0,892	0,256	0,529	0,237	0,755	0,168	0,364	0,307	0,588	0,259

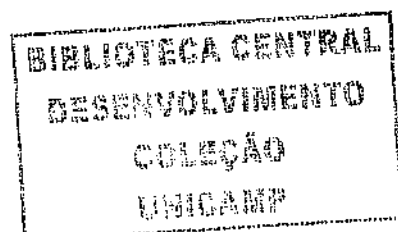


Tabela 10 – Valores de h^2_{nat} (herdabilidade natural) para os parâmetros de tamanho e forma das coletas do Recife. EP = Erro padrão. Valores significativos em **negrito**.

h ² _{nat} Recife														
	Jan.04		Abr.04		Set.04		Nov.04		Jan.05		Abr.05		Jul.05	
	h ² _{nat}	EP	h ² _{nat}	EP	h ² _{nat}	EP	h ² _{nat}	EP	h ² _{nat}	EP	h ² _{nat}	EP	h ² _{nat}	EP
a	0,100	0,113	0,292	0,110	0,175	0,174	0,218	0,140	0,412	0,112	0,321	0,377	0,104	0,124
b	0,027	0,110	0,032	0,142	0,104	0,185	0,278	0,106	0,269	0,097	0,166	0,361	0,145	0,123
θ_A	0,147	0,147	0,184	0,130	0,542	0,201	0,305	0,196	0,636	0,155	0,864	0,252	0,311	0,190
θ_B	1,131	0,184	0,410	0,108	0,620	0,175	0,478	0,149	0,246	0,109	0,422	0,246	0,367	0,149
θ_C	0,070	0,180	0,430	0,184	0,684	0,290	0,151	0,171	0,473	0,141	0,300	0,301	0,219	0,219
θ_D	0,130	0,172	0,740	0,176	-0,042	0,218	0,183	0,149	0,468	0,128	0,384	0,263	0,352	0,217
θ_E	0,373	0,167	0,672	0,196	0,577	0,236	0,231	0,226	0,609	0,156	0,480	0,288	0,505	0,233
θ_F	0,148	0,144	0,366	0,206	0,341	0,209	0,219	0,192	0,504	0,141	0,939	0,253	0,207	0,177
D_F	0,217	0,147	-0,005	0,213	0,406	0,190	0,078	0,197	0,019	0,133	0,765	0,299	0,301	0,186
θ_G	0,254	0,158	0,200	0,192	0,362	0,241	0,197	0,204	0,483	0,137	0,656	0,257	0,311	0,177
D_G	0,243	0,140	-0,115	0,211	0,391	0,211	0,093	0,204	0,057	0,128	0,448	0,344	0,330	0,183
θ_H	0,673	0,245	0,502	0,246	0,239	0,307	0,311	0,232	0,631	0,167	0,361	0,303	0,230	0,187
D_H	0,085	0,110	-0,354	0,224	-0,044	0,130	-0,232	0,161	0,117	0,102	-0,256	0,340	0,055	0,202
θ_I	0,316	0,128	0,552	0,184	0,332	0,193	0,298	0,203	0,538	0,141	0,602	0,300	0,339	0,172
D_I	0,570	0,157	-0,004	0,283	0,340	0,226	0,112	0,196	-0,005	0,153	0,569	0,232	0,373	0,204
θ_J	0,193	0,146	0,132	0,180	0,323	0,263	0,118	0,162	0,336	0,133	0,856	0,212	0,161	0,170
D_J	0,154	0,163	0,103	0,258	0,380	0,234	0,312	0,207	-0,037	0,150	0,588	0,247	0,311	0,237
SI	0,046	0,109	0,138	0,116	0,130	0,174	0,219	0,113	0,324	0,100	0,168	0,375	0,104	0,112
SH	0,331	0,128	0,628	0,188	0,322	0,190	0,416	0,190	0,624	0,143	0,728	0,271	0,497	0,232

Tabela 11 – Valores de h^2_{lab} (herdabilidade no laboratório) para os parâmetros de tamanho e forma das moscas coletadas no Rio de Janeiro e em Porto Alegre. EP = Erro padrão.

Valores significativos em **negrito**.

	h^2_{lab} Rio de Janeiro						h^2_{lab} P. Alegre	
	Mar.04		Set.04		Nov.04		Mai.05	
	h^2_{lab}	EP	h^2_{lab}	EP	h^2_{lab}	EP	h^2_{lab}	EP
<i>a</i>	0,828	0,224	0,335	0,267	0,522	0,180	0,148	0,137
<i>b</i>	0,466	0,248	0,633	0,260	0,818	0,169	0,111	0,136
<i>θ_A</i>	0,206	0,253	0,097	0,260	0,445	0,180	0,564	0,139
<i>θ_B</i>	0,775	0,229	0,468	0,266	0,555	0,179	0,076	0,135
<i>θ_C</i>	0,513	0,246	0,602	0,262	0,293	0,179	0,512	0,140
<i>θ_D</i>	0,648	0,238	0,254	0,266	0,575	0,179	0,490	0,140
<i>θ_E</i>	0,790	0,227	0,916	0,237	0,783	0,171	0,237	0,139
<i>θ_F</i>	0,361	0,251	0,154	0,263	0,726	0,174	0,109	0,136
<i>D_F</i>	0,708	0,234	0,449	0,267	0,608	0,178	0,172	0,138
<i>θ_G</i>	0,597	0,242	-0,084	0,247	0,771	0,172	0,242	0,139
<i>D_G</i>	0,753	0,230	0,380	0,267	0,644	0,177	0,208	0,139
<i>θ_H</i>	0,587	0,242	0,191	0,264	0,335	0,179	0,216	0,139
<i>D_H</i>	0,644	0,239	0,035	0,256	0,237	0,177	0,237	0,139
<i>θ_I</i>	0,743	0,231	0,664	0,258	0,741	0,173	0,346	0,141
<i>D_I</i>	0,904	0,216	0,630	0,260	0,646	0,177	0,400	0,141
<i>θ_J</i>	0,292	0,252	0,036	0,256	0,649	0,177	0,367	0,141
<i>D_J</i>	0,523	0,246	0,241	0,266	0,455	0,180	0,349	0,141
<i>SI</i>	0,701	0,235	0,348	0,267	0,587	0,178	0,098	0,135
<i>SH</i>	0,863	0,220	0,796	0,249	0,819	0,169	0,397	0,141

Tabela 12 – Valores de h^2_{nat} (herdabilidade natural) para os parâmetros de tamanho e forma das moscas coletadas no Rio de Janeiro e em Porto Alegre. EP = Erro padrão.

Valores significativos em **negrito**.

	h^2_{nat} Rio de Janeiro						h^2_{nat} P. Alegre	
	Mar.04		Set.04		Nov.04		Mai.05	
	h^2_{nat}	EP	h^2_{nat}	EP	h^2_{nat}	EP	h^2_{nat}	EP
a	-0,039	0,146	0,143	0,115	0,199	0,084	0,391	0,114
b	-0,092	0,136	0,182	0,105	0,174	0,073	0,326	0,175
θ_A	0,280	0,138	0,314	0,196	0,294	0,121	0,602	0,115
θ_B	0,186	0,124	-0,074	0,149	0,357	0,121	0,263	0,118
θ_C	0,116	0,150	0,338	0,209	0,240	0,156	0,352	0,158
θ_D	0,154	0,166	0,053	0,150	0,563	0,178	0,587	0,154
θ_E	0,660	0,182	0,501	0,235	0,540	0,196	0,450	0,133
θ_F	0,372	0,158	0,090	0,173	0,435	0,136	0,508	0,106
D_F	0,371	0,173	0,117	0,191	0,484	0,148	0,608	0,182
θ_G	0,392	0,178	-0,015	0,181	0,310	0,143	0,436	0,105
D_G	0,291	0,173	0,154	0,184	0,446	0,168	0,646	0,186
θ_H	0,780	0,280	-0,011	0,205	0,520	0,267	0,527	0,117
D_H	-0,010	0,153	-0,126	0,188	0,059	0,105	0,176	0,261
θ_I	0,424	0,164	0,139	0,258	0,369	0,175	0,611	0,141
D_I	0,638	0,142	0,517	0,190	0,217	0,163	0,666	0,194
θ_J	0,376	0,148	-0,003	0,208	0,343	0,119	0,553	0,120
D_J	0,506	0,156	0,190	0,224	0,349	0,185	0,729	0,191
SI	-0,084	0,136	0,155	0,096	0,182	0,068	0,366	0,138
SH	0,38	0,186	0,212	0,246	0,347	0,233	0,392	0,159

III.4. Inversões cromossômicas

As principais inversões cromossômicas presentes nos machos trazidos do Rio de Janeiro (março e novembro de 2004), Recife (abril e novembro de 2004, janeiro de 2005) e Porto Alegre foram: $In(2L)t$, $In(2R)NS$, $In(3L)P$, $In(3R)C$ e $In(3R)P$.

III.4.1. Efeito sobre o tamanho

Nossos resultados mostraram que pelo menos três das inversões encontradas apresentaram algum efeito sobre o tamanho das asas:

In(3L)P – Na maioria das coletas, não houve influência detectável desta inversão sobre o tamanho, mesmo quando tomadas em conjunto todas as coletas da mesma localidade para aumentar o tamanho amostral. A exceção foi a coleta de março de 2004 no Rio de Janeiro, na qual observamos efeito de $In(3L)P$ sobre a variável b (eixo menor da elipse). Nesta coleta, não havia moscas com o genótipo homozigoto para a inversão, e o efeito encontrado foi de redução do valor de b ($P = 0,037$) no heterozigoto. A inversão $In(3L)P$ está ligada à diminuição da resistência ao frio (Weeks *et al.*, 2002), e, como seria esperado, sua frequência diminui com o aumento da latitude, de acordo com estudos realizados na Austrália (Knibb *et al.*, 1981, 1982). No entanto, a associação direta da inversão com o tamanho corporal requer maior investigação.

In(3R)C – $In(3R)C$ é uma inversão cosmopolita rara, mas seu efeito pôde ser conclusivamente detectado nos machos de Porto Alegre. Não houve moscas com o genótipo homozigoto para a inversão, mas os heterozigotos foram significativamente maiores que o genótipo padrão ($P < 0,01$ para as variáveis a , b e Sf). No Recife e no

Rio de Janeiro, não sabemos se *In(3R)C* tem o mesmo efeito, pois a inversão foi encontrada em frequência muito baixa em nossas coletas.

In(3R)P – *In(3R)P* foi a inversão que teve maior efeito universal sobre o tamanho das moscas, detectável em algumas coletas individuais, mas principalmente em cada localidade. No Rio de Janeiro e em Porto Alegre, o efeito observado foi de redução do tamanho corporal (tabelas 13 a 17). As moscas do Recife também seguiram esta tendência, mas o efeito não foi significativo, talvez pela frequência muito alta da inversão nestas amostras – apenas quatro de um total de 145 moscas apresentavam o cariótipo padrão. Os genótipos foram agrupados em duas categorias: *In(3R)P* ausente (cariótipo padrão *+/+*) e *In(3R)P* presente (heterozigoto *+/In(3R)P*; homozigoto *In(3R)P/In(3R)P*). As médias para cada variável em cada categoria nas três localidades estão apresentadas na tabela 13. O presente trabalho é o primeiro a explicitamente testar e demonstrar o efeito direto de *In(3R)P* sobre o tamanho corporal de *D. melanogaster*. É também o primeiro a testar a presença de interação genótipo-ambiente entre o efeito desta inversão e a data ou o local de coleta. Não encontramos, no entanto, este tipo de interação (tabelas 14 e 15). A interação entre coletas só pôde ser testada para as coletas do Rio de Janeiro, pois, no Recife, todas as moscas possuindo o genótipo padrão provinham de uma única coleta, impossibilitando este tipo de análise.

Nossos resultados são consistentes com a variação de tamanho ligada a *In(3R)P* que tem sido repetidamente publicada nos últimos anos. No estudo de um cline de tamanho corporal de uma população australiana de *D. melanogaster*, marcadores genéticos localizados na região cromossomal que contém *In(3R)P* foram fortemente associados à variação de tamanho (Weeks *et al.*, 2002), sendo responsáveis por mais de 70% da diferença de tamanho entre moscas de extremidades do cline (Gockel *et al.*,

2002). O mesmo resultado foi encontrado por Gockel *et al.* (2002) e Calboli *et al.* (2003) em um cline paralelo na costa oeste da América do Sul. Estes estudos, no entanto, ao contrário do nosso, não buscaram estabelecer uma relação direta entre a inversão em si e o tamanho corporal.

A frequência de *In(3R)P* diminui com o aumento da latitude na Australásia, América do Norte e Ásia, e também apresenta uma diminuição sazonal em condições de “inverno” (Knibb, 1982). Dado que muitas espécies de *Drosophila* apresentam clines de tamanho corporal ao redor do mundo (Gilchrist *et al.*, 2001; Debat *et al.*, 2003), com os tamanhos corporais aumentando com o aumento da latitude, é razoável concluir que a redução clinal da frequência de *In(3R)P* com a latitude pode estar contribuindo para o aumento do tamanho corporal neste sentido. Na espécie originariamente Paleártica *D. subobscura*, as populações invasoras do continente americano rapidamente desenvolveram clines tanto para a frequência de inversões cromossômicas (Prevosti *et al.*, 1985, 1988) quanto para tamanho corporal (Huey *et al.*, 2000; Gilchrist *et al.*, 2001), espelhando os clines encontrados em suas populações nativas européias. No entanto, os clines de inversões foram formados muito mais rapidamente – aproximadamente sete anos – do que os de tamanho – por volta de 20 anos. Isto estaria de acordo com uma hipótese de que as inversões teriam influência direta sobre o tamanho corporal.

III.4.II. Efeito sobre a forma

É interessante notar que nenhuma das inversões teve efeito geral significativo sobre as variáveis θ_{A-E} e *SH*. Detectamos o efeito de *In(3R)P* sobre a coordenada angular de alguns pontos em algumas coletas, mas não houve consistência alguma entre estes resultados e pouco podemos afirmar sobre eles.

A variável *SH* em si somente sofreu influência de inversões em uma ocasião: na coleta de novembro de 2004 no Recife. O homozigoto padrão apresentou *SH* maior (asas mais arredondadas) do que o heterozigoto e o homozigoto para a inversão *ln(2R)NS* ($P = 0,021$).

Com estes resultados, concluímos que o efeito das inversões cromossômicas mais comuns só pôde ser detectado sobre o tamanho, e não sobre a forma das asas.

Tabela 13 – Médias para cariótipos agrupados da inversão *ln(3R)P* nas três localidades estudadas e no conjunto de todas as amostras (Geral). 0 – +/+; 1 – +/- *ln(3R)P* ou *ln(3R)P/ln(3R)P*. Diferenças significativas entre as categorias, nos parâmetros relacionados ao tamanho (*a*, *b* e *SI*), estão em **negrito**.

Valores de *a*, *b* e *SI* em milímetros.

	Recife		RJ		P. Alegre		Geral	
	0	1	0	1	0	1	0	1
<i>a</i>	0,862	0,787	0,859	0,827	0,980	0,931	0,886	0,812
<i>b</i>	0,416	0,378	0,409	0,394	0,463	0,443	0,421	0,389
θ_A	0,642	0,644	0,633	0,640	0,652	0,674	0,638	0,646
θ_B	2,640	2,622	2,629	2,629	2,656	2,674	2,635	2,629
θ_C	3,160	3,173	3,166	3,171	3,160	3,166	3,164	3,172
θ_D	3,379	3,379	3,383	3,386	3,370	3,374	3,380	3,381
θ_E	4,512	4,505	4,537	4,515	4,470	4,490	4,521	4,506
θ_F	0,436	0,439	0,440	0,438	0,470	0,471	0,446	0,442
D_F	0,661	0,666	0,666	0,671	0,641	0,649	0,661	0,666
θ_G	0,275	0,269	0,278	0,274	0,294	0,303	0,281	0,273
D_G	0,669	0,666	0,671	0,673	0,650	0,655	0,666	0,667
θ_H	5,509	5,788	5,736	5,452	5,469	5,262	5,666	5,647
D_H	0,088	0,091	0,095	0,093	0,067	0,079	0,088	0,090
θ_I	5,191	5,239	5,239	5,231	5,133	5,237	5,213	5,236
D_I	0,325	0,318	0,322	0,321	0,302	0,300	0,318	0,317
θ_J	0,345	0,342	0,341	0,344	0,344	0,349	0,342	0,343
D_J	1,102	1,109	1,117	1,106	1,107	1,116	1,114	1,109
<i>SI</i>	0,599	0,546	0,593	0,570	0,674	0,642	0,611	0,562
<i>SH</i>	0,482	0,481	0,477	0,476	0,473	0,477	0,477	0,479

Tabela 14 – Valores de F e P das ANOVAs realizadas para o efeito da coleta (COL) e de $\ln(3R)P$ sobre as variáveis de tamanho e forma das asas dos machos coletados no Rio de Janeiro – modelo com interações. Valores significativos em **negrito**.

	COL		$\ln(3R)P$		COL* $\ln(3R)P$	
	F	P	F	P	F	P
a	20,39	0,139	362,68	0,033	0,01	0,912
b	0,01	0,944	1390,97	0,017	0,00	0,945
θ_A	171,38	0,049	12,70	0,174	0,01	0,918
θ_B	0,53	0,598	0,16	0,759	0,58	0,447
θ_C	0,00	0,966	10,30	0,192	0,25	0,621
θ_D	0,18	0,748	4,62	0,277	0,12	0,731
θ_E	176,34	0,048	539,79	0,027	0,00	0,957
θ_F	79,30	0,071	12,88	0,173	0,08	0,778
D_F	18,91	0,144	6,85	0,232	0,26	0,613
θ_G	14,16	0,165	5,07	0,266	0,18	0,669
D_G	-	-	-	-	0,00	1,000
θ_H	0,15	0,767	1,50	0,436	1,50	0,224
D_H	-	-	-	-	0,00	0,997
θ_I	144,79	0,053	7,66	0,221	0,03	0,874
D_I	0,04	0,874	0,36	0,655	0,26	0,612
θ_J	67,48	0,077	1,70	0,416	0,12	0,727
D_J	2,23	0,376	0,06	0,845	1,21	0,274
SI	8,19	0,214	633,00	0,025	0,01	0,924
SH	33,85	0,108	8,57	0,210	0,03	0,853

Tabela 15 – Valores de F e P das ANOVAs realizadas para o efeito da localidade (ORIG), das coletas (COL) aninhadas em suas respectivas localidades e de $\ln(3R)P$ sobre as variáveis de tamanho e forma das asas de todos os machos analisados tomados em conjunto – modelo **com interações**.

Valores significativos em **negrito**.

	ORIG		COL		$\ln(3R)P$		ORIG* $\ln(3R)P$	
	F	P	F	P	F	P	F	P
a	9,19	0,041	12,27	0,000	9,25	0,003	0,38	0,681
b	7,94	0,053	15,56	0,000	10,57	0,001	0,08	0,923
θ_A	5,09	0,029	1,09	0,354	1,34	0,249	0,69	0,500
θ_B	6,05	0,031	1,88	0,134	0,14	0,706	0,64	0,529
θ_C	1,82	0,167	0,13	0,945	3,82	0,052	0,19	0,823
θ_D	7,95	0,006	0,92	0,434	0,51	0,477	0,10	0,907
θ_E	7,99	0,003	0,57	0,635	0,09	0,761	1,07	0,343
θ_F	3,93	0,090	2,87	0,037	0,07	0,797	0,31	0,736
D_F	1,26	0,370	4,63	0,004	0,17	0,678	0,32	0,727
θ_G	3,80	0,086	2,29	0,079	0,09	0,764	0,92	0,399
D_G	0,71	0,542	4,59	0,004	0,00	0,946	0,30	0,740
θ_H	2,04	0,147	0,43	0,734	0,42	0,518	0,78	0,460
D_H	2,02	0,210	2,12	0,098	0,51	0,474	0,15	0,860
θ_I	0,97	0,430	2,06	0,105	2,98	0,086	1,47	0,232
D_I	12,13	0,000	0,39	0,761	0,23	0,630	0,03	0,966
θ_J	0,02	0,980	8,31	0,000	0,01	0,936	0,30	0,741
D_J	0,00	0,999	9,62	0,000	0,00	0,998	0,27	0,761
SI	8,61	0,047	14,67	0,000	10,58	0,001	0,23	0,797
SH	1,03	0,381	0,71	0,546	0,01	0,908	0,48	0,621

Tabela 16 – Valores de F e P das ANOVAs realizadas para o efeito das coletas (COL), no Rio de Janeiro, e de $\ln(3R)P$ sobre as variáveis de tamanho e forma das asas dos machos coletados em cada localidade – modelo **sem interações**. Valores significativos em **negrito**.

	Recife		Rio de Janeiro				Porto Alegre	
	$\ln(3R)P$		COL		$\ln(3R)P$		$\ln(3R)P$	
	F	P	F	P	F	P	F	P
a	1,85	0,177	0,28	0,595	4,58	0,035	8,82	0,005
b	2,30	0,132	0,00	0,984	6,83	0,010	9,96	0,003
θ_A	0,08	0,784	1,98	0,162	0,13	0,722	3,33	0,077
θ_B	0,05	0,832	0,17	0,677	0,02	0,885	2,24	0,144
θ_C	1,11	0,294	0,02	0,900	3,04	0,084	2,04	0,162
θ_D	0,00	0,946	0,05	0,829	0,47	0,494	0,64	0,428
θ_E	0,17	0,677	0,52	0,473	1,68	0,198	0,94	0,339
θ_F	0,02	0,895	6,96	0,010	1,22	0,271	0,00	0,972
D_F	0,11	0,739	4,65	0,033	1,57	0,213	0,43	0,517
θ_G	0,21	0,647	3,03	0,085	1,18	0,280	0,95	0,336
D_G	0,23	0,635	4,07	0,046	0,73	0,394	0,15	0,701
θ_H	1,52	0,219	0,52	0,472	3,23	0,075	0,19	0,667
D_H	0,01	0,938	4,41	0,038	0,29	0,592	1,00	0,324
θ_I	0,30	0,588	3,74	0,056	0,18	0,676	6,03	0,019
D_I	0,15	0,696	0,04	0,837	0,04	0,839	0,07	0,795
θ_J	0,05	0,832	9,08	0,003	0,30	0,587	0,49	0,489
D_J	0,01	0,905	2,11	0,149	0,27	0,605	0,44	0,511
SI	2,20	0,141	0,09	0,767	5,94	0,016	10,71	0,002
SH	0,01	0,943	1,30	0,256	0,36	0,551	0,44	0,510

Tabela 17 – Valores de F e P das ANOVAs realizadas para o efeito da localidade (ORIG), das coletas (COL) aninhadas em suas respectivas localidades e de $\ln(3R)P$ sobre as variáveis de tamanho e forma das asas de todos os machos analisados tomados em conjunto – modelo **sem interações**.

Valores significativos em **negrito**.

	ORIG		COL		$\ln(3R)P$	
	F	P	F	P	F	P
a	8,71	0,053	12,83	0,000	14,16	0,000
b	7,10	0,070	16,53	0,000	17,44	0,000
θ_A	6,43	0,044	0,97	0,406	1,36	0,244
θ_B	7,05	0,053	2,08	0,102	0,14	0,704
θ_C	4,58	0,028	0,21	0,892	4,26	0,040
θ_D	9,37	0,021	0,92	0,433	1,06	0,305
θ_E	7,14	0,030	0,74	0,530	0,69	0,407
θ_F	3,64	0,137	2,70	0,046	0,86	0,354
D_F	0,97	0,466	4,45	0,004	1,53	0,218
θ_G	5,59	0,074	2,04	0,108	0,57	0,450
D_G	0,58	0,608	4,44	0,005	0,57	0,451
θ_H	11,42	0,007	0,50	0,680	3,72	0,055
D_H	1,50	0,334	2,31	0,076	0,90	0,343
θ_I	0,48	0,656	2,63	0,051	2,69	0,102
D_I	16,58	0,001	0,41	0,746	0,17	0,680
θ_J	0,05	0,950	8,22	0,000	0,10	0,757
D_J	0,00	0,996	9,94	0,000	0,06	0,811
SI	7,90	0,061	15,47	0,000	16,79	0,000
SH	3,86	0,082	0,60	0,614	0,05	0,826

IV. Conclusão

A variação latitudinal do tamanho das asas e, conseqüentemente, do tamanho corporal geral, de *D. melanogaster* no Brasil aparenta seguir o padrão clinal mundialmente observado: uma relação direta entre o aumento do tamanho e o aumento da latitude, provavelmente causada primariamente pela influência da temperatura. Além disso, a temperatura pode também ter influência sobre a forma das asas, que parece seguir uma tendência de alongamento com o aumento da latitude.

No entanto, não pudemos observar um padrão nítido de variação temporal em nenhuma das duas localidades analisadas sob este aspecto, nem na variação latitudinal ou temporal da herdabilidade. Claramente, se estes padrões existirem, eles só poderão ser detectados através de um estudo mais amplo, com mais pontos de coleta e, sobretudo, maior número de coletas por localidade, com repetições em vários anos. Em valores absolutos, as herdabilidades natural e de laboratório também seguiram a tendência amplamente documentada em várias espécies: valores mais altos para a herdabilidade de laboratório do que para a herdabilidade natural, e maior diferença entre as herdabilidades natural e de laboratório do tamanho, que sofreria maior influência ambiental, do que da forma, com maior determinação genética.

Quanto à influência de inversões cromossômicas, o único efeito consistente e significativo que pudemos observar foi o de *In(3R)Payne* sobre o tamanho corporal, sendo que as moscas que apresentaram a inversão foram menores do que aquelas com o arranjo cromossômico padrão para esta região. Não detectamos, porém, efeito significativo de interação genótipo-ambiente, quer entre coletas, quer entre localidades. Este é o primeiro trabalho em *D. melanogaster* a testar diretamente a influência de *In(3R)Payne* sobre a morfologia.

V. Referências Bibliográficas

- Anderson, A. R., Hoffmann, A. A., McKechnie, S. W., Umina, P. A. & Weeks, A. R., 2005. The latitudinal cline in the *In(3R)Payne* inversion polymorphism has shifted in the last 20 years in Australian *Drosophila melanogaster* populations. *Molecular Ecology* 14(3):851-858.
- Anderson, W. W., 1966. Genetic divergence in M. Vetukhiv's experimental populations of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetical Research* 7:255-266.
- Anderson, W. W., 1973. Genetic divergence in body size among experimental populations of *Drosophila pseudoobscura* kept at different temperatures. *Evolution* 27:278-284.
- Angilletta, M. J. Jr., Steury, T. D. & Sears, M. W., 2004. Temperature, growth rate and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integrative and Comparative Biology* 44:498-509.
- Arnold, J., 1981. Statistics of natural populations. 1. Estimating an allele probability in cryptic fathers with a fixed number of offspring. *Biometrics* 37:495-504.
- Ashton, K. G., 2004. Sensitivity of intraspecific latitudinal clines of body size for tetrapods to sampling, latitude and body size. *Integrative and Comparative Biology* 44(6):403-412.
- Atkinson, D., 1994. Temperature and organism size – a biological law for ectotherms? *Advances in Ecological Research* 25:1-58.
- Atkinson, D., 1995. Effects of temperature on the size of aquatic ectotherms: Exceptions to the general rule. *Journal of Thermal Biology* 20:61-74.
- Atkinson, D. & Sibly, R. M., 1997. Why are organisms usually bigger in colder environments? Making sense of a life history puzzle. *Trends in Ecology and Evolution* 12:235-239.

- Atkinson, D., Ciotti, B. J. & Montagnes, D. J. S., 2003. Protists decrease in size linearly with temperature: ca. 2,5%°C. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270:2605-2611.
- Bergmann, C., 1847. Über die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Thiere zu ihrer Grösse. *Göttinger Studien* 1: 595–708 (citado por Brehm & Fiedler, 2004).
- Bitner-Mathé, B. C., Peixoto, A. A. & Klaczko, L. B., 1995. Morphological variation in a natural population of *Drosophila mediopunctata*: altitudinal cline, temporal changes and influence of chromosome inversions. *Heredity* 75: 54–61.
- Bitner-Mathé, B. C. & Klaczko, L. B., 1999a. Heritability, phenotypic and genetic correlations of size and shape of *Drosophila mediopunctata* wings. *Heredity* 83: 688-696.
- Bitner-Mathé, B. C. & Klaczko, L. B., 1999b. Size and shape heritability in natural populations of *Drosophila mediopunctata*: temporal and microgeographical variation. *Genetica* 105: 35-42.
- Bitner-Mathé, B. C. & Klaczko, L. B., 1999c. Plasticity of *Drosophila melanogaster* wing morphology: effects of sex, temperature and density. *Genetica* 105: 203-210.
- Blanckenhorn, W. U. & Demont, M., 2004. Bergmann and converse Bergmann latitudinal clines in arthropods: two ends of a continuum? *Integrative and Comparative Biology* 44:413-424.
- Bochdanovits, Z. & de Jong, G., 2003a. Experimental evolution in *Drosophila melanogaster*: interaction of temperature and food quality selection regimes. *Evolution* 57:1829-1836.
- Bochdanovits, Z. & de Jong, G., 2003b. Temperature dependent larval resource allocation shaping adult body size in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 16:1159-1167.

- Bookstein, F. L., Chernoff, B., Elder, R. L., Humphries, J. M., Smith, R. L. & Strauss, R. E., 1985. Morphometrics in Evolutionary Biology. Philadelphia: Academy of Natural Sciences of Philadelphia.
- Borash, D. J., Gibbs, A. G. , Joshi, A. & Mueller, L. D., 1998. A genetic polymorphism maintained by natural selection in a temporally varying environment. *American Naturalist* 151:148-156.
- Borash, D. J., Pierce, V. A., Gibbs, A. G. & Mueller, L. D., 2000. Evolution of ammonia and urea tolerance in *Drosophila melanogaster*: resistance and cross-tolerance. *Journal of Insect Physiology* 46(5):763-769.
- Brehm, G. & Fiedler, K., 2004. Bergmann's rule does not apply to geometrid moths along an elevational gradient in an Andean montane rain forest. *Global Ecology and Biogeography* 13: 7-14.
- Cain, A. J. & Sheppard, P. M., 1954. Natural Selection in *Cepaea*. *Journal of Heredity* 39(1):89-116.
- Calboli, F. C. F., Kennington, W. J. & Partridge, L., 2003. QTL mapping reveals a striking coincidence in the positions of genomic regions associated with adaptive variation in body size in parallel clines of *Drosophila melanogaster* on different continents. *Evolution* 57(11):2653-2658.
- Capy, P., Pla, E. & David, J. R., 1993. Phenotypic and genetic variability of morphological traits in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. 1. Geographic variations. *Genetics Selection Evolution*. 25: 517–536.
- Collinge, J. E., Hoffmann, A. A. & McKechnie, S. W., 2006. Altitudinal patterns for latitudinally varying traits and polymorphic markers in *Drosophila melanogaster* from eastern Australia. *Journal of Evolutionary Biology* 19(2):473-482.

- Cowley, D. E., Atchley, W. R. & Rutledge, J. J., 1986. Quantitative genetics of *Drosophila melanogaster*. I. Sexual dimorphism in genetic parameters for wing traits. *Genetics* 114: 549–566.
- Coyne, J. A. & Beecham, E., 1987. Heritability of two morphological characters within and among natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 117:727-737.
- Danks, H. V., 2006. Key themes in the study of seasonal adaptations in insects. II. Life-cycle patterns. *Applied Entomology and Zoology* 41(1): 1-13.
- David, J. R. & Capy, P., 1988. Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations. *Trends in Genetics* 4: 106–111.
- Debat, V., Bégin, M., Legout, H. & David, J. R., 2003. Allometric and nonallometric components of *Drosophila* wing shape respond differently to developmental temperature. *Evolution* 57(12): 2773-2784.
- Endler, J. A., 1977. Geographic variation, speciation and clines. Princeton University Press, Princeton.
- Endler, J. A., 1986. Natural selection in the wild. Princeton University Press, Princeton.
- Falconer, D. S. & Mackay, T. F. C., 1996. Introduction to Quantitative Genetics. Prentice Hall, Harlow, England.
- Fischer, K. & Fiedler, K., 2002. Life-history plasticity in the butterfly *Lycaena hippothoe*: local adaptations and trade-offs. *Biological Journal of the Linnean Society* 75: 173-185.
- Fisher, R. A., 1930. The Genetical Theory of Natural Selection. Clarendon Press, Oxford.
- French, V., Feast, M. & Partridge, L., 1998. Body size and cell size in *Drosophila*: the developmental response to temperature. *Journal of Insect Physiology* 44(11):1081-1089.
- Gibert, P., Moreteau, B., Moreteau, J. C. & David, J. R., 1998. Genetic variability of quantitative traits in *Drosophila melanogaster* (fruit fly) natural populations: Analysis of wild-living flies and of several laboratory generations. *Heredity* 80: 326–335.

- Gibert, P., Capy, P., Imasheva, A., Moreteau, B., Morin, J. P., Pétavy, G. & David, J. R., 2004. Comparative analysis of morphometrical traits among *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: genetic variability, clines and phenotypic plasticity. *Genetica* 120: 165–179.
- Gilchrist, A. S. & Partridge, L., 1999. A comparison of the genetic basis of wing size divergence in three parallel body size clines of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 153: 1775–1787.
- Gilchrist, A. S., Azevedo, R. B. R., Partridge, L. & O'Higgins, P., 2000. Adaptation and constraint in the evolution of *Drosophila melanogaster* wing shape. *Evolution & Development* 2: 114–124.
- Gilchrist, A. S. & Partridge, L., 2001. The contrasting genetic architecture of wing size and shape in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 86: 144–152.
- Gilchrist, G. W., Huey, R. B. & Serra, L., 2001. Rapid evolution of wing size clines in *Drosophila subobscura*. *Genetica* 112-113: 273-286.
- Gilchrist, G. W. & Huey, R. B., 2004. Plastic and genetic variation in wing loading as a function of temperature within and among parallel clines in *Drosophila subobscura*. *Integrative and Comparative Biology* 44: 461–470.
- Gillespie, J. H. & Turelli, M., 1989. Genotype-environment interaction and the maintenance of polygenic variation. *Genetics* 121:129-138.
- Gockel, J., Kennington, W. J., Hoffman, A., Goldstein, D. B. & Partridge, L., 2001. Nonclinality of molecular variation implicates selection in maintaining a morphological cline of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 158: 319-323.
- Gockel, J., Robinson, S. J. W., Kennington, W. J., Goldstein, D. B. & Partridge, L., 2002. Quantitative genetic analysis of natural variation of body size in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 89: 145-153.

- Gonçalves, P. S., Bortoletto, N., Martins, A. L. M., Costa, R. B & Gallo, P. B., 2003. Genotype-environment interaction and phenotypic stability for girth growth and rubber yield of *Hevea* clones in São Paulo State, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 26(4):441-448.
- Haldane, J. B. S., 1948. The theory of a cline. *Journal of Genetics* 48(3):277-284.
- Hale, L. R. & Singh, R. S., 1991. A comprehensive study of genic variation in natural populations of *Drosophila melanogaster*. IV. Mitochondrial DNA variation and the role of history vs. selection in the genetic structure of geographic populations. *Genetics* 129: 103–117.
- Hatadani, L. M., Baptista, J. C. R., Souza, W. N. & Klaczko, L. B., 2004. Colour polymorphism in *Drosophila mediopunctata*: genetic (chromosomal) analysis and nonrandom association with chromosome inversions. *Heredity* 93: 525-534
- Hoffmann, A.A. & Shirriffs, J., 2002. Geographic variation for wing shape in *Drosophila serrata*. *Evolution* 56: 1068–1073.
- Hoffmann, A.A., Sgrò, C.M. & Weeks, A.R., 2004. Chromosomal inversion polymorphisms and adaptation. *Trends in Ecology and Evolution* 19(9): 482-488.
- Huey, R. B., Gilchrist, G. W., Carlson, M. L., Berrigan, D. & Serra, L., 2000. Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science* 287: 308–309.
- Imasheva, A. G., Bubli, O. A. & Lazebny, O. E., 1994. Variation in wing length in Eurasian natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 72: 508–514.
- Imasheva, A.G., Bubli, O.A., Lazenby, O.E. & Zhivotovsky, L. A., 1995. Geographic differentiation in wing shape in *Drosophila melanogaster*. *Genetica* 96: 303–306.
- James, A. C., Azevedo, R. B. R. & Partridge, L., 1995. Cellular basis and developmental timing in a size cline of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 140: 659–666.

- Kennington, W. J., Killeen, J. R., Goldstein, D. B. & Partridge, L., 2003. Rapid laboratory evolution of adult wing area in *Drosophila melanogaster* in response to humidity. *Evolution* 57(4): 932-936.
- Kennington, W. J., Partridge, L. & Hoffmann, A. A., 2006. Patterns of diversity and linkage disequilibrium within the cosmopolitan inversion *In(3R)Payne* in *Drosophila melanogaster* are indicative of coadaptation. *Genetics* 172(3):1655-1663.
- Klaczko, L. B. & Bitner-Mathé, B. C., 1990. On the edge of a wing. *Nature* 346: 231.
- Klaczko, L. B. 1995. Population Genetics of *Drosophila mediopunctata*. In: Levine, L. (Ed.) *Genetics of Natural Populations: the Continuing Importance of Theodosius Dobzhansky*. Columbia University Press. New York.
- Klaczko, L. B., 2006. Evolutionary Genetics of *Drosophila mediopunctata*. *Genetica* 126:1-13.
- Knibb, W.R., Oakeshott, J.G. & Gibson, J.B., 1981. Chromosome inversion polymorphisms in *Drosophila melanogaster*. I. Latitudinal clines and associations between inversions in Australian populations. *Genetics* 98: 833-847.
- Knibb, W. R., 1982. Chromosome inversion polymorphisms in *Drosophila melanogaster* II. Geographic clines and climatic associations in Australasia, North America and Asia. *Genetica* 58(3):213-221.
- Leibowitz, A., Santos, M. & Fontdevila, A., 1995. Heritability and selection on body-size in a natural population of *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 141: 181–189.
- Lemeunier, F., David, J. R., Tsacas, L. & Ashburner, M., 1986. The *melanogaster* species group. Pp. 147–256 in Ashburner, M. & Novitski, E., eds. *The genetics and biology of Drosophila*. Vol. 3e. Academic Press, New York.
- Lewontin, R. C., 1974. The analysis of variance and the analysis of causes. *American Journal of Genetics* 26:400-411.
- Lewontin, R. C., 2000. *The Triple Helix*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

- Loh, R. & Bitner-Mathé, B. C., 2005. Variability of wing size and shape in three populations of a recent Brazilian invader, *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae), from different habitats. *Genetica* 125: 271-281.
- Lynch, M. & Walsh, B., 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Matta, B. P. & Bitner-Mathé, B. C., 2004. Genetic architecture of wing morphology in *Drosophila simulans* and an analysis of temperature effects on genetic parameter estimates. *Heredity* 93(4):330-341.
- Montenegro, H., Souza, W. N., Leite, D. S. & Klaczko, L. B., 2000. Male-killing selfish cytoplasmic element causes sex-ratio distortion in *Drosophila melanogaster*. *Heredity* 85: 465-470.
- Moraes, E. M. & Sene, F. M., 2004. Heritability of wing morphology in a natural population of *Drosophila gouveai*. *Genetica* 121: 119-123.
- Moraes, E. M., Manfrin, M. H., Laus, A. C., da Silva Rosada, R., Bomfin, S. C. & Sene, F. M., 2004. Wing shape heritability and morphological divergence of the sibling species *Drosophila mercatorum* and *Drosophila paranaensis*. *Heredity* 92: 466-473.
- Moreteau, B. & David, J. R., 2005. Phenotypic plasticity and reaction norms of abdominal bristle number in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biosciences* 30(5): 689-697.
- Partridge, L. & French, V., 1996. Why get bigger in the cold? Pp. 265-292 in Johnston, I. A. & Bennett, A. B., eds. *Animals and Temperature*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Partridge, L. & Coyne, J. A., 1997. Bergmann's rule in ectotherms: Is it adaptive? *Evolution* 51:632-635.
- Pegueroles, G., Papaceit, M., Quintana, A., Guillén, A., Prevosti, A & Serra, L., 1995. An experimental study of evolution in progress: clines for quantitative traits in colonizing and palearctic populations of *Drosophila*. *Evolutionary Ecology* 9(4): 453-465.

- Peixoto, A. A. & Klackzko, L. B., 1991. Linkage disequilibrium analysis of chromosomal inversion polymorphisms of *Drosophila*. *Genetics* 129: 773-777.
- Powell, J. R., 1974. Temperature related genetic divergence in *Drosophila* body size. *Journal of Heredity* 65:257-258.
- Prevosti, A., Serra, L., Ribo, G., Aguade, M., Sagarra, E., Monclus, M. & Garcia, M. P., 1985. The colonization of *Drosophila subobscura* in Chile. II. Clines in the chromosomal arrangements. *Evolution* 39(4):838-844.
- Prevosti, A., Ribo, G., Serra, L., Aguade, M., Balana, J., Monclus, M. & Mestres, F., 1988. Colonization of America by *Drosophila subobscura* – experiment in natural populations that supports the adaptive role of chromosomal inversion polymorphism. *Proceedings of the National Academy of Science* 85:5597-5600.
- Prout, T. & Barker, J. S. F., 1989. Ecological aspects of the heritability of body size in *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 123(4):803-813.
- Riska, B., Prout, T. & Turelli, M., 1989. Laboratory estimates of heritability and genetic correlations in nature. *Genetics* 123:865–871.
- Roff, D. A. & Mousseau, T. A., 1987. Quantitative genetics and fitness: Lessons from *Drosophila*. *Heredity* 58: 103–118.
- Roff, D. A., 1997. *Evolutionary Quantitative Genetics*. Chapman and Hall, New York.
- Rohlf, F. J., 2004. TpsDig v1.40. <http://life.bio.sunysb.edu/morph/>.
- Rorato, P. R. N., Van Vleck, D., Vernegue, R. D., Martinez, M. L., Valente, J. & Gadini, C. H., 2000. Genotype-environment interaction on milk production in Holstein herds in Brazil. 2. Use of an animal model. *Revista Brasileira de Zootecnia – Brazilian Journal of Animal Science* 29(6):2030-2035.
- Ruiz, A., Santos, M., Barbadilla, A., Quezada-Díaz, J. E., Hasson, E. & Fontdevila, A., 1991. Genetic variance for body size in a natural population of *Drosophila buzzatii*. *Genetics* 128(4):739-750.

- Santos, M., Iriarte, P. F., Céspedes, W., Balanyà, J., Fontdevila, A. & Serra, L., 2004. Swift laboratory thermal evolution of wing shape (but not size) in *Drosophila subobscura* and its relationship with chromosomal inversion polymorphism. *Journal of Evolutionary Biology* 17:841-855.
- Santos, M., Céspedes, W., Balanyà, J., Trotta, V., Calboli, F. C. F., Fontdevila, A. & Serra, L., 2005. Temperature-related genetic changes in laboratory populations of *Drosophila subobscura*: evidence against simple climatic-based explanations for latitudinal clines. *American Naturalist* 165(2) 258:273.
- Stalker, H.D. & Carson, H.L., 1947. Morphological variation in natural populations of *Drosophila robusta* Sturtevant. *Evolution* 1: 237-248.
- Umina, P. A., Weeks, A. R., Kearney, M. R., McKechnie, S. W. & Hoffmann, A. A., 2005. A rapid shift in a classic clinal pattern in *Drosophila* reflecting climate change. *Science* 308: 691-693.
- Van Delden, W. & Kamping, A., 1991. Changes in relative fitness with temperature among second chromosome arrangements in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 127:507-514.
- Van't Land, J., Van Putten, P., Villarroel, H., Kamping, A. & Van Delden, W., 1995. Latitudinal variation in wing length and allele frequencies for *Adh* and α -*Gpdh* in populations of *Drosophila melanogaster* from Ecuador and Chile. *Drosophila Information Service* 76: 156.
- Van't Land, J., Van Putten, W. F., Villarroel, H., Kamping, A. & Van Delden, W., 2000. Latitudinal variation for two enzyme loci and an inversion polymorphism in *Drosophila melanogaster* from Central and South America. *Evolution* 54(1): 201-209.
- Weeks, A.R., McKechnie, S.W. & Hoffmann, A.A., 2002. Dissecting adaptive clinal variation: markers, inversions and size/stress associations in *Drosophila melanogaster* from a central field population. *Ecology Letters* 5: 756-763.

- Weigensberg, I. & Roff, D. A., 1996. Natural heritabilities: can they be reliably estimated in the laboratory? *Evolution* 50: 2149–2157.
- Weisstein, E.W., 2004. Polar Coordinates. Em: Math-World – A Wolfram Web Resource. <http://mathworld.wolfram.com/PolarCoordinates.html>.
- Zhang, X. S., 2005. Evolution and maintenance of the environmental component of the phenotypic variance: benefit of plastic traits under changing environments. *American Naturalist* 166(5):569-580.
- Zhivotovsky, L. A. & Gavrilets, S., 1992. Quantitative variability and multilocus polymorphism under epistatic selection. *Theoretical Population Biology* 42:254-283.
- Zhivotovsky, L. A., Feldman, M. W. & Bergman, A., 1996. On the evolution of phenotypic plasticity in a spatially heterogeneous environment. *Evolution* 50(2):547-558.