

Existe uma demanda conflitante entre a melanina alocada para o sistema imune e para a camuflagem em larvas da libélula *Micrathyria catenata* (Odonata: Libellulidae)?

Danilo E. Oliveira

Introdução

Infecções em insetos estimulam um conjunto de respostas defensivas do sistema imunológico que envolvem o reconhecimento de patógenos por receptores e a reação através da produção de um sinal químico alterando a expressão de genes de defesa (Schmid-Hempel, 2005). Esse sinal promove a atividade de células especializadas, denominadas hemócitos, que promovem a fagocitose ou a encapsulação do corpo estranho através da deposição de melanina (Gillespie *et al.*, 1997). Embora a imunocompetência ofereça os benefícios óbvios da redução da infestação por parasitas, frequentemente existe uma demanda conflitante com outros componentes da aptidão (Schwartz & Koella, 2004). Quando o custo da defesa é mais dispendioso que seus benefícios (e.g. defesa na ausência de parasitas), pode haver uma re-alocação dos recursos de manutenção do sistema imune para outras funções no organismo (e.g. reprodução) (Rigby, 2002). Freitak *et al.* (2003) estudando a borboleta *Pieris brassicae* e Schwartz & Koella (2004) estudando o mosquito *Aedes aegypti* demonstraram que não há um custo geral de imunidade, pois este

varia de acordo com o tipo de antígeno. Aqueles que são reconhecidos pelo sistema imunológico como potencialmente danosos estimulam uma resposta mais rápida e efetiva e, em última análise, mais dispendiosa para o organismo (Schwartz & Koella, 2004).

Em insetos, pode existir uma demanda conflitante entre alocar melanina para o sistema imunológico e para a camuflagem. Vasconcelos-Neto & Gonzaga (2000) citam vários exemplos de borboletas, psocópteros e aranhas que se utilizam da melanização do corpo como forma de camuflagem. Um padrão críptico pode conferir vantagens adaptativas tanto para presas escaparem da predação quanto para predadores crípticos, que conseguem chegar mais próximo de suas presas para capturá-las (Krebs & Davies, 1996). Em sistemas aquáticos, por exemplo, larvas de libélula são predadores que devem chegar bem próximo de suas presas para capturá-las e, nesses organismos, a coloração críptica conferida pela formação de manchas de melanina no exoesqueleto é de fundamental importância (P. De Marco, com. pess.).

Ambientes como poças d'água podem apresentar uma alta abundância de larvas de

libélulas de muitas espécies. Na Amazônia Central, a libélula *Micrathyrja catenata* (Libellulidae) é bastante comum em poças permanentes, sendo frequentemente encontradas forrageando sobre folhas submersas próximo às margens. A espécie é um bom objeto de estudo em ecologia imunológica por possuir respostas imunológicas rápidas pelo encapsulamento de antígenos, como implantes experimentais, por melanina (Oliveira *et al.*, 2007).

O objetivo deste trabalho foi testar se existe uma demanda conflitante entre alocar melanina para o sistema imunológico e para a camuflagem nas larvas de *M. catenata*. A hipótese é que larvas que respondem a antígenos depositando melanina são menos pigmentadas que larvas que não respondem. Espera-se que larvas que depositam melanina nos implantes apresentem uma menor intensidade de cinza em seu padrão de coloração externo.

Material & métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado na Reserva do Km 41 pertencente ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais (2°26'25''S, 59°45'43''O) e localizada a cerca de 80 km do norte de Manaus. O clima da região é quente e úmido, com duas estações marcadas, temperatura anual média de 26°C e precipitação anual variando de 1.900 a 2.300

mm (RADAMBRASIL, 1998). A coleta de dados foi realizada em uma poça permanente localizada ao lado da estrada que corta a floresta. A poça possui um formato elipsóide com aproximadamente 15 m de comprimento e 6 m de largura. A profundidade máxima da coluna d'água é de apenas 1 m, de forma que alguns galhos secos que caíram da floresta ao lado ficam parcialmente expostos. Por estar mais próxima da floresta em sua margem oeste, a poça recebe incidência solar direta apenas no período entre 8:00 e 14:00 h.

Coleta e análise dos dados

As larvas de *Micrathyrja catenata* foram coletadas no período de 9:00 às 11:30 h utilizando uma peneira. Os indivíduos coletados foram acondicionados em jarro plástico com água da própria poça. Em cada larva de *M. catenata* foi inserido um implante de nylon de 0,5 cm de comprimento na porção ântero-lateral direita do abdome. Após a inserção dos implantes, as larvas foram mantidas isoladas durante 24 h em placas de Petri com água. Passadas 24 h, os implantes foram retirados e foi observado em microscópio estereoscópico se houve ou não deposição de melanina. Das 40 larvas coletadas, apenas 16 sobreviveram. Foram então coletadas 20 outras larvas e repetiu-se o experimento mantendo-as isoladas durante 12 h em placas de Petri com água. Dessas seis morreram e, no total, foram analisadas 30 larvas, 16 sob um regime de 24 h implantadas

e 14 sob um regime de 12 h. Foi contado o número de indivíduos que responderam ao implante depositando melanina.

Para testar se existe uma demanda conflitante entre o sistema imunológico e a camuflagem foram feitas fotografias digitais da cabeça das larvas em vista dorsal utilizando uma máquina fotográfica *Canon Power Shot A570IS* (zoom óptico de 4 vezes e 7,1 megapixels de resolução) acoplada ao microscópio estereoscópico. Utilizando o programa *Adobe Photoshop 7.0.1* (*Adobe Systems Inc.*) as fotografias foram editadas da seguinte forma: a área da cabeça das larvas foi selecionada, excetuando-se a área dos olhos; transformada em tons de cinza e calculada a intensidade de cinza. Os valores oferecidos pelo programa variam de zero (totalmente preto) a 255 (totalmente branco). Subtraiu-se 255 do valor da variável original de forma a torná-la diretamente interpretável como tonalidade de cinza, indicativa de quantidade de melanina. Para testar se implantes com deposição de melanina apresentaram diferenças de intensidade de cinza, como evidência de investimento em camuflagem, foi usado o teste t para amostras independentes. Para avaliar possíveis problemas metodológicos relativos às diferenças de tempo de experimento no teste acima, a robustez dos resultados foi avaliada comparando separadamente os indivíduos com 12 h e 24 h de exposição da mesma

forma que acima, apesar do menor número de amostras no experimento com 12 h.

Resultados

Das 30 larvas de *M. catenata* amostradas, 23 (76%) responderam ao tratamento depositando melanina nos implantes. Os indivíduos que não responderam aos implantes tiveram valores de intensidade de cinza variando entre 181,7 e 212,2 (média±DP= 195,64±12,53), enquanto os indivíduos que responderam aos implantes variaram entre 172,96 e 211,27 (média±DP= 192,28±10,67). Considerando todos os indivíduos, não houve diferença significativa na intensidade de cinza entre as larvas que responderam aos implantes e as que não responderam ($t = 0,701$; g.l. = 28; $p = 0,489$). Os resultados foram também não significativos considerando apenas 12 h ($t = 0,472$; g.l. = 12; $p = 0,645$) e 24 h de experimento ($t = 1,410$; g.l. = 14; $p = 0,180$).

Discussão

Siva-Jothy (2000) estudou a libélula *Calopteryx splendens xanthostoma* e observou que existe uma demanda conflitante no emprego da melanina para a pigmentação das asas e para o sistema imunológico. Por outro lado, Schwartz & Koella (2004), encontraram que a melanização de implantes neutros não teve efeito na fecundidade do mosquito *Aedes*

aegypti. No presente estudo, não foi encontrada uma demanda conflitante na alocação de melanina para a camuflagem e para o sistema imunológico. Existem duas hipóteses para explicar esse resultado: 1) a camuflagem não demanda melanina o suficiente para afetar o seu uso pelo sistema imunológico e 2) larvas bem alimentadas possuem energia suficiente para atender tanto à demanda de melanina para a camuflagem quanto à demanda para o sistema imune.

De acordo com Norris & Evans (2000), só existe uma demanda conflitante entre imunocompetência e componentes da história de vida caso o sistema imunológico seja limitado por recursos. Rigby (2002) afirma que quando a aquisição de recursos alimentares é baixa, o custo da resistência a parasitas deve-se à dificuldade fisiológica em re-alocar, para o sistema imunológico, esses recursos adquiridos, que seriam utilizados em outras vias (e.g. produção de ovos e crescimento). Porém, um padrão de camuflagem que não exige muita melanina pode ser suficiente para conferir uma capacidade de predação adequada a essas larvas, não havendo dificuldade em alocar recursos para o sistema imunológico.

Schmid-Hempel (2005) afirma que a disponibilidade de recursos, assim como a interferência de parasitas, afetam a resposta imune de um organismo. Existem evidências que recursos alimentares ricos em proteínas podem limitar a imunocompetência (Norris &

Evans, 2000). Caso as presas das larvas de *M. catenata* forem abundantes e nutritivas, as larvas podem ter recursos alimentares suficientes para metabolizar melanina para a manutenção de seu sistema imunológico e, ao mesmo tempo, para a camuflagem.

No presente estudo, a resposta imunológica das larvas, aferida pela presença ou ausência de deposição de melanina nos implantes, não foi quantificada, mas apenas classificada como presente ou ausente. Essa limitação metodológica não invalida os resultados encontrados, porém, é possível que eles fossem mais acurados se a deposição de melanina nos implantes fosse medida quantitativamente. Sugere-se essa abordagem em estudos futuros que analisem a existência de uma demanda conflitante no uso de melanina pelo sistema imunológico e camuflagem de larvas de *M. catenata*.

A existência de demandas conflitantes entre o sistema imunológico e componentes da história de vida dos animais não é um padrão geral. Neste estudo foi demonstrado que não há uma demanda conflitante na alocação de melanina para o sistema imune e para a camuflagem de larvas da libélula *M. catenata*. Isso pode ser devido ao sistema imunológico não ser limitado pela aquisição de recursos ou pela camuflagem não demandar melanina suficiente para influenciar o sistema imune. Desse modo, trabalhos futuros deverão analisar quantitativamente a eficiência do sistema imune perante o uso da melanina por

outros componentes da história de vida dos animais.

Agradecimentos

Agradeço, em primeiro lugar, ao Zé Luis e às benditas vilosidade intestinais do Glauco por fazerem de um único mês, um tratamento de choque sobre pergunta-hipótese-predição. Mais que isso, me ajudaram a ser um profissional mais humano e uma pessoa melhor. Obrigado aos bonitores Dé e Jú por estarem sempre no apoio e ofertando uma amizade incondicional. Obrigado a todos os amigos que fiz nesse curso e, em especial, aos Pseudoreplication do Igarafest, nas tantas noites hilárias e descontraídas. Agradeço também aos professores (Paulo, Adriano, Jorge, Marco, Akama, enfim) que tornaram possível esse intenso e produtivo curso. Obrigado ao Cabocão, Seu Cardoso, ao Léo Marajó, à Dona Eduarda (pelos deliciosos pães com ovos e sucos de caju) e ao Didi.

Referências bibliográficas

Freitak, D.; I. Ots; A. Vanatoa & P. Hórak. 2003. Immune response is energetically costly in white cabbage butterfly pupae. *Proceedings of the royal society B (Suppl.)*, 270, 220-222.

Gillespie, J.P.; M.R. Kanost & T. Trenczek. 1997. Biological mediators of insect

immunity. *Annual Review of Entomology*, 42: 611-643.

Krebs, J.R. & N.B. Davies. 1996. *Introdução à ecologia comportamental*. Atheneu Editora, São Paulo.

Norris, K. & M.R. Evans. 2000. Ecological immunology: life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology*, 11: 19-26.

Oliveira, D.E.; M. Borges; M. Dias & P. Togni. 2007. O tamanho e a simetria de machos da libélula *Micrathyrja catenata* (Odonata: Libellulidae) são bons preditores de sua habilidade imunológica? In: Livro do curso de campo "Ecologia da Floresta Amazônica" (J.L. Camargo & G. Machado, eds.). PDBFF/INPA, Manaus.

RADAMBRASIL. 1978. Levantamento de recursos naturais, vol. 1-18. Ministério das Minas e Energia, Departamento de Produção Mineral, Rio de Janeiro.

Rigby, M.C.; R.F. Hechinger & L. Stevens. 2002. Why should parasite resistance be costly? *Trends in Parasitology*, 18: 116-120.

Schmid-Hempel, P. 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annual Review of Entomology*, 50: 529-551.

Schwartz, A. & J.C. Koella. 2004. The cost of immunity in the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti* depends on immune

- activation. *Journal of Evolutionary Biology*, 17: 834-840.
- Siva-Jothy, M.T. 2000. A mechanistic link between parasite resistance and expression of a sexually selected trait in a damselfly. *Proceedings of the royal society*, 267: 2523-2527.
- Vasconcellos-Neto, J. & M.O. Gonzaga. 2000. Evolução de padrões de coloração em artrópodes, pp. 337-370. In: *Ecologia e comportamento de insetos* (R.P. Martins; T.M. Lewinsohn & M.S. Barbeitos, eds.). Série *Oecologia Brasiliensis*, PPGE-UFRJ, Rio de Janeiro.