

A ÚLTIMA REFEIÇÃO NÃO É IMPORTANTE PARA A RESPOSTA IMUNOLÓGICA DE MACHOS DA LIBÉLULA *Micrathyrja* sp. (ODONATA: LIBELLULIDAE)

Letícia de Souza Soares

INTRODUÇÃO

A resposta imunológica consiste nos mecanismos fisiológicos e moleculares de um organismo para lidar com patógenos invasores (Rolff & Siva-Jothy, 2003). A eficiência desses mecanismos é essencial para a sobrevivência de um animal, pois infecções por parasitas apresentam alto custo energético para o hospedeiro, podendo até mesmo causar a sua morte dependendo da virulência do parasita (Cotter *et al.*, 2004). Em algumas espécies de artrópodes, o sucesso de acasalamento dos machos também pode ser afetado pela resposta imunológica, pois indivíduos com melhor sistema imune são preferencialmente escolhidos pelas fêmeas e conseguem mais cópulas (Siva-Jothy, 2000). Essa preferência ocorre provavelmente porque a expressão fenotípica de caracteres sexualmente selecionados nos insetos é mediada pelos mesmos compostos

que modulam a imunidade (Rolff & Siva-Jothy, 2003). Em libélulas do gênero *Calopteryx*, por exemplo, o dimorfismo sexual é expresso por manchas nas asas dos machos e os indivíduos com manchas mais escuras conseguem mais cópulas. Nesse caso, a melanina que confere a pigmentação da asa dos machos é a mesma que é depositada nos patógenos invasores como resposta imunológica (Siva-Jothy, 2000).

A melanização de antígenos é um dos principais mecanismos da resposta imune em insetos. A produção de melanina é mediada pela enzima fenol-oxidase, que é expressa e regulada em resposta à presença de antígenos na hemolinfa do hospedeiro (Siva-Jothy, 2000). Por sua vez, a fenol-oxidase também é sintetizada por um complexo protéico que é ativado na presença de patógenos (Söderhäll & Cerenius, 1998). Além disso, a síntese de melanina parece ser dependente da quantidade

ingerida do aminoácido fenilalanina, o que sugere que esse tipo de resposta imunológica seja, pelo menos em parte, limitada pelo estado nutricional do hospedeiro (Siva-Jothy, 2000). De fato, existem evidências de que a inanição influencia negativamente a resposta imunológica em invertebrados (Feder *et al.*, 1997) e de que a habilidade de se defender de patógenos realmente apresenta um alto custo energético para os indivíduos (Schmid-Hempel, 2005).

Este trabalho testa experimentalmente a eficiência da resposta imunológica em indivíduos da libélula *Micrathyría* sp. (Odonata: Libellulidae) em diferentes estados nutricionais. Minha hipótese é que indivíduos bem alimentados apresentarão resposta imunológica mais eficiente do que indivíduos mal alimentados.

MATERIAL & MÉTODOS

Área de estudo e coleta dos indivíduos

Realizei este estudo na reserva do Km 41, pertencente ao Projeto Dinâmica Biológica de Fragmentos Florestais, localizada a cerca de 80 km

ao norte da cidade de Manaus, Amazonas. Coletei os machos de *Micrathyría* sp. em uma poça permanente localizada na beira da estrada, na altura do km 41 da estrada vicinal ZF-3. A poça apresenta forma similar à de uma elipse, com cerca de 15 m de comprimento, 8 m de largura e profundidade máxima de 1 m. O horário de coleta foi entre 8 e 11 h da manhã, período em que ocorre o pico de atividade dos machos de *Micrathyría* sp. na poça estudada (Buzatto, 2006). Acondicionei os indivíduos coletados em sacos plásticos e os mantive durante todo o experimento em uma caixa de isopor, para evitar que os animais morressem de dessecação.

Experimento de eficiência da resposta imunológica em machos de *Micrathyría* sp.

Como não se sabe se a resposta imunológica difere entre machos e fêmeas de *Micrathyría* sp., utilizei apenas indivíduos machos no experimento descrito a seguir. Para investigar se a eficiência da resposta imunológica dos machos depende de seu estado nutricional, designei aleatoriamente os 30 machos de

Micrathyria sp. coletados para dois grupos experimentais. No primeiro grupo (n = 15), logo após a coleta, alimentei todos os indivíduos *ad libitum* durante 5 min com larvas de Diptera coletadas em matéria orgânica em decomposição. No segundo grupo (n = 15), mantive os indivíduos sem alimentação durante 7 h. Para quantificar a eficiência da resposta imunológica dos machos, utilizei implantes de náilon que simulavam a presença de um patógeno dentro dos indivíduos. Confeccionei estes implantes com um fio de náilon de 3 mm de comprimento e 0,2 mm de espessura. Esterilizei os implantes em álcool 70%, e os inseri na membrana ventral entre o quarto e o quinto segmentos abdominais de todos os machos, 7 h após a coleta. Retirei os implantes de todos os machos 3 h após a inserção. Posteriormente, fotografei dois lados opostos de todos os implantes em uma lupa para obter uma imagem ampliada da área de cada implante que foi melanizada pelos machos. Considerei o somatório da área melanizada nos dois lados do implante como variável operacional para a resposta imunológica dos machos.

Calculei essa área usando o programa ImageTool[®]. Para testar se a resposta imunológica de machos alimentados diferia da resposta imunológica de machos não alimentados, utilizei um teste t.

RESULTADOS

Machos de *Micrathyria* sp. alimentados e não alimentados apresentaram resposta imunológica similar (teste t = 0,230; g.l. = 28; p = 0,820). Os indivíduos alimentados e não alimentados melanizaram, em média $0,31 \pm 0,19 \text{ mm}^2$ (21% da área do implante preenchida) e $0,29 \pm 0,18 \text{ mm}^2$ (20% da área do implante preenchida), respectivamente.

DISCUSSÃO

A eficiência da resposta imunológica não foi influenciada diretamente pelo estado nutricional recente dos machos de *Micrathyria* sp.. É possível que a eficiência do sistema imune dos machos esteja mais relacionada à história pregressa dos indivíduos, como a quantidade de alimento ingerida durante a fase larval. Dessa forma, indivíduos que tiveram uma má alimentação durante o estágio larval, em geral,

apresentarão resposta imunológica menos eficiente do que em indivíduos bem alimentados, pois a quantidade de melanina produzida na fase adulta pode ser dependente do quanto de aminoácido precursor para esta substância foi acumulado no período larval. Além disso, como neste estudo a resposta imune dos indivíduos foi medida pouco tempo após a alimentação (7 h), é possível que este tempo tenha sido insuficiente para que os indivíduos respondessem às mudanças na dieta. Portanto, pode ser que o tempo de resposta para que ocorram mudanças na eficiência do sistema imune com a alimentação seja maior do que o considerado aqui.

Houve grande variação na área dos implantes melanizada pelos machos de *Micrathyria* sp.. Uma possível explicação para este fato pode ser a variabilidade da ocorrência dos alelos que expressam a resposta imune na população (ver Cotter & Wilson, 2002), aliada aos fatores ambientais que determinam a expressão deste caráter. O fenótipo de um indivíduo é a combinação da expressão genotípica aliada às características ambientais às quais este indivíduo foi submetido

(Futuyma, 1997). Ainda que a resposta imune seja em grande parte geneticamente determinada, a síntese de melanina nos artrópodes é dependente de um aminoácido essencial, a fenilalanina (Siva-Jothy, 2000). Assim, pode ser que os machos de *Micrathyria* sp. tenham apresentado eficiências de resposta imune variadas devido tanto a características genéticas quanto nutricionais, que possivelmente variavam entre os indivíduos.

Este trabalho demonstra que a eficiência da resposta imunológica não pode ser explicada pela condição nutricional mais recente dos machos de *Micrathyria* sp.. Entretanto, ressalta que existe uma variação na eficiência de resposta imune entre os machos da população. Recomendo que estudos futuros investiguem a influência da qualidade alimentar durante o estágio larval na eficiência da resposta imunológica dos adultos. Além disso, sugiro estudos em laboratório que observem a resposta imunológica em períodos de tempo mais longos após a alimentação.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Glauco e ao Zé por me ajudarem a ver os fatos e me fazerem querer ser uma cientista melhor. Ao Marco Mello pelo primeiro projeto orientado do curso e pelas balas de ursinho. Sou grata também ao Adriano Melo pelos ensinamentos em estatística e pelas dicas super legais no programa R. À Cláudia de Deus pela orientação no projeto da várzea e por ter me ensinado da forma mais doce como usar uma rede de pesca. À Cíntia Cornelius pelo projeto inesquecível com as aranhas com distribuição *anidada*. Ao Bruno Buzatto pela orientação no projeto com os machos rosas de libélulas e por ter me apresentado os estudos fantásticos com imunologia de artrópodes. Ao Dé Junqueira pela ajuda imprescindível no primeiro projeto livre do curso e pelas muitas risadas nesse mês todo. Ao Jorge Nessimian pelos ensinamentos sobre a língua portuguesa e pelo som de pandeiro intermitente na fase da várzea e do igapó. Ao Paulinho Enrique pelas dicas de estatística e pelos resgates no programa R (*meu irmão, você não sabe o que é estatística não*). Ao Luciano Lopes pelas piadas

em duplo sentido. Ao Léo Marajó por ajudar sempre em todos os trabalhos de campo e por me ensinar a pilotar a voadeira e dançar o brega manauara. A todos os companheiros do EFA 2008 que tornaram os dias de cansaço e muito trabalho em horas de diversão insana. Em especial sou grata à Marília Gaiarsa e Sabrina Outeda-Jorge pela amizade e por terem cuidado de mim quando eu precisava. Ao Rio Negro por ter levado vários dos meus pertences. E por último, mas não menos importante, ao Pelúcio por ter dado sua vida para a qualidade de todos os trabalhos ao longo do curso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Buzatto, B.A. 2006. A massa corporal e a simetria alar de machos da libélula *Micrathyria* sp. (Odonata: Libellulidae) influenciam seu sucesso reprodutivo? Em: Livro do curso de campo “Ecologia da Floresta Amazônica” (J.L.C. Camargo & G. Machado, eds.). PDBFF/INPA, Manaus.
- Cotter, S.C. & K. Wilson. 2002. Heritability of immune function in the caterpillar *Spodoptera littoralis*. *Heredity*, 88: 229–234.

- Cotter, S.C.; L.E.B. Kruuk & K. Wilson. 2004. Costs of resistance: genetic correlations and potential trade-offs in an insect immune system. *Journal of Evolutionary Biology*, 17: 421-429.
- Feder, D.; C. Mello; E.S. Garcia & P. Azambuja. 1997. Immune responses in *Rhodnius prolixus*: influence of nutrition and ecdysone. *Journal of Insect Physiology*, 43: 513–519.
- Futuyma, D.J. 1997. *Biologia Evolutiva*. Sociedade Brasileira de Genética, Brasília.
- Rolff, J. & M.T. Siva-Jothy. 2003. Invertebrate ecological immunology. *Science*, 301: 472-474.
- 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 of London*, 267: 2523-2527.
- Schmid-Hempel, P. 2005. Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annual Review of Entomology*, 50: 529-551.
- Söderhäll, K. & L. Cerenius. 1998. Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 10: 23–28.