

O tamanho da mancha na asa sinaliza a eficiência da resposta imune em machos da libélula *Erythrodiplax* sp. (Odonata: Libellulidae)

Claudia P. Paz, Marcel Vaz, Mariana Silva & Oswaldo Cruz Neto

Introdução

A seleção sexual é um processo evolutivo que resulta do sucesso reprodutivo diferencial entre indivíduos de uma população (Fincke 1988). Para os machos, o sucesso reprodutivo é determinado principalmente pelo número de cópulas. Por outro lado, o sucesso reprodutivo das fêmeas é determinado principalmente pela qualidade dos parceiros com as quais elas copulam (Bateman 1948). A seleção sexual pode ocorrer entre indivíduos de um mesmo sexo (seleção intrasexual), em que os machos disputam as fêmeas com outros machos, ou entre indivíduos de sexos diferentes (seleção intersexual), em que machos usam estratégias para atrair as fêmeas (Futuyma 1986).

Para atrair as fêmeas, os machos podem investir em estratégias como sinalizações em cores, sons e exibições que indicam um genótipo de boa qualidade (Andersson 1994). Os sinais expressos no fenótipo geralmente são

uma representação honesta do genótipo do indivíduo (Siva-Jothy 2000). No entanto, estratégias de sinalização por machos podem ser desonestas, mas não se fixam na população. Um caso de sinalização desonesta ocorre em machos da mosca *Rhamphomyia sulcata*. Nesta espécie de mosca os machos normalmente conseguem cópulas presenteando a fêmea com presas enroladas na seda, enquanto outros machos desonestos oferecem pedras enroladas em seda com o intuito de conseguirem cópulas (LeBas & Hockham 2005). As sinalizações honestas ocorrem com frequência e permanecem na população, pois são selecionadas e passadas por gerações. Um exemplo de sinal honesto ocorre numa espécie de tentilhão, na qual a cor do bico do macho é um sinal atrativo para as fêmeas. Os machos perdem a coloração do bico quando são parasitados, tornando-se menos atrativos para as fêmeas (Pennisi 2003). Assim, o processo de seleção sexual pode ser responsável pelo

dimorfismo sexual encontrado em diversos grupos de animais que utilizam mecanismos de sinalização para atrair o sexo oposto (Shuster & Wade 2003).

Nas libélulas (Odonata) o dimorfismo sexual ocorre em alta frequência nas espécies. Nestes insetos, as fêmeas podem ser orientadas visualmente e escolherem os machos para copular com base em sinalizações visuais (Silsby 2000). Uma das estratégias de sinalização visual em machos de libélulas é o investimento em coloração no corpo e manchas nas asas. Os padrões de coloração podem ser sexualmente selecionados e fixados na população se essas características estiverem ligadas à qualidade do genótipo dos machos. Dessa forma, os machos poderiam utilizar a coloração conspicua ou manchas grandes na asa, formadas pela deposição de melanina, para sinalizar às fêmeas sua qualidade genotípica (Grether 1996). Isto porque, além da melanina fazer parte dos compostos que dão coloração ao corpo e às manchas nas asas, ela está diretamente ligada à resposta imunológica do indivíduo.

A melanização é um mecanismo de resposta imune inata que ocorre pela

produção e deposição de melanina sobre os antígenos que invadem o corpo de artrópodes (Schmid-Hempel 2005). A melanização depende da quantidade de fenilalanina adquirida pela alimentação dos indivíduos. Nesse processo, a enzima feniloxidase é expressa como resposta à presença dos antígenos no corpo dos indivíduos e produz melanina que será utilizada para encapsular o antígeno invasor numa tentativa de cessar sua atividade danosa (Cerenius & Soderhall 2004). Assim, a deposição de melanina depende de fatores genéticos e ambientais (Hooper *et al.* 1999; Contreras-Garduño *et al.* 2007). Considerando que machos de libélulas usam o tamanho da mancha da asa como sinal honesto para atrair as fêmeas, buscamos saber se o tamanho da mancha nas asas dos machos de libélulas está correlacionado à eficiência da resposta imune. Nossa hipótese é que os machos com manchas maiores na asa apresentam melhor resposta imune.

Métodos

Área de estudo

Realizamos este estudo na reserva do Km 41 (2°25'S; 59°48'O) que pertence ao Projeto Dinâmica Biológica de

Fragmentos Florestais, Manaus, Amazonas. A reserva é composta por floresta primária de terra firme que abrange uma área de aproximadamente 10.000 ha. Coletamos as libélulas em uma poça localizada na margem da estrada de acesso à sede da reserva. No momento da coleta a poça possuía aproximadamente 15 m de comprimento e cinco m de largura, com profundidade máxima de 40 cm. Na poça acumulam-se galhos secos, caídos da floresta adjacente, que servem de poleiros para as libélulas. A poça fica exposta ao sol das 8 as 14 h, por isso realizamos a coleta neste período, horário de maior atividade das libélulas na poça.

Espécie estudada

Utilizamos os machos da libélula *Erythrodiplax* sp. (Odonata: Libellulidae) como modelo para responder a nossa pergunta. Esta espécie de libélula apresenta dimorfismo sexual marcante. As fêmeas de *Erythrodiplax* sp. possuem coloração marrom inconspícua, enquanto os machos apresentam um padrão de coloração com abdômen azul claro, tórax avermelhado e manchas negras na base das asas posteriores (Heckman, 2006). Observamos que os machos de

Erythrodiplax sp. utilizam os poleiros expostos ao sol para abrir as asas lentamente de forma a expor suas manchas.

Coleta de dados

Para avaliarmos a eficiência da resposta imune dos machos da libélula *Erythrodiplax* sp. simulamos a invasão de um antígeno que desencadeia uma reação de defesa baseada no mecanismo da melanização. Implantamos um fio de náilon de 3 mm de comprimento e 0,01 mm de espessura, esterilizado em álcool 90%, na região ventral entre o tórax e o abdômen de todos os indivíduos. Mantivemos os implantes de náilon nos machos por 40 min. Fotografamos cada implante em microscópio estereoscópico (aumento de 40 vezes) e medimos a área do implante que recebeu deposição de melanina. Para analisarmos o tamanho da mancha alar, extraímos e fotografamos a asa posterior direita de cada indivíduo. Medimos a área melanizada do implante e a área da mancha alar utilizando o programa ImageTool (Wilcox *et al.* 2002). Nossa previsão era de que quanto maior a área da mancha da asa maior seria a área melanizada do implante.

Análise dos dados

Para avaliar se existe relação entre a área da mancha da asa e a área melanizada do implante realizamos um teste de correlação de Spearman. A área da mancha foi utilizada porque não existe correlação entre a área total da asa e a área da mancha ($R^2 = 0,21$; $p = 0,0712$). Como nossa premissa é que a área da mancha na asa é uma sinalização honesta para as fêmeas quanto à resposta imune dos machos, analisamos a distribuição de frequências das classes de tamanho da mancha da asa, bem como a frequência da área do implante melanizada.

Resultados

Coletamos 17 machos de libélula *Erythrodiplax* sp.. Os machos que melanizaram uma maior área do implante possuíam manchas de maior área em suas asas ($R^2 = 0,49$; $p = 0,003$; Figura 1). Um dos indivíduos amostrados apresentou uma relação negativa entre a área da mancha alar e a área melanizada no implante, e por isso não foi incluído nas análises. A área da mancha nas asas variou entre 12,1 e 24,13mm² ($17,6 \pm 3,3$; Figura 2) e a área de deposição de melanina no implante variou entre 0,05 e 0,35 mm² ($0,1 \pm 0,09$; Figura 3).

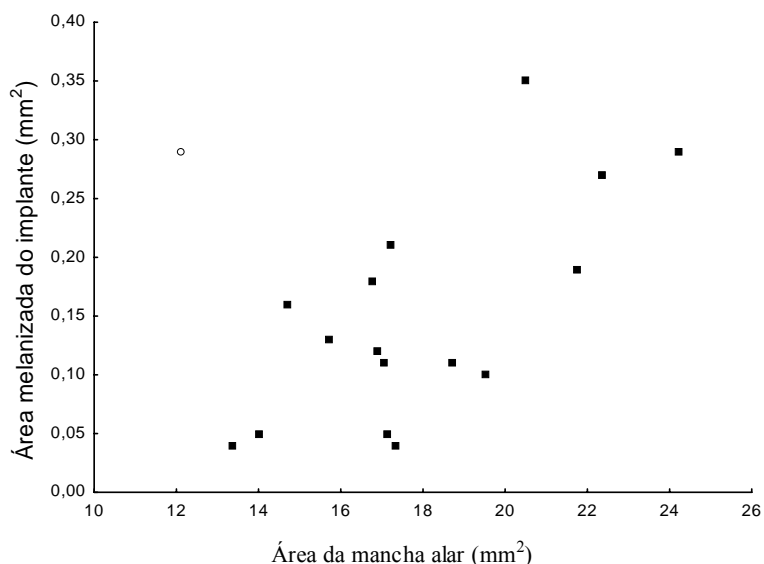


Figura 1. Correlação entre a área da mancha encontrada nas asas posteriores e a área de melanina depositada nos implantes de náilon em machos da libélula *Erythrodiplax* sp. ($R^2 = 0,49$; $n = 17$; $p = 0,003$). O círculo vazio (\circ) representa um ponto fora do padrão do restante dos dados e não foi incluído nas análises.

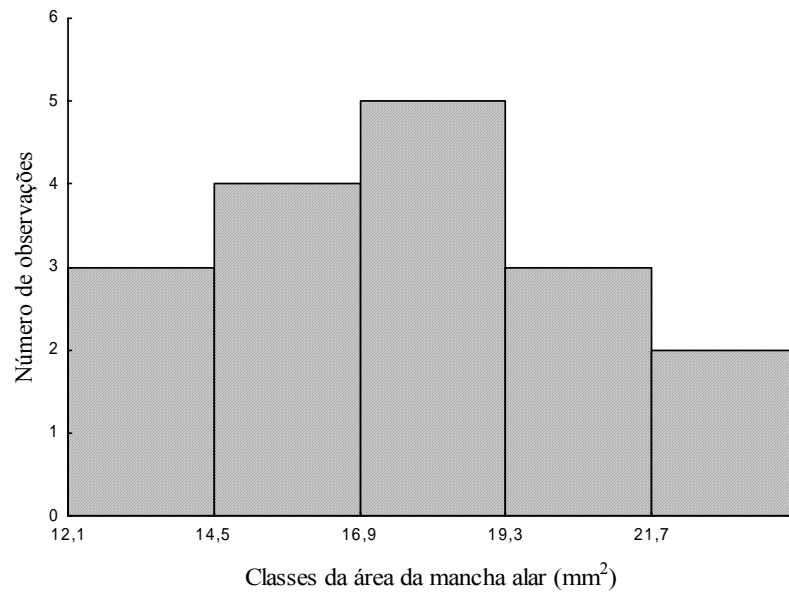


Figura 2. Distribuição dos valores da área da mancha de melanina nas asas posteriores de machos da libélula *Erythrodiplax* sp..

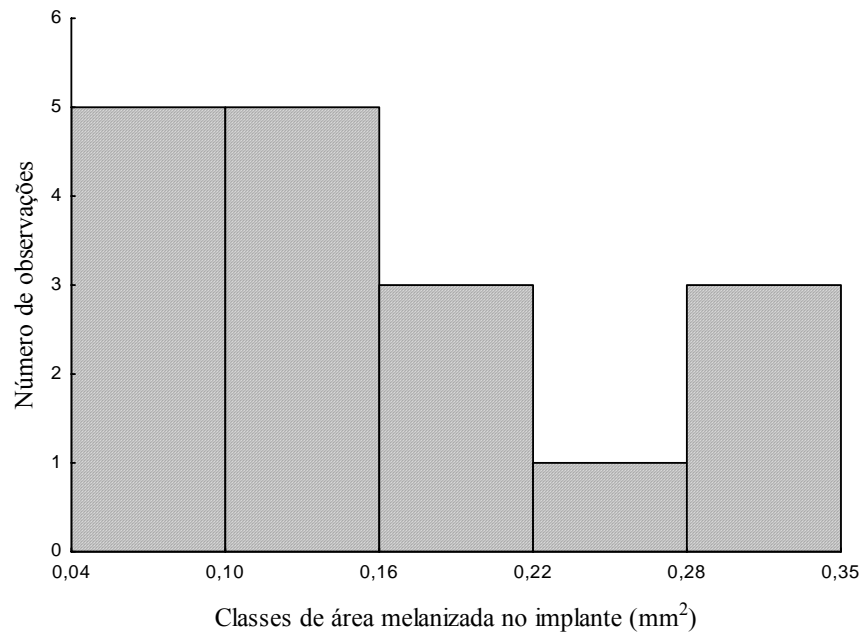


Figura 3. Distribuição dos valores da área melanizada nos implantes de náilon pelos em machos da libélula *Erythrodiplax* sp..

Discussão

O tamanho da mancha na asa e a eficiência da resposta imune estão positivamente correlacionados, pois dependem da mesma substância, a melanina (Buzatto 2006). No caso da mancha da asa, a melanina é a substância que confere a pigmentação. Na resposta imune a melanina tem papel fundamental no processo de encapsulamento de antígenos (Gillespie *et al.* 1997). Assim, quanto maior a mancha na asa, maior a capacidade do indivíduo em produzir melanina e, conseqüentemente, maior será sua imunocompetência (Siva-Jothy 2000). Portanto, a área total das manchas nas asas dos machos indica a resistência a parasitas e constitui um sinal honesto para a escolha dos machos pelas fêmeas. Portanto, quando as fêmeas da libélula *Erythrodiplax* sp. escolhem os machos com maiores manchas, elas selecionam os machos menos suscetíveis a infecções por parasitas.

A despeito do maior sucesso reprodutivo dos machos, a formação de manchas alares deve apresentar alto custo energético para o indivíduos, já que manchas grandes não são freqüentes na população. Em contrapartida, machos

com manchas alares pequenas podem ter menor sucesso reprodutivo, já que indivíduos com manchas menores ocorrem com menor freqüência na população. Já a variação na eficiência da resposta imune pode ser causada pela freqüência alélica na população, já que a resposta imune está fortemente associada ao genótipo do indivíduo. Além disso, a eficiência da resposta imune no adulto pode variar de acordo com a condição nutricional durante o desenvolvimento da larva (Siva-Jothy 2000).

O tamanho da mancha nas asas dos machos de libélulas é um sinal honesto da eficiência da resposta imune. O uso do tamanho da mancha alar dos machos como o critério de escolha pelas fêmeas explica a fixação desse caráter nos machos da libélula na população da libélula *Erythrodiplax* sp.. Sugerimos que estudos futuros avaliem como a condição nutricional dos indivíduos na fase larval poderia definir o tamanho da mancha nas asas das libélulas.

Agradecimentos

Agradecemos a Leticia por nos orientar (muito) durante a redação desse trabalho, ao Paulinho pela ajuda em

campo e a todas as libélulas que cederam suas vidas miseráveis em prol do avanço da ciência.

Referências

- Andersson, M. 1994. Sexual selection. Princeton University Press, Princeton.
- Bateman, A.J. 1948. Intra-sexual selection in *Drosophylla*. *Heredity*, 2:349-368.
- Buzzato, B.A. 2006. A massa corporal e a simetria alar de machos da libélula *Micrathyria* sp. (Odonata: Libellulidae) influenciam seu sucesso reprodutivo? In: Ecologia da Floresta Amazonica (G. Machado & J.L. Camargo, eds.). Manaus: PDBFF/ INPA.
- Cerenius, L & K. Soderhall. 2004. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Review*, 198:116-126.
- Contreras-Garduño, J., B.A. Buzatto, L. Abundis, K. Nájera-Cordero & A. Córdoba-Aguillar. 2007. Wing colour properties do not reflect male condition in the American rubyspot (*Hetaerina americana*). *Ethology*, 113:944-952.
- Fincke, O.M. 1988. Sources of variation in lifetime reproductive success in a nonterritorial damselfly (Odonata: Coenagrionidae). In: Reproductive success: studies of individual variation in contrasting breeding systems. (T.H. Clutton-Brock, ed.). Chicago: The University of Chicago Press.
- Futuyma, D. J. 1986. Evolutionary Biology. Massachussets: Sinauer Associates.
- Gillespie J.P. & M.R. Kanost. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Ann. Rev. Entom*, 42:611-643.
- Grether, G.F. 1996. Sexual selection and survival selection on wing coloration and body size in the rubyspot damselfly *Hetaerina Americana*. *Evolution*, 50:1939-1948.
- Heckman, C.W. 2006. Encyclopedia of South America aquatic insects: Odonata-Anisoptera. Illustrated keys to known families, genera, and species in South America. Hamburg: Institute for Hydrology and Fishery Science.

- Hooper, R.E., Y. Tsubaki & M. T. Siva-Jothy. 1999. Expression of a costly, plastic secondary sexual trait is correlated with age and condition in a damselfly with two male morphs. *Physiological Entomology*, 24:364-369.
- LeBas, N.R.. & L.R. Hockham. 2005. An invasion of cheats: the evolution of worthless nuptial gifts. *Current Biology*, 15:64-67.
- Pennisi, E. 2003. Colorful males flaunt their health. *Science*, 300:29-31.
- Schmid-Hempel, P. 2004. Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annual Review of Entomology*, 50:529-551.
- Shuster, S.M. & M.J. Wade. 2003. Mating systems and strategies. Princeton University Press, Princeton.
- Silsby, J. 2000. Dragonflies of the world. Smithsonian Institution Press, Washington.
- 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 B*, 267:2523-2527.
- Wilcox, D., B. Dove, D. McDavid & D. Greer. 2002. Image Tool for Windows. San Antonio: UTHSCSA.