



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL

Maíra Machado Giraldin

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade animal para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade animal.

Orientador: Paulo De Marco Júnior

Goiânia

Março 2020



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

Maíra Machado Giralдин

3. Título do trabalho

Resistência à dessecação e morfologia de ovos de Odonata neotropicais

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **MAIRA MACHADO GIRALDIN, Discente**, em 24/06/2020, às 14:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo De Marco Júnior, Professor do Magistério Superior**, em 26/06/2020, às 09:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1400523** e o código CRC **9EA8B843**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese Outro*: _____

*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

2. Nome completo do autor

Maíra Machado Giralдин

3. Título do trabalho

Resistência à dessecação e morfologia de ovos de Odonata neotropicais

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.

Documento assinado eletronicamente por **MAIRA MACHADO GIRALDIN, Discente**, em 26/08/2022, às 10:18, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº](#)



[10.543, de 13 de novembro de 2020.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Paulo De Marco Júnior, Professor do Magistério Superior**, em 26/08/2022, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020.](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site

https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?

[acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](#), informando o código verificador **3143947** e o código CRC **387CEB6C**.

Maíra Machado Giralдин

Resistência à dessecação e morfologia de ovos de Odonata neotropicais

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Goiás como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade animal para obtenção do título de Mestre em Biodiversidade animal.

Orientador: Paulo De Marco Júnior

Goiânia

Março 2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Giraldin, Maíra Machado
Resistência à dessecação e morfologia de ovos de Odonata
neotropicais [manuscrito] / Maíra Machado Giraldin. - 2020.
LV, 55 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Paulo De Marco Júnior.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás,
Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em
Biodiversidade Animal, Goiânia, 2020.
Bibliografia.

1. Dessecação. 2. Neotropical. 3. Odonata. 4. Ovos. 5.
Ultraestrutura. I. De Marco Júnior, Paulo , orient. II. Título.

CDU 574



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Ata nº **37** da sessão de Defesa de Dissertação de **Maíra Machado Giralдин**, que confere o título de **Mestra em Biodiversidade Animal**, na área de concentração em **Biodiversidade Animal**.

Ao/s **vinte e sete dias do mês de março de dois mil e vinte (27/03/2020)**, a partir das **08h00min**, por **videoconferência**, seguindo **portaria CAPES no. 36 de 16 de março de 2020 e recomendação da UFG**, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada **“Resistência à dessecação e morfologia de ovos de Odonata neotropicais”**. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, **Professor Doutor Paulo De Marco Júnior - Depto. de Ecologia/ICB/UFG**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: **Professor Doutor Walter Santos de Araújo - Depto. de Biologia Geral/UNIMONTES**, membro titular interno; e **Professora Doutora Walquiria Arruda - Depto de Morfologia,ICB/UFG**, membro titular externo. Durante a argüição os membros da banca **nãofizeram** sugestão de alteração do título do **trabalho**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fimde concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido a candidata **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Professor Doutor **Paulo De Marco Júnior**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerradosos trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora,ao(s) **vinte e sete dias do mês de março de dois mil e vinte (27/03/2020)**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA



Documento assinado eletronicamente por **WALTER SANTOS DE ARAUJO**, Usuário **Externo**, em 04/08/2021, às 13:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decretonº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Walquiria Arruda**, Professor do Magistério Superior, em 04/08/2021, às 16:56, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decretonº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Paulo De Marco Júnior, Professor do Magistério Superior**, em 05/08/2021, às 11:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **2255652** e o código CRC **10F8230D**.

Referência: Processo nº 23070.011502/2020-90

SEI nº 225565

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Universidade Federal de Goiás, por ter me acolhido em todo meu processo de formação, desde a graduação em Ecologia e Análise Ambiental até o atual momento, sem a qual não teria conseguido aprovação no mestrado.

À minha família, por ter me apoiado sempre, não permitindo que eu, em alguns momentos, quisesse desistir da pós-graduação.

Aos meus irmãos Raoni e Pedro Antônio, eu amo vocês para sempre.

À minha mãe, por ser essa mulher guerreira, maravilhosa e carinhosa comigo, compreendendo todas as dificuldades que existem à nós, que decidimos seguir a carreira acadêmica dentro da pesquisa e ciência, e mesmo assim sendo sempre compreensiva e amorosa.

Ao professor Paulo De Marco Júnior por me orientar desde a graduação, e por ter dedicado todos esses momentos ao meu aprendizado.

Aos meus colegas de pós-graduação, tanto da Biodiversidade Animal como da Ecologia e Evolução, que estiveram comigo em momentos tristes e felizes durante essa jornada, Edgar, Cristiano, Pablo, Chris, Laura, Daisy, Ana Clara.

Ao meu colega José Vinícius Cardoso Bernardy, por ajudar em todo procedimento deste projeto desde o início até o final, você foi fundamental. Adorei nossa convivência durante os campos e dentro do laboratório, espero que continuemos trabalhando juntos!

Ao Laboratório TheMetaLand, sendo meu lar dentro da Universidade Federal de Goiás e aos meus colegas que participam dele.

À professora Fernanda Gomes de Paula por autorizar as coletas de campo nos tanques de piscicultura da escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás.

À colega de graduação Hellen Cristina de Sousa Carvalho, por disponibilizar nossas coletas de campo em um dos tanques de sua chácara. Agradeço aos funcionários e administradores do Viveiro Ipê por autorizar nossa entrada e coletas na represa da propriedade.

Ao Professor Pedro Vale de Azevedo Brito e ao Laboratório de estudos morfológicos (LABEM-UFG) pelo apoio e orientação nas análises de microscopia.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Goiás (FAPEG), pelo auxílio financeiro durante o meu mestrado.

SUMÁRIO

Apresentação geral.....	1
Resumo	1
Abstract	2
Introdução geral	4

Capítulo 1

Resistência à dessecação em ovos de *Micrathyria hesperis* e *Perithemis mooma*
(Odonata: Libellulidae)

1. Introdução	6
2. Materiais e Métodos	9
2.1 Escolha das espécies	9
2.2 Coleta de ovos no campo.....	9
2.3 Experimento em laboratório.....	10
2.4 Procedimentos analíticos	12
3. Resultados.....	13
4. Discussão.....	15
5. Conclusões.....	18
Literatura citada	19

Capítulo 2

Morfologia dos ovos de duas espécies de libélulas neotropicais: *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex* (Odonata: Libellulidae)

Resumo.....	24
Abstract.....	25
1. Introdução	26
2. Materiais e Métodos	27
2.1 Coleta de ovos no campo.....	27
2.2 Microscopia de varredura (MEV).....	28
2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)	28
2.3 Análise Histoquímica.....	29
3. Resultados.....	30
4. Discussão.....	40
5. Conclusões.....	43
5. Literatura citada	44

APRESENTAÇÃO GERAL

Esta dissertação é apresentada em dois capítulos, composta por: (1) Resistência à dessecação em ovos de *Micrathyria hesperis* e *Perithemis mooma* (Odonata: Libellulidae) e (2) Morfologia dos ovos de duas espécies de libélulas neotropicais: *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex* (Odonata: Libellulidae). A ideia geral dessa dissertação é investigar se os ovos de espécies de Odonata neotropicais adquiriram resistência à dessecação, através de uma força seletiva gerada pelos períodos de seca sobre os traços adaptativos dos ovos de Odonata e descrever as características ultraestruturais e histoquímica de ovos de duas espécies neotropicais: *M. hesperis* e *M. simplex*. A formatação de ambos capítulos foi baseada nas normas da Revista Environmental Entomology.

RESUMO

As espécies da ordem Odonata estão distribuídas em diversos tipos de corpos d'água, estando presentes em riachos, lagos e tanques. Várias delas são encontradas em tanques de fazendas de piscicultura, que proporcionam um excelente habitat secundário para o desenvolvimento das espécies. No entanto, as larvas geram diversos prejuízos aos piscicultores, e a principal razão disso é devido a predação dos alevinos pelas larvas de Odonata que habitam os tanques. Durante o período de transição de uma atividade a outra, os piscicultores esvaziam os tanques no intuito de eliminar possíveis doenças e predadores, entre eles, as larvas de Odonata. Logo após o re-enchimento dos tanques, têm se observado que os ovos de Odonata se desenvolvem rapidamente, nos levando à formular a hipótese de que as espécies passaram por uma pressão seletiva que levou a evolução ovos mais resistentes à dessecação. Nós iremos, então, testar o efeito da

dessecação experimentalmente em laboratório nos ovos de duas espécies de Odonata neotropicais: *Micrathyria hesperis* e *Perithemis mooma*. As taxas de eficiência de eclosão mostram que ambas espécies deste estudo não sofrem efeito da ausência de água sobre a eclosão das larvas. Esse resultado suporta a hipótese que os ovos das espécies de Odonata que habitam ambientes aquáticos temporários apresentam traços adaptativos que maximizam a sobrevivência dos imaturos nos ambientes efêmeros. As espécies *Micrathyria hesperis* e *Perithemis mooma* são distantes filogeneticamente, indicando que a resistência à dessecação pode estar distribuída na Ordem Odonata.

Palavras-chave: Dessecação, Libellulidae, Odonata, ovos, pressão de seleção

ABSTRACT

The Odonata species are distributed along with all kinds of water bodies, being present in streams, lakes, and ponds. Many of them can be found found in fish farming ponds, which provide excellent secondary habitats for species development. However, the larvae provide economic losses to the fish farmers, and the major reason is due to immature fish predation by the Odonata larvae which habit the ponds. During the ponds transition from an activity to another, the fish farmers drain out the ponds, aiming the elimination of pathogens and among them, the Odonata larvae. After the ponds refill, it has been observed in previous studies that the Odonata eggs develop rapidly, leading us to formulate the hypothesis which the species had gone through a selective pressure, which led to the evolution of more resistant eggs to desiccation. We will then, experimentally test the effect of the desiccation in the laboratory studying two neotropical Odonata species: *Micrathyria hesperis* (Ris 1911) and *Perithemis mooma* (Kirby, 1889). The hatch efficiencies showed that both species of this study do not suffer the effect of the water absence upon the larvae hatching. This result upholds the

hypothesis that eggs from Odonata species in which habitat temporary water bodies exhibit adaptive traits that maximize de immature survival in ephemeral environments.

The species *Micrathyria hesperis* and *Perithemis mooma* are phylogenetically distant, indicating the desiccation resistance could be distributed among the Odonata.

Keywords: Desiccation, eggs Libellulidae, Odonata, selective pressure

INTRODUÇÃO GERAL

O desenvolvimento das libélulas está associado às condições ambientais em que elas estão inseridas, onde a temperatura do ambiente e a disponibilidade de água e luz estão ligadas diretamente em seu desenvolvimento desde o seu estágio imaturo até sua fase adulta (De Marco et al. 2015, Oliveira-Junior et al. 2017). Após a cópula entre um macho e uma fêmea de Odonata, a fêmea deposita seus ovos em corpos d'água, podendo ser tanto em tecidos das plantas aquáticas como na coluna d'água. Os ovos então, iniciam o desenvolvimento dos imaturos em meio aquático, a partir do estágio de ovo até seu último estágio larval. A partir desse momento, a libélula, já adulta, emerge de sua exúvia, passando então a habitar o entorno dos ambientes aquáticos (Corbet 1999). Em sistemas tropicais, caracterizados por altas temperaturas, tanto como uma maior intensidade de chuva durante o ano em diversas regiões, apresentam condições climáticas essenciais para a persistência das espécies da ordem Odonata (Oliveira-Junior et al. 2017). Tanto a fisiologia e a sobrevivência dos representantes das espécies estão ligadas às temperaturas elevadas, e principalmente, pela intensidade de luz nos ambientes (Pritchard et al. 1996, De Marco et al. 2015).

As libélulas representam um grupo útil para detectar os efeitos de distúrbios de habitat, dado a sua distribuição, composição de espécies e riqueza tendem a estar proximamente relacionados às condições físicas do ambiente (Williams et al. 2004, Monteiro-Júnior et al. 2014, Oliveira-Junior et al. 2017). Inclusive, as libélulas possuem um longo ciclo de vida, e estão amplamente distribuídas em sistemas aquáticos (Corbet 1999) e possuem estágio larval aquático e adultos terrestres/aéreos (Oertli 2008), que os torna bons indicadores de qualidade em ambos sistemas aquáticos e terrestres (Briers and Biggs 2003, Oliveira-Junior et al. 2017).

Embora a ordem Odonata apresente uma ampla distribuição ao redor do mundo, sua origem está associada às regiões tropicais, onde existe estabilidade no regime de chuvas que pode manter os habitats de forma adequada para o desenvolvimento de seus imaturos (Pritchard 1982). Apesar dos ambientes tropicais apresentarem características favoráveis para o desenvolvimento das libélulas, também apresentam uma considerável sazonalidade, representando um fator de seleção para essas espécies (Williams 1997; Hassall and Thompson 2008). Assim, considerando que esses ambientes podem passar por períodos de escassez de água, é possível deduzir que os ovos das espécies de Odonata que ocupam esses sistemas possam ter adquirido resistência à seca, uma vez que o desenvolvimento dos imaturos das libélulas ocorre totalmente dentro da água. Esta hipótese pode ser interessante para explicar as características dos ovos e adaptações de Odonata em ambientes temporários. Além disso, existem outros estudos que mostram a resistência à dessecação em outros grupos de insetos (Sota and Mogi 1992, Clark and Faeth 1998). Considerando essa possibilidade, apresentamos através de experimentos em laboratório, uma análise sobre os ovos duas espécies neotropicals *Micrathyria hesperis* Ris, 1911 e *Perithemis mooma* Kirby, 1889, avaliando a existência de resistência à dessecação. Além disso, também buscamos aprimorar o conhecimento dos aspectos da composição histoquímica e a ultraestrutura dos ovos de duas espécies: *Miathyria simplex* Rambur, 1842 e *Micrathyria hesperis*, que podem estar envolvidos nas adaptações dos ovos aos seus ambientes.

Capítulo I

Resistência à dessecação em ovos de *Micrathyria hesperis* e *Perithemis mooma*

(Odonata: Libellulidae)

1. INTRODUÇÃO

Os sistemas tropicais são caracterizados por temperaturas mais altas e em muitas regiões, por uma maior quantidade de chuva durante o ano, apresentando condições climáticas essenciais para estabelecer florestas vigorosas, sendo habitats favoráveis à diversidade de espécies (Costa et al. 2007, Kalkman et al. 2008), assim como devem ter sido importantes moldando a história evolutiva de muitas espécies. As libélulas, por exemplo, apesar de terem uma ampla distribuição no mundo hoje, tem sua origem associada à regiões tropicais onde a estabilidade de chuvas pode manter habitats adequados ao desenvolvimento de suas larvas (Pritchard 1982, Corbet 1999). No entanto, ambientes tropicais podem ter considerável sazonalidade e representar um fator importante de seleção para essas espécies (Wolda 1980, 1988, Wolda and Fisk 1981). Assim, considerando que alguns ambientes aquáticos tropicais, principalmente poças temporárias, passam por um período de seca, uma hipótese interessante é que os ovos das espécies que se desenvolvem nesses sistemas podem ter desenvolvido maior resistência à dessecação durante sua história evolutiva. Essa hipótese ainda não foi explicitamente avaliada em grupos de Odonata, mas hipóteses semelhantes já foram testadas em estudos sobre resistência à dessecação de ovos em outros grupos de insetos (Clark and Faeth, 1998; Sota and Mogi, 1992). Por exemplo, já foi evidenciado que a agregação de ovos aumenta o sucesso de eclosão de larvas submetidos à dessecação em *Chlosyne lacinia* Geyer, 1837, (Lepidoptera)(Clark and Faeth, 1998). Considerando representantes da ordem Diptera que possuem fase larval aquática, como *Aedes aegypti*

Linnaeus, 1762 e *Aedes albopictus* Skuse 1894, já se demonstrou que os ovos podem ser resistentes a uma dessecação. Após dois dias, retornam ao seu desenvolvimento quando colocados em água, eclodindo em 10 dias, também já foi mostrado em estudos que os ovos de *Aedes* conseguem resistir à ausência de água por até um ano (Sota and Mogi 1992, Silva and Silva 1999).

Em Odonata, o tempo de desenvolvimento dos ovos diminui com o aumento da temperatura de incubação (Leggott and Pritchard 1985, Pritchard et al. 1996, Mendonça et al. 2017)-Em climas temperados, o tempo necessário para a eclosão está associado ao estágio de desenvolvimento que o ovo se encontra, permitindo-o resistir às baixas temperaturas do inverno e às altas do verão, quando presentes em corpos d'água temporários (Corbet 1999). É comum que as libélulas de zona temperada apresentem diapausa, geralmente no período larval, de modo que os estágios sensíveis sincronizam seu desenvolvimento com as condições ambientais mais amenas (Hawking and New 1995, Pritchard et al. 1996). Nos trópicos, existem espécies de Odonata no quais os ovos são adaptados para sobreviver pelo menos parte da época de seca (*Potamarcha congener*, e certos Gynacanthini), mas esta estratégia é aparentemente excepcional (Corbet 1999).

O desenvolvimento dos ovos e sua resistência à dessecação podem nos trazer informações relevantes para a compreensão da evolução desse grupo e explicar sua distribuição nos diferentes ambientes existentes, principalmente em poças temporárias. Além disso, pode representar uma discussão sobre um aspecto econômico importante porque larvas de libélulas causam danos econômicos importantes à piscicultura (Huang and Strawn 1985, Witzig et al. 1986, De Marco Jr. et al. 1999). Um aspecto interessante do desenvolvimento de larvas de Odonata em ambientes dinâmicos das pisciculturas é sua rapidez de desenvolvimento em comparação com ambientes naturais, como lagos e

riachos (De Marco et al. 1999). Usualmente, os piscicultores secam os tanques entre uma atividade e outra, uma prática que também atua na eliminação de possíveis doenças e predadores, entre eles as larvas de Odonata (Verdegem and McGinty 1986; De Marco, 1999). Tem sido observado que logo após o preenchimento dos tanques ocorre o aparecimento muito rápido de larvas, sugerindo que o tempo do estágio de ovo nesse sistema pode ser muito curto (Verdegem and McGinty 1986; De Marco et al. 1999) ou a existência de mecanismos de resistência à dessecação largamente difundidos no grupo. No entanto, são poucos os artigos que tratam do desenvolvimento de ovos ou de resistência a dessecação de Odonata tropical. No único estudo existente com espécies na região neotropical, Mendonça et al. (2017) avaliaram o efeito da temperatura sobre o tempo de desenvolvimento dos ovos em quatro espécies que se desenvolvem em tanques de piscicultura. Um resultado interessante desse estudo foi demonstrar que à temperaturas abaixo de 15 °C os ovos não se desenvolviam, ou o tempo de eclosão das larvas era muito longo. Por outro lado, à uma temperatura ambiente de 25°C, a maioria das espécies tinham ovos eclodidos pelas larvas em um tempo menor ou igual a 10 dias.

Considerando as variações de clima em regiões tropicais como o Cerrado brasileiro, é possível esperar que espécies presentes nesses sistemas tenham desenvolvido ovos capazes de resistir às temperaturas elevadas e aos intensos períodos de seca do Cerrado. Em especial, nós assumimos que o hidroperíodo (definido como o tempo em que o ambiente apresenta água superficial) gera uma força seletiva para traços adaptativos em ovos dessas espécies. Baseado nisso, nós elaboramos uma estratégia de avaliar experimentalmente o efeito da dessecação sobre o sucesso de eclosão em duas espécies comumente encontradas em poças temporárias ou tanques de pisciculturas da região (De Marco et al. 2014, Mendonça et al. 2017). Se assumirmos

que o tempo de dessecação pode causar um efeito negativo na fisiologia dos ovos, nós esperamos que quanto maior o tempo de exposição à dessecação, menores deverão ser as taxas de eclosão e maior o tempo que demora para que essa ocorra. No entanto, podemos considerar como resistência à dessecação quanto menores esses efeitos puderem ser observados nas espécies estudadas. Esse resultado “divergente” em relação às nossas expectativas evidenciaria a possibilidade de adaptações decorrentes de um longo passado evolutivo sob esse tipo de pressão ambiental.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Escolha das espécies

Nesse estudo tratamos da resistência à dessecação em duas espécies de libélulas que vivem em ambientes lênticos e são comuns em áreas do Cerrado do Brasil Central (De Marco et al. 2014, Mendonça et al. 2017). Essas espécies – *Micrathyria hesperis* e *Perithemis mooma* – podem ser observadas juntas, ocorrendo preferencialmente em lagos, e são abundantes nesses ambientes. Ambas apresentam larga distribuição e estão associadas a plantas aquáticas, com machos residentes e territoriais e fêmeas que visitam o lago para cópula e oviposição (De Marco and Resende 2002). Machos de *P. mooma* usualmente defendem territórios em poleiros mais baixos na vegetação ou margem, enquanto machos de *M. hesperis* estão sempre defendendo territórios na vegetação (De Marco and Resende 2002).

2.2 Coleta de ovos no campo

Os ovos de Odonata foram coletados em campo nas proximidades do Campus da Universidade Federal de Goiás (UFG – campus samambaia)(16°36'07.3"S 49°15'53.1"W) e em uma represa situada na região leste de Goiânia (Chácaras Ipanema)

situada em 16°18'51.4"S 49°09'57.8 W. Os pontos de coleta deste estudo apresentam características ambientais que proporcionam condições favoráveis para a persistências das espécies de Odonata deste estudo. As fêmeas das espécies foram capturadas nos pontos próximas aos tanques de piscicultura e represas de irrigação.

A amostragem de ovos foi realizada a partir da captura de fêmeas adultas das espécies no período entre 10 e 16h, período do dia que o comportamento de oviposição é geralmente observado em espécies de Odonata que habitam poças ou pequenos lagos (Mendonça et al. 2017). As fêmeas foram capturadas após observarmos a cópula. Os ovos foram obtidos imediatamente após a captura das fêmeas, inserindo a região do órgão reprodutor das fêmeas em potes com água (Nakamura and Takashima 2015) onde cada fêmea capturada depositou naturalmente os ovos embrionados.

Foram capturadas 8 fêmeas de *M. hesperis* e 10 fêmeas de *P. mooma*. A triagem dos dados foi realizada após as coletadas dos ovos em campo, com auxílio do laboratório de microscopia para a obtenção das imagens dos recipientes onde os ovos foram inseridos inicialmente. Logo após a obtenção das imagens dos potes, a contagem dos ovos presentes no fundo dos potes foi realizada. A primeira contagem após a obtenção de imagens foi necessária para que fosse possível contar quantos ovos haviam inicialmente antes da eclosão das larvas. Após um período de 60 dias após a oviposição, outra contagem foi realizada, desta vez, das larvas que conseguiram eclodir. Esse intervalo de 60 dias após a oviposição foi estabelecido como tempo necessário para que todas as larvas nos ovos consigam desenvolver e eclodir.

2.3 Experimento em laboratório

Logo após a captura das fêmeas, os ovos nos potes foram levados imediatamente ao Laboratório de Ecologia Experimental – ICB-V/UFG e depositados em incubadoras

(BOD com fotoperíodo SL-224). Os ovos foram armazenados nas incubadoras em temperatura de 25°C em umidade ambiente para a realização do experimento, considerando que essa temperatura maximiza a sobrevivência dos ovos (Pritchard et al. 1996, Mendonça et al. 2017). No laboratório, os ovos de cada fêmea capturada, foram inseridos em potes com água potável, no entanto, um dos potes esteve com água potável durante todo o experimento, denominado como grupo controle (0 dias). O restante dos ovos foram distribuídos nos tratamentos de 5, 10, 15 e 20 dias, onde seriam submetidos à dessecação, passando por um período sem água potável nos potes (5 dias sem água, 10 dias sem água, 15 dias sem água e 20 dias sem água) apresentando uma média de 114 ovos por pote. Esses tratamentos buscam simular a secagem da poça pelo sol. Em todos os tratamentos os ovos foram mantidos inicialmente com água potável por dois dias e depois foram sujeitos à secagem. A secagem foi realizada da seguinte forma: Primeiramente, retiramos toda água que havia no pote, cuidadosamente secamos o interior apalpando com algodão de forma que não danificaria os ovos ou

conseguíssemos secar toda água possível sem perder os ovos que estavam mantidos no fundo dos potes. Após esse procedimento e o período submetidos à dessecação, adicionamos água potável novamente e mantemos a água até o final do desenvolvimento dos ovos e da eclosão das larvas (Figura 1).

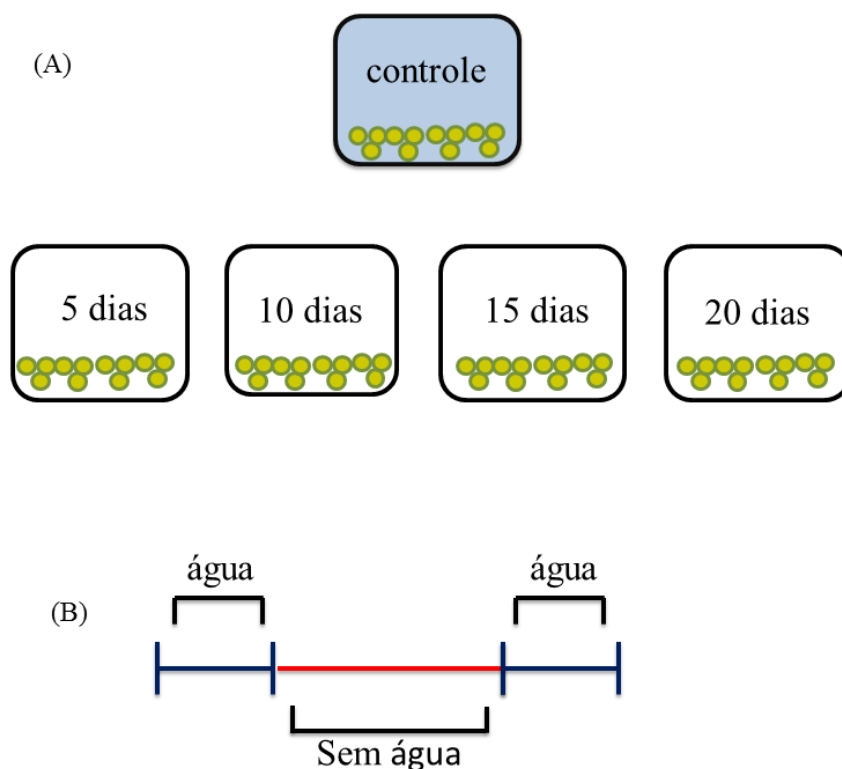


Figura 1. Desenho experimental esquematizando o experimento em laboratório. (A) representa a maneira que os ovos foram distribuídos nos potes na incubadora BOD. (B) representa o intervalo temporal entre a inserção e retirada de água potável dos potes. Inicialmente, os ovos recolhidos em campo foram inseridos em água potável por dois dias, e em seguida, a água foi retirada, e cada pote permaneceu sem água de acordo com o tempo em que os ovos foram submetidos à dessecação em cada tratamento (5, 10, 15 e 20 dias).

2.4 Procedimentos analíticos

Considerando os resultados de Mendonça et al. (2017) para outras espécies de poças e lagos da região, os ovos foram considerados não desenvolvidos após 60 dias de observação. Dessa forma, nossa variável preditora foi o número de dias sem água, sendo 0 (controle), 5, 10, 15, e 20 dias (Figura 1), e como variável resposta a eficiência de

eclosão, partindo da premissa que a taxa de eclosão irá sofrer variação devido à cada tipo de tratamento, estabelecidos a partir do intervalo entre os ovos estarem inseridos em água e na ausência de água. A eficiência de eclosão foi obtida a partir da divisão do número de larvas que eclodiram pelo número total de ovos.

Uma das suposições subjacentes às abordagens dos modelos lineares generalizados (GLM), que é a ferramenta mais comum para analisar experimentos como o nosso, é que os dados observados são independentes. No entanto, uma vantagem importante do nosso estudo é exatamente poder fazer as comparações entre os diferentes tratamentos usando desovas da mesma fêmea e, com isso, utilizando essa dependência para controlar efeitos maternos ou outras características não controladas. Para incluir isso explicitamente no modelo, utilizamos neste estudo uma análise de modelos lineares mistos generalizados (GLMM) que permite controlar os aninhamentos das fêmeas nos tratamentos. Para isso, utilizamos nos procedimentos os pacotes lme4 (Bates et al. 2015), ggeffects (Lüdtke, 2018), ggplot2 (Wickham, 2016) e gridExtra (Auguie, 2015) no R, fizemos um modelo para cada espécie (*M. hesperis* e *P. mooma*) utilizando em cada modelo como variável preditora: tempo sem água (dias submetidos à dessecação) e como variável resposta, a eficiência de eclosão das larvas.

3. RESULTADOS

A análise de Modelos lineares mistos generalizados mostrou que as espécies *M. hesperis* e *P. mooma* não sofreram efeito da dessecação taxa de eficiência de eclosão das larvas (Tabela 1, Figuras 2 e 3). A eficiência de eclosão de *M. hesperis* foi em média 0,60 e para *P. mooma*, 0,63, ou seja, em cada desova, mais da metade dos ovos das espécies conseguiram se desenvolver e eclodir na ausência de água.

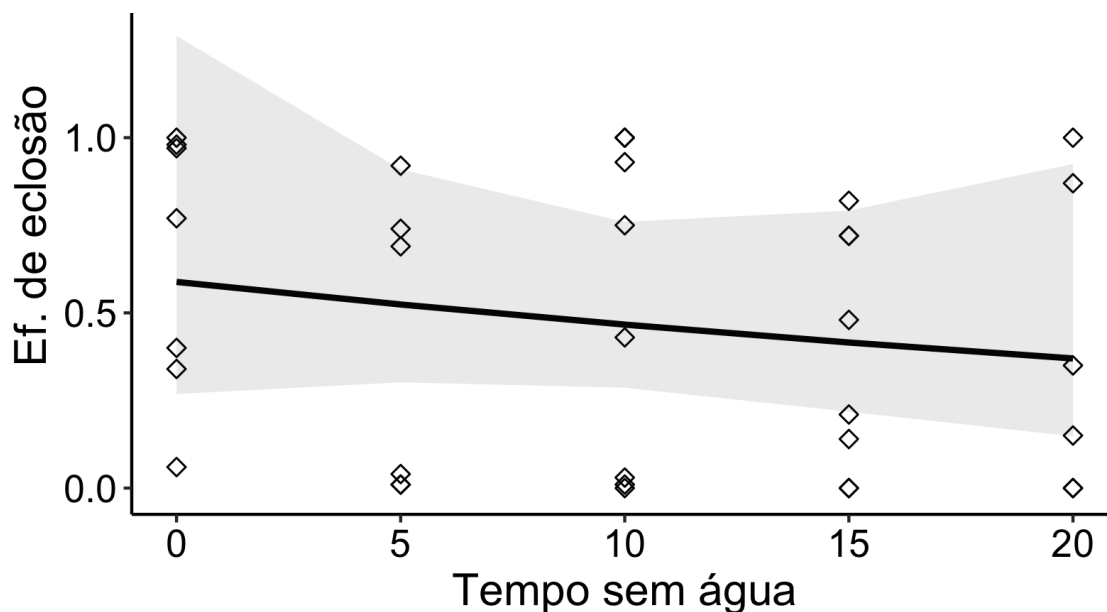


Figura 2. Relação entre a eficiência da eclosão e o tempo sem água para a espécie *Micrathyria hesperis*.

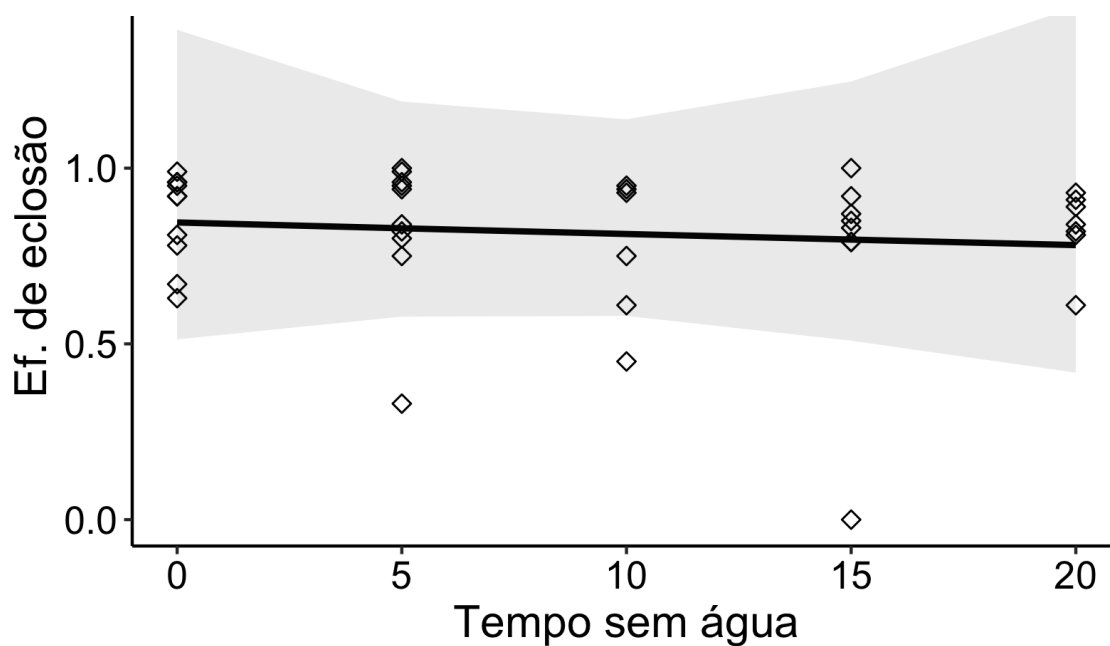


Figura 3. Relação entre a eficiência da eclosão e o tempo sem água para a espécie *Perithemis mooma*.

A espécie *M. hesperis*, não sofreu efeito do tempo sem água sobre a eficiência de eclosão (Figura 2, Tabela 1). A eficiência de eclosão apresentou variação entre os tratamentos. Todos os tratamentos (0, 5, 10, 15 e 20 dias) apresentaram tanto altas eficiências de eclosão (>0,5) como baixas eficiências (<0,5). Essa variação pode estar

associada às características individuais de cada fêmea, tanto como o sucesso de fertilização dos ovos. A proporção entre a quantidade de ovos depositados e as larvas que eclodiram nos mostra que cerca de 45% das larvas dos ovos de *M. hesperis* conseguiram eclodir.

P. mooma também não sofreu efeito da dessecação. (Figura 3, Tabela 1). De maneira geral, tanto os ovos que estavam inseridos em água por todo o experimento (0 dias sem água) como os ovos que passaram por período de seca, não sofreram com a ausência de água, mantendo elevadas taxas de eficiência de eclosão, ou seja, os ovos de fato são resistentes. A proporção entre o total de ovos depositados e quantos ovos eclodiram, nos mostra que, cerca de 80% dos ovos da espécie *P. mooma* conseguiram eclodir. Essa informação enfatiza o quão resistentes os ovos desta espécie são. No entanto, apenas um tratamento (15 dias) possuíam amostra com taxa de eficiência de eclosão igual a zero (Figura 3). Portanto, a variação nas taxas de eficiência de eclosão parece ser maior em *M. hesperis* do que para *P. mooma*.

Tabela 1. Resultados da análise GLMM a partir das variáveis: tempo sem água em que os ovos ficaram submetidos e a eficiência de eclosão dos ovos para duas espécies de Odonata. *g.l.* são os graus de liberdade do resíduo.

Espécies	Intercepto	Slope	F	g.l.	P
<i>Micrathyria hesperis</i>	-0,53016	-0,02321	0,418	31	0,516
<i>Perithemis mooma</i>	-0,16786	-0,003962	0,0269	37	0,864

4. DISCUSSÃO

O principal propósito deste estudo foi avaliar os efeitos da dessecação, inferida pela eficiência de eclosão larvas, para duas espécies de Odonata neotropicais. Foi demonstrado que as espécies de fato apresentaram resistência à dessecação. As taxas de

eclosão permaneceram constantes em relação ao número de dias sem água no experimento. *M. hesperis* foi a espécie que apresentou maior variação das taxas de eficiência de eclosão nos tratamentos, apresentando taxas de eficiência entre 0,5 ou zero em todos os tratamentos (0, 5, 10, 15, e 20 dias). Podemos inferir que as taxas de eficiência de eclosão em *P. mooma* apresenta menor variação, uma vez que apenas um tratamento (15 dias) apresentou eficiência de eclosão igual a zero. Essa variação pode estar associada às diferentes características e adaptações que os ovos apresentam podem estar associadas à uma adaptação dos ovos de modo que eles alcancem a emergência antes que os habitats sequem (Corbet 1999).

A dessecação é a principal causa de inviabilidade dos ovos (Corbet 1999). As pressões seletivas que os corpos d'água temporários exercem na fauna são bem diferentes das pressões de corpos d'água permanentes (Williams 1997; Hassall and Thompson 2008). Essa pressão seletiva se mostra principalmente na direção à evolução de traços de história de vida que promovem sobrevivência em corpos d'água mais efêmeros, como tem sido visto em *Lestes* spp. (De Block et al. 2008) e em algumas Libellulidae da Namíbia (Suhling et al. 2005). Algumas Odonata possuem adaptações que permitem a sobrevivência em lagos temporários como ovos resistentes à dessecação, e.g. *Lestes* spp (De Block et al. 2008), larvas resistentes à seca, e.g. *Coenagrion hastulatum* (Charpentier) (Valtonen 1986), e desenvolvimento larval acelerado, e.g. *Lestes sponsa* (Pickup and Thompson 1990). *Ischnura pumilio* (Charpentier) também exhibe ovos resistentes à dessecação (Cham 1992). Por outro lado, a resistência à dessecação pode ser afetada em ambientes naturais, quando pensamos nos corpos d'água do cerrado brasileiro, onde o período de estiagem de chuvas se estende por vários meses, afetando diretamente no hidroperíodo dos corpos d'água.

Uma outra hipótese relacionada às pressões pela sobrevivência dos ovos seria um aumento da quantidade de ovos que a fêmea consegue ovipositar a cada cópula, levando a um aumento de seu sucesso reprodutivo. Por exemplo, entre as duas espécies, *Perithemis mooma* apresentou a maior número de ovos, com cerca de 781 ovos por desova. Nossa técnica de coleta dos ovos força a fêmea a colocar todos os ovos no mesmo momento. No entanto, o comportamento normal das fêmeas é colocar os ovos espalhados em pequenos aglomerados em vários locais (Wildermuth 1991, 1992). Uma outra hipótese que pode explicar essa resistência é o agrupamento dos ovos, essa hipótese já foi testada anteriormente em ovos de *Chlosyne lacinia* (Lepidoptera) (Clark and Faeth, 1998). Ovos agrupados poderiam proteger ovos no interior que sobreviveriam mais tempo à dessecação. Muitas espécies de libélulas têm ovos que, ao contato com a água, parecem aumentar sua adesão e formar agrupamentos (e.g. *Perithemis mooma*) que poderiam gerar o mesmo resultado predito por essa hipótese.

Diversas espécies de Odonata podem ser encontradas em fazendas de piscicultura de peixes, camarões e culturas de sapos, um excelente habitat secundário para o seu desenvolvimento (Santos, Costa & Pujol-Luz, 1988). Por causa disso, as larvas de Odonata geram diversos prejuízos à piscicultura, principalmente durante o período imaturo dos peixes, quando a predação por Odonata é maior (De Marco et al. 1999). Entretanto, apesar dos criatórios de peixes exercerem uma atividade econômica importante, especialmente nas regiões tropicais, ainda são poucos os estudos sobre os problemas causados pelas larvas de Odonata em tanques de piscicultura (Huang, Aldrich & Strawn 1985; Witzig, Huner and Avault 1986; Santos, Costa and Pujol-Luz, 1988; Delgado, Alcantara and Couturier 1995; De Marco et al. 1999) considerando a diversidade de organismos criados e tipos de manejo nesses sistemas. Nossos resultados sugerem que ovos de libélulas podem estar sendo mantidos no fundo de tanques de

piscicultura mesmo quanto eles são secos, o que explicaria o aparecimento muito rápido de libélulas e seu maior dado às larvas de peixe. Isso sugere que essa estratégia de manejo pode ser ineficiente e pode ser reavaliada.

Nosso estudo foi feito apenas com duas espécies de Libellulidade, porém, são afastadas na filogenia de Odonata. Os resultados não permitem uma extrapolação todo esse grupo taxonômico nem para o agrupamento ecológico das “libélulas neotropicais”. No entanto, o encontro de uma resistência à dessecação em espécies não aparentadas e com características ecológicas muito diferentes, sugere a possibilidade de que essa característica possa estar ainda mais distribuída no grupo. Novos estudos com mais espécies precisam ser desenvolvidos para avaliar sua real prevalência e aspectos evolutivos de sua distribuição nos grupos.

CONCLUSÕES

É comum na natureza a necessidade que as espécies apresentam em se adaptar e procurar novas maneiras de sobrevivência em ambientes dinâmicos, tanto como adaptar às pressões que os ambientes exercem sobre suas populações, de uma forma que cada espécie consiga persistir durante sua história evolutiva. Em nosso estudo, podemos ver que as pressões, sendo representadas pela ausência de água em corpos d'água efêmeros, podem afetar no sucesso de eclosão das espécies, e que, essa eficiência de eclosão, tende a variar entre as espécies.

Apesar de apenas utilizarmos duas espécies em nosso estudo, *M. hesperis* e *P. mooma*, foi possível evidenciar que, os ovos dessas duas espécies, embora distantes filogeneticamente, apresentam resistência à dessecação. A distância de ambos na filogenia nos leva à hipótese de que essa característica de resistência dos ovos pode ainda estar distribuída em toda Ordem Odonata, mas, novamente, é importante ressaltar

a carência de estudos abordando a resistência dos ovos à dessecação para as Odonatas, inclusive das espécies da região neotropical.

Literatura citada

- Auguie, B. 2015.** gridExtra: Miscellaneous Functions for "Grid" Graphics. R package version 2.0.0.
- Bates, D., M. Mächler, B. M. Bolker, and S. C. Walker. 2015.** Fitting linear mixed-effects models using lme4. *J. Stat. Softw.* 67.
- Briers, R. A., and J. Biggs. 2003.** Indicator taxa for the conservation of pond invertebrate diversity 18. *Aquat. Conserv. Freshw. Ecosyst.* 13: 323–330.
- Cham, S.A.. 1992.** Ovipositing behaviour and observations on eggs and prolarva of *Jschnura pumilio*. *Journal of the British Dragonfly Society* 8: 6-1 0.
- Clark B. R., Faeth, S.H. 1998.** The evolution of egg clustering in butterflies: a test of the egg desiccation hypothesis. *Evol Ecol* 12:543–552.
- Corbet, P. S. 1999.** *Dragonflies: Behavior and Ecology of Odonata*. 1ª edição. Cornell University Press. 1999.
- Costa, G. C., C. Nogueira, R. B. Machado, and G. R. Colli. 2007.** Squamate richness in the Brazilian Cerrado and its environmental-climatic associations. *Divers. Distrib.* 13: 714–724.
- De Block, M., M. A. McPeck, and R. Stoks. 2008.** Life history plasticity to combined time and biotic constraints in *Lestes* damselflies from vernal and temporary ponds. *Oikos.* 117: 908–916.
- Delgado C., Alcantara G., and Couturier G. 1995.** Densidad de larvas de odonatos (Insecta) en un estanque de piscicultura en Iquitos. *Revista Peruana de Entomologia* 37, 101-102.

- De Marco, P., Latini, A. O. and Reis, A. P. 1999.** Environmental determination of dragonfly assemblages in aquaculture ponds. *Aquac Res* 30:357–364 723:87–101.
- De Marco, P., and D. C. Resende. 2002.** Activity patterns and thermoregulation in a tropical dragonfly assemblage. *Odonatologica*. 31: 129–138.
- De Marco P., Nogueira D. S., Correa C. C., Vieira T. B., Silva K. D., Pinto N. S., Bichsel D., Hirota V. S. A., Vieira R. R. S., Carneiro M. F., De Oliveira A. A. B., Carvalho P., Bastos R. P., Ilg C, and Oertli P. 2014.** Patterns in the organization of Cerrado pond biodiversity in Brazilian pasture landscapes. *Hydrobiologia* 723:87–101. doi: 10.1007/s10750-013-1695-2
- De Marco, P., J. D. Batista, and H. S. R. Cabette. 2015.** Community Assembly of Adult Odonates in Tropical Streams: An Ecophysiological Hypothesis. *PLoS One*. 10: e0123023.
- Hassall, C., and D. J. Thompson. 2008.** The effects of environmental warming on odonata: A review. *Int. J. Odonatol*. 11: 131–153.
- Hawking J.H., New T.R. 1995.** Development of Eggs of Dragonflies (Odonata: Anisoptera) from two Streams in North-eastern Victoria, Australia. *Aquat Insects* 17:175–180. doi: 10.1080/01650429509361584
- Huang H.J., Aldrich D.V. and Strawn, K. 1985.** Laboratory and pond evidence for shrimp (*Penaeus stylirostris*) predation by damselfly nymphs (*Ischnura ramburi*). *Journal of the World Aquaculture Society* 16. 347.
- Kalkman, V. J., V. Clausnitzer, K. D. B. Dijkstra, A. G. Orr, D. R. Paulson, and J. Van Tol. 2008.** Global diversity of dragonflies (Odonata) in freshwater. *Hydrobiologia*. 595: 351–363.
- Leggott M. and Pritchard G. 1985.** The effect of temperature on rate of egg and larval

development in populations of *Argia vivida* Hagen (Odonata : Coenagrionidae) from habitats with different thermal regimes. *Can Journal of Zoology*.

Lüdecke D. 2018. “ggeffects: Tidy Data Frames of Marginal Effects from Regression Models.” *Journal of Open Source Software*, **3**(26), 772.

Mendonça F.Z., Bernardy J. V., Oliveira C. E. K., Oliveira P. B. G., De Marco P. 2017. Temperature Effect on the Development of Tropical Dragonfly Eggs. *Neotropical Entomology*.

Monteiro-Júnior, C. S., L. Juen, and N. Hamada. 2014. Effects of urbanization on stream habitats and associated adult dragonfly and damselfly communities in central Brazilian Amazonia. *Landsc. Urban Plan.* 127: 28–40.

Nakamura K. and Takashima K. 2015. Geographical variation in diapause development in eggs of *Sympetrum frequens* (Odonata: Libellulidae). *Appl Entomol Zool* 50:263–270

Santos N.D., Costa J.M. and Pujol-Luz J.R. 1988. Nota sobre a ocorrência de odonatos em tanques de piscicultura e o problema da predação de alevinos pelas larvas. *Acta Limnologica Brasiliensis* 2, 771-780.

Oertli, B. 2008. The use of dragonflies in the assessment and monitoring of aquatic habitats, 1st editio. ed. Oxford University Press, New York.

Oliveira-Junior, J. M. B. de, P. De Marco, K. Dias-Silva, R. P. Leitão, C. G. Leal, P. S. Pompeu, T. A. Gardner, R. M. Hughes, and L. Juen. 2017. Effects of human disturbance and riparian conditions on Odonata (Insecta) assemblages in eastern Amazon basin streams. *Limnologica*. 66: 31–39.

Pickup, J., and D. J. Thompson. 1990. The effects of temperature and prey density on the development rates and growth of damselfly larvae (Odonata: Zygoptera). *Ecol. Entomol.* 15: 187–200.

- Pritchard G. 1982.** Life-history strategies in dragonflies and the colonization of North America by the genus *Argia* (Odonata: Coenagrionidae). *Adv Odonatol* 1:227–241
- Pritchard G., Harder L.D. and Mutch R.A. 1996.** Development of aquatic insect eggs in relation to temperature and strategies for dealing with different thermal environments. *Biol J Linn Soc* 58:221–244.
- Silva, H. H. G. da, and I. G. da Silva. 1999.** Influência do período de quiescência dos ovos sobre o ciclo de vida de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera, Culicidae) em condições de laboratório. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 32: 349–355.
- Sota, T., and M. Mogi. 1992.** Interspecific variation in desiccation survival time of *Aedes* (*Stegomyia*) mosquito eggs is correlated with habitat and egg size. *Oecologia*. 90: 353–358.
- Suhling, F., G. Sahlén, J. Kasperski, and D. Gaedecke. 2005.** Behavioural and life history traits in temporary and perennial waters: Comparisons among three pairs of sibling dragonfly species. *Oikos*. 108: 609–617.
- Valtonen, P. 1986.** On the odonate fauna of a Finnish forest pond occasionally drying up. *Not. Odonatol.* 2.
- Verdegem, M. C. J., and A. S. McGinty. 1986.** Depredation of *Tilapia* fry by dragonfly nymphs and a means for control. *J. Agric. Univ. Puerto Rico - Puerto Rico, Agric. Exp. Station.* 70: 213–216.
- Wickham, H. 2016.** *Ggplot2*. Wiley Interdiscip. Rev. Comput. Stat. 3: 180–185.
- Wildermuth, H. 1991.** (Anisoptera : Libellulidae) clearly developed behaviour , zygopteran *Calopteryx Chlorocyphidae* study territoriality investigation oviposition h). They leg tarsi . The procedure. 20: 471–478.
- Wildermuth, H. 1992.** Visual and Tactile stimuli in choice of oviposition substrates by

the dragonfly *perithemis mooma kirby* (anisoptera: Libellulidae). 21: 309–321.

Williams, D. D. 1997. Temporary ponds and their invertebrate communities. *Aquat. Conserv. Freshw. Ecosyst.* 7: 105–117.

Williams, P., M. Whitfield, J. Biggs, S. Bray, G. Fox, P. Nicolet, and D. Sear. 2004. Comparative biodiversity of rivers, streams, ditches and ponds in an agricultural landscape in Southern England. *Biol. Conserv.* 115: 329–341.

Witzig, J., J. V Huner, and J. W. Avault. 1986. Predation by dragonfly naiads *Anax junius* on young crawfish *Procambarus clarkii*. *J. World Aquac. Soc.* 17: 58–63.

Wolda, H. 1980. Seasonality of Tropical Insects. *Br. Ecol. Soc.* 49: 277–290.

Wolda, H. 1988. Insect seasonality: why? *Annu. Rev. Ecol. Syst.* Vol. 19. 1–18.

Wolda, H., and F. W. Fisk. 1981. Seasonality of Tropical Insects. II. Blattaria in Panama. *Br. Ecol. Soc.* 50: 827–838.

Capítulo II

Morfologia dos ovos de duas espécies de libélulas neotropicais: *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex* (Odonata: Libellulidae)

RESUMO

As espécies de Odonatas passam seu desenvolvimento imaturo em meio aquático, apresentando ovos adaptados para a sobrevivência em habitats aquáticos. A sobrevivência dos ovos está associada às camadas que formam a casca do ovo, sendo elas: exocórrion, endocórrion e envelope vitelínico. As camadas são comuns em todas as espécies de Odonata, mas apresentam variação entre si dependendo do modo de oviposição da espécie. Dessa forma, os ovos endofíticos (ovipositados no tecido de plantas aquáticas) e exofíticos (ovipositados na superfície da água) apresentam morfologias diferentes, podendo apresentar adaptações dos ovos às diversas demandas dos ambientes. Essas diferenças na morfologia podem estar presentes na espessura das camadas dos ovos, como também na composição histoquímica e ultraestrutural dos mesmos. A composição histoquímica dos ovos pode apresentar características bem claras que permitiriam entender melhor sua função, como por exemplo, presença de glicoproteínas e proteínas totais que podem regular a umidade e retenção de água no interior dos ovos, de acordo com as demandas dos ambientes que as espécies ocupam. Neste estudo, nós realizamos análises histoquímicas e ultraestruturais dos ovos de duas espécies de Odonata neotropicais que ovipositam exofiticamente: *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex*. As imagens obtidas através da análise histoquímica e das microscopias de transmissão e varredura mostraram diferenças nas concentrações de glicoproteínas nas camadas dos ovos de ambas espécies como também a existência do

que acreditamos ser um endocórion modificado nos ovos de *Miathyria simplex*. Nossos resultados suportam a hipótese de que as características das camadas dos ovos podem estar associadas às demandas dos ambientes que as espécies ocupam.

Palavras-chave: Casca do ovo, histoquímica, microscopia eletrônica de transmissão, neotropical, Odonata, ultraestrutura.

ABSTRACT

The Odonata species undergo their immature development on water habitats, where the eggs are adapted to survive in water habitats. The eggs' survival is linked to the layers that make up the eggshell. The layers are common to all Odonate species, but show variation amongst them depending on which manner the eggs are laid. Thus, the endophytic eggs (laid on plants tissues) and exophytic (laid on the water surface, exhibit distinct morphologies, being able to present egg adaptation to the environmental pressures. The differences in the the morphologies could be shown on the length of the egg layers, on its histochemical composition and ultrastructure as well. The histochemistry composition can present features that allow us to a better comprehension of its function, for example, how glycoproteins and total proteins could regulate the humidity and water retention in the eggs, according to the environments that the eggs are present.

Keywords: Eggshell, Odonata, neotropical, ultrastructure, histochemistry, transmission eletron microscopy.

1.INTRODUÇÃO

A fisiologia e a sobrevivência dos ovos de Odonata são influenciadas pelas camadas que formam a casca do ovo (Corbet 1999). O ovo é composto pelo envelope vitelínico, ou membrana vitelínica, sendo a camada mais interna, e acredita-se que participa de um importante papel na proteção da casca do ovo (Sahlén 1995a). O endocóxon, exocóxon e envelope vitelínicos são camadas comuns nos ovos de todas as espécies de Odonata, mas exibem variação entre as espécies endofíticas (ovipositam dentro de plantas aquáticas) e exofíticas (ovipositam na superfície da água) (Miller and Miller 1985; Miller 1987).

Os ovos de espécies exofíticas geralmente possuem um invólucro espesso, compondo a maior parte da casca do ovo, um endocóxon laminado muito fino, e um exocóxon filamentososo que sofrem grandes modificações (Corbet 1999, Gaino et al. 2008). Essas modificações no exocóxon ocorrem logo após o contato do ovo com a água onde o exocóxon transforma-se em uma camada gelatinosa que, quando expandida, pode ser tão espessa como o diâmetro do ovo, enquanto o cóxon dos ovos endofíticos não sofrem nenhuma alteração morfológica, mas são compostos pelas mesmas camadas. A camada gelatinosa possui duas funções: (i) camuflar o ovo; (ii) melhorar a proteção proporcionada pelo envelope vitelínico (Sahlén 1995a). Uma vez que a camada gelatinosa é responsável pela proteção dos ovos, é possível associar as funções que a gelatina proporciona aos ovos à sobrevivência dos mesmos durante seu desenvolvimento. As substâncias presentes na superfície dos ovos podem apresentar características histoquímicas que permitem entender melhor sua função, como por exemplo, presença de glicoproteínas e proteínas totais que poderiam regular a umidade e retenção de água no interior dos ovos.

As espécies de Odonata podem ser encontradas no entorno de diversos tipos de habitats aquáticos, sendo presentes em riachos, lagos e poças temporárias (De Marco and Resende 2002) para obtenção de recursos e para o acasalamento. A presença de água em poças temporárias é restrita ao hidroperíodo (definido como o período em que o ambiente apresenta água superficial). De acordo com as demandas dos ambientes em que as libélulas ocupam, espera-se que as características dos ovos estejam associadas às pressões do ambiente, podendo apresentar diferenças em sua composição ultraestrutural e histoquímica que possam representar adaptações à essas demandas.

Visando uma melhor compreensão sobre a morfologia dos ovos, especialmente para as espécies cujas morfologias de seus ovos ainda não foram descritas, faz-se de extrema importância o uso de dados de histoquímica e de ultraestrutura, dessa maneira, é possível entender a composição que as camadas dos ovos apresentam. Este estudo tem como objetivo realizar a descrição da composição histoquímica ultraestrutural de duas espécies exóticas de Odonata neotropicais: *Micrathyria hesperis* Ris, 1911 e *Miathyria simplex* Rambur, 1842 como contribuição para a melhor compreensão da morfologia e função das estruturas presentes nos ovos de Odonata.

2.MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Coleta de ovos no campo

Os ovos de *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex* foram coletados em campo em poças temporárias e lagos nas proximidades do Campus da Universidade Federal de Goiás (UFG – campus samambaia) (16°36'07.3"S 49°15'53.1"W). A amostragem de ovos consiste na captura de fêmeas adultas das espécies em estudo no período entre 10 e 16h, o período do tempo que o comportamento de oviposição é geralmente observado

em espécies de Odonata que habitam poças ou pequenos lagos (Mendonça et al. 2017). Foram capturadas as fêmeas após a observação da a copulação e sempre quando a copulação estiver completa. A escolha espécies *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex* se deve por existirem em ambientes lênticos e são comuns em áreas do Cerrado do Brasil Central (De Marco et al. 2014, Mendonça et al. 2017). Ambas espécies podem ser observadas juntas, ocorrendo preferencialmente em lagos, e são abundantes nesses ambientes. Ambas são de larga distribuição e estão associadas a plantas aquáticas, com machos residentes e territoriais e fêmeas que visitam o lago para cópula e oviposição (De Marco and Resende 2002).

2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Os ovos coletados em campo foram fixados em glutaraldeído 2,5% durante 24h. Em seguida foram realizados 3 banhos de 15 min em tampão fosfato de sódio 0,1 M pH 7,4. Os ovos foram desidratados em série alcoólica crescente e secos no equipamento de ponto crítico (Autosamdri, 815). Em seguida as amostras foram recobertas com ouro (Denton Vacuum, Desk V) e analisadas em Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol, JSM 6610).

2.4 Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

Para realizar a Microscopia Eletrônica de transmissão, os ovos foram fixados em glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato de sódio 0,1M pH 7,4. O material foi pós-fixado em tetróxido de ósmio 1% na mesma solução tampão, desidratados em séries gradual de acetona e incluídos em resina epóxi (Epon). Cortes ultrafinos com 70nm foram contrastados com acetato de uranila 2% e citrato de chumbo 0.2% e analisados utilizando o microscópio eletrônico de transmissão JEOL, JEM 2100 sob 80kV.

2.3 Análise histoquímica

Os ovos foram fixados em paraformaldeído tamponado 4%, desidratados em séries graduais alcólicas, infiltrados e incluídos em resina glicol metacrilato (Historesin Leica). Para determinar a natureza química dos ovos, seções de espessura de quatro micrômetros foram cortadas em um micrótomo Leica RM2245 e submetidos aos procedimentos de coloração usais (veja descrição abaixo). As fotomicrografias foram realizadas com um fotomicroscópio Olympus BX-41 e a análise morfométrica realizada com o software IMAGE PRO PLUS.

Azul de Bromofenol. Este procedimento foi realizado para determinar o pH aproximado dos ovos de Odonata. Os cortes foram corados em solução de azul de Bromofenol [azul de Bromofenol ACS 0,5%, cloreto de mercúrio 10% em ácido acético 2% (p/p/v)] por duas horas em temperatura ambiente, lavados em ácido acético 0.5% e então lavados brevemente em álcool terciário-butílico.

Ácido Periódico – Schiff (PAS). Essa reação foi realizada com intuito de investigar a presença de glicoproteínas básicas no interior dos ovos de Odonata. Os cortes foram tratados com ácido periódico 1% por 20 minutos, lavados em água destilada e então cobertos com o reagente de Schiff por cinco minutos. Em seguida, os cortes foram lavados em água corrente por 10 minutos e contracorados com hematoxilina de Harris por aproximadamente um minuto.

Xylidine Ponceau. Este método foi realizado para investigar a presença de proteínas básicas nos ovos. Os cortes foram coradas em solução Xylidine Ponceau [Xylidine Ponceau 0,1% em ácido acético 2,5% (p/v)] por 20 minutos em temperatura ambiente e então lavados em água destilada.

Alcian Blue 8GS pH 2,5. Este procedimento foi realizado para detectar a presença do ácido mucopolissacarídeos nos ovos. Os cortes foram corados em Alcian

Blue em pH 2,5 [Alcian Blue 8GS 1% em ácido acético 3% (p/v)] por 30 minutos em temperatura ambiente e então lavados por 10 minutos em água corrente.

Alcian Blue 8GS pH 1,0. Este procedimento foi realizado para detectar a presença de substâncias mucosas fortemente sulfatadas nos ovos. Os cortes foram corados em Alcian blue sob pH 1,0 [Alcian Blue 8GS 1% em ácido clorídrico 0,1N (p/v)] durante 30 minutos em temperatura ambiente e então secos com filtro de papel.

3. RESULTADOS

3.1 *Micrathyria hesperis*

Os ovos da espécie exofítica *M. hesperis* apresentaram formato subsférico, de comprimento de $399,3 \pm (\text{S.D. } 8.57) \mu\text{m}$ e $261.6 \pm (\text{S.D. } 8.33) \mu\text{m}$ de largura (Figura 1A). A haste micropilar possui formato de cone, estendendo de sua base e apresentando $30.45 \pm (\text{S.D. } 0.93) \mu\text{m}$ de comprimento e $13.07 \pm (\text{S.D. } 3.83) \mu\text{m}$ de largura (Figura 1 B-D). A reticulação da superfície do córion mostra-se rígida e rugosa (Figura 1 E-F).

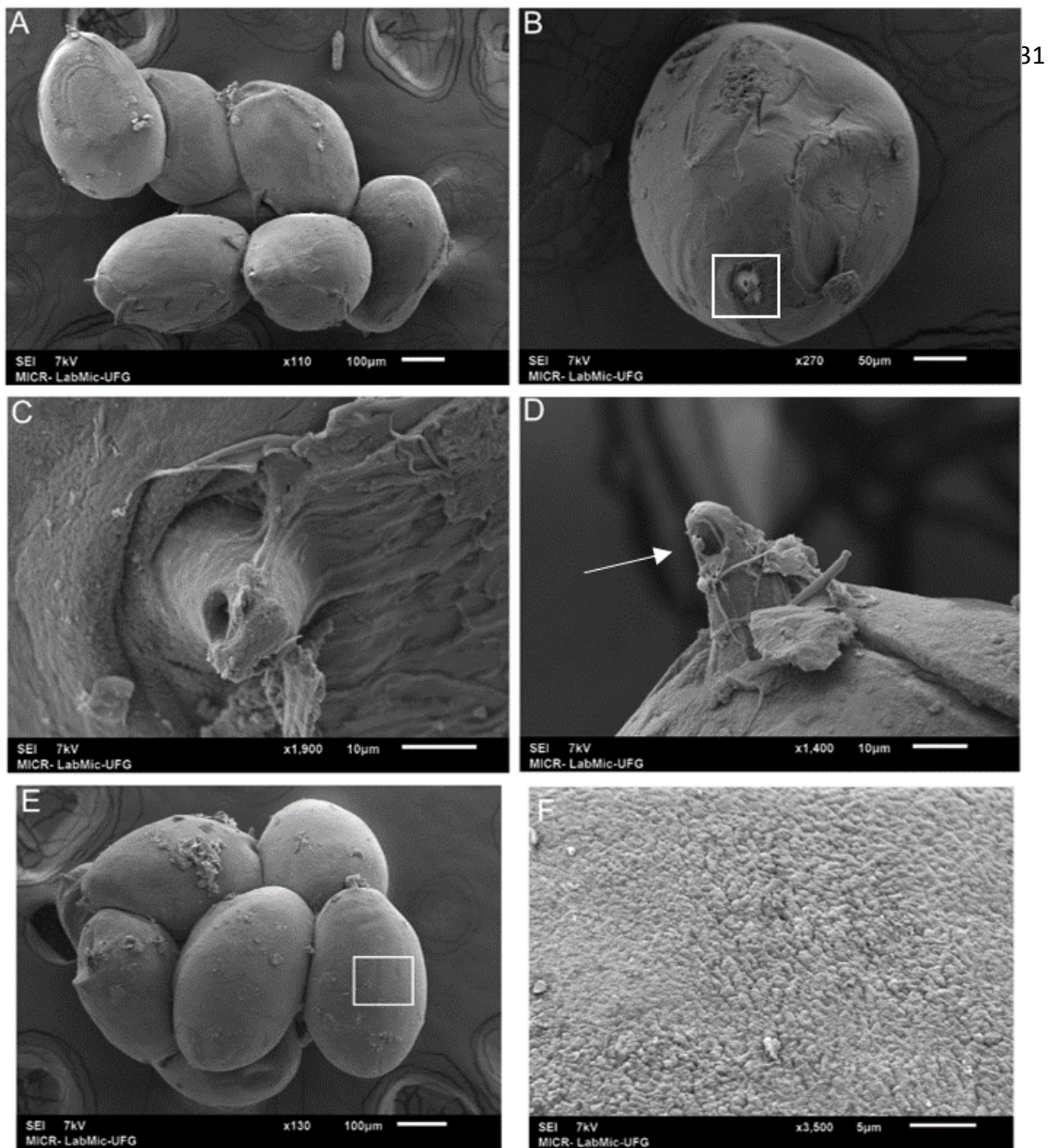


Figura 1. Eletromicrografia de varredura dos ovos de *Micrathyria hesperis*. (A) Vista panorâmica de um aglomerado de ovos; (B) Posição da micrópila no ovo; (C) Imagem ampliada da micrópila; (D) A seta indica a abertura na micrópila que permite a entrada do esperma no ovo; (F) imagem ampliada da região de (E), mostrando a superfície do ovo desta espécie.

Analisando os ovos dessa espécie ao microscópio eletrônico de transmissão, observamos um exocórrion formado por um adensamento de filamentos com aproximadamente $9,33 \pm (\text{S.D. } 0,165)$ nm de espessura (Figura 2). Esses filamentos formam uma camada com aproximadamente $2,85 \mu\text{m}$ de espessura que recobre todo o ovo.

O endocórrion é composto por uma camada elétrondensa contínua localizada abaixo do exocórrion. Em diferentes regiões do ovo observamos o endocórrion com espessura variando de aproximadamente $1,11 \mu\text{m}$ (Figura 2 A) a aproximadamente $1,88 \mu\text{m}$ (Figura 2 C).

O envelope vitelínico é uma camada elétrondensa uniforme, com aproximadamente $1,01 \pm (\text{S.D. } 0,33) \mu\text{m}$ de espessura (Figura 2A). O envelope vitelínico é a camada mais próxima do vitelo e fica separada do endocórrion por um espaço elétron lúcido de espessura variável sem estrutura definida.

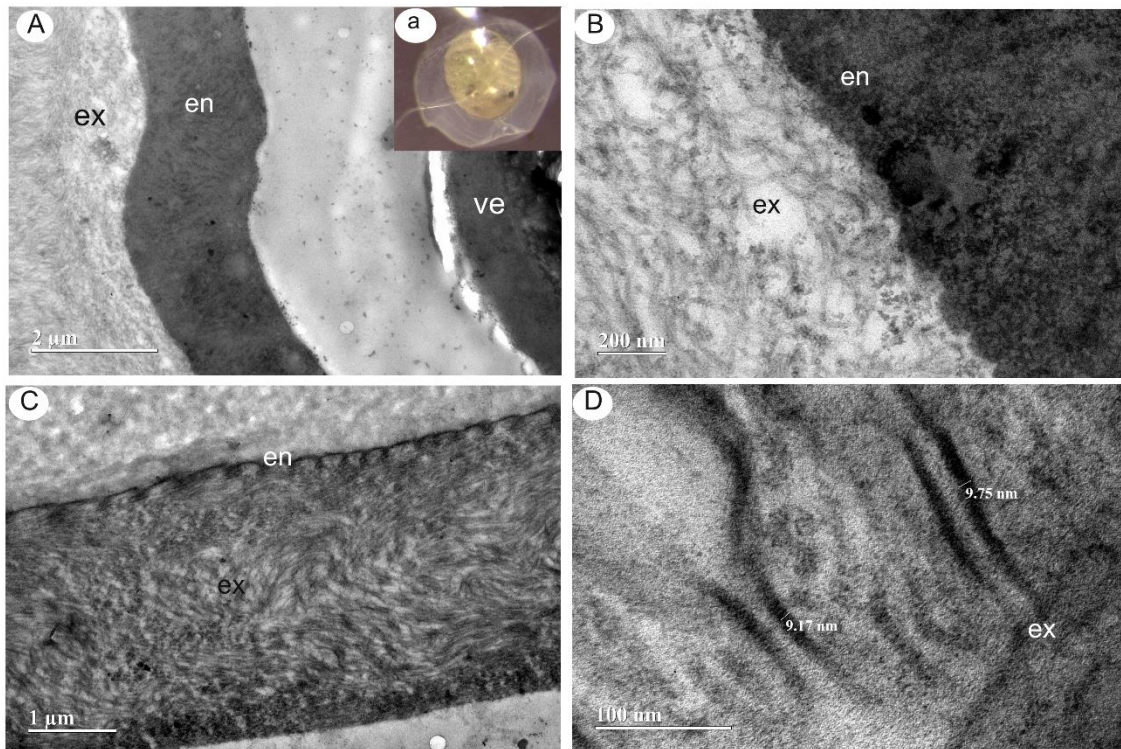


Figura 2. Eletromicrografia de transmissão dos ovos de *M. hesperis*, ex = exocócion, em = endocócion, ve = envelope vitelínico. (A) Vista frontal das camadas que compõem o cócion; (a) Foto de um dos ovos de *M. hesperis* em fase de desenvolvimento, apresentando o exocócion expandido; (B) Vista ampliada do endocócion e exocócion. (C) Visão ampliada apresentando a extensão do endocócion; (D) Vista dos filamentos que compõem o exocócion.

Os resultados referentes aos testes histoquímicos realizados em *M. hesperis* estão compilados na Tabela 1. Analisando os resultados podemos observar que a técnica de Xylidine Ponceau revelou a presença de proteínas em todas as camadas dos ovos. Sendo que o vitelo e o envelope vitelínico reagiram com maior intensidade (Figura 3 E). A técnica de Ácido Periódico – Schiff (PAS) revelou a ausência de glicoproteínas no exocócion, em contrapartida, o vitelo e o envelope vitelínico se destacaram quanto à intensidade de coloração apresentada (Figura 3 C).

O teste de Azul de Bromofenol permitiu identificar que os componentes dos ovos de *M. hesperis* possuem pH predominantemente básicos apresentando variação entre as cores azul e verde (Figura 3 A), onde azul detecta um pH básico (> 4,5) e

amarelo como ácido ($\text{pH} < 3,0$). Esses resultados se confirmam pela resposta negativa aos testes de Azul de Alcian ($\text{pH} 2,5$ e $1,0$).

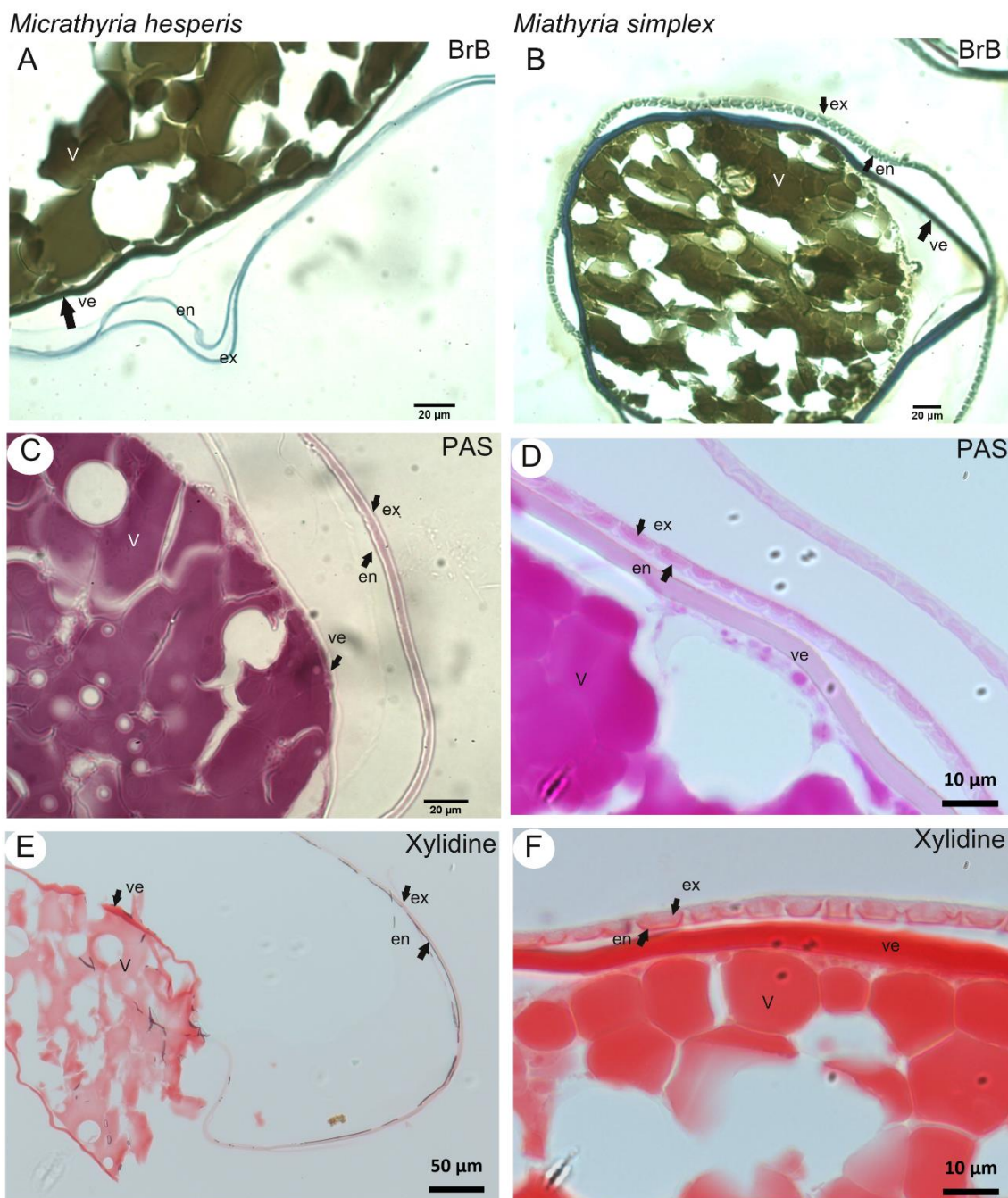


Figura 3. Análise histoquímica a partir dos cortes de ovos de duas espécies de Odonata: *Micrathyria hesperis* e *Miathyria simplex*. Brb= Azul de Bromofenol (Bromophenol blue); PAS = Ácido Periódico – Schiff; Xylidine= Xylidine Ponceau; v = vitelo; ve = envelope vitelínico; en = endocóron; ex = exocóron.

3.2 *Miathyria simplex*

M. simplex possui ovos exofíticos de formato subsférico, de comprimento $379.75 \pm (\text{S.D. } 12,60) \mu\text{m}$ e $289,65 \pm (\text{S.D. } 6,92) \mu\text{m}$ de largura (Figura 4 A, B). A haste micropilar apresenta formato de cone em sua base, estendendo-se em forma de arco no topo, apresentando $22,265 \pm (\text{S.D. } 2,735) \mu\text{m}$ de comprimento e $10.84 \pm (\text{S.D. } 0,12) \mu\text{m}$ de largura (Figura 4 C, D). A abertura da micrópila se estende da região intermediária da micrópila até o topo do arco, apresentando $9.33 \pm (\text{S.D. } 0,45) \mu\text{m}$ de comprimento e $5.385 \pm (\text{S.D. } 0,085) \mu\text{m}$ de largura (Figura 4 D). Analisando a superfície do córion observamos estruturas em forma de hexágonos que parecem estar localizado sob a superfície externa, possuindo $4,847 \pm (\text{S.D. } 2818,06) \mu\text{m}$ de diâmetro (Figura 4 E). Em regiões dos ovos onde o exocóron foi removido mecanicamente, observamos que o endocóron é uma estrutura fragmentada, descontínua (Figura 4 F – H) que se apoia sobre o envelope vitelínico ligeiramente enrugado (Figura 4 G, H). O endocóron possui o formato parecido com vales com o lado côncavo voltado para o meio externo (Figura 4 F), sendo coberto por um exocóron de constituição fibrosa (Figura 4 F – H).

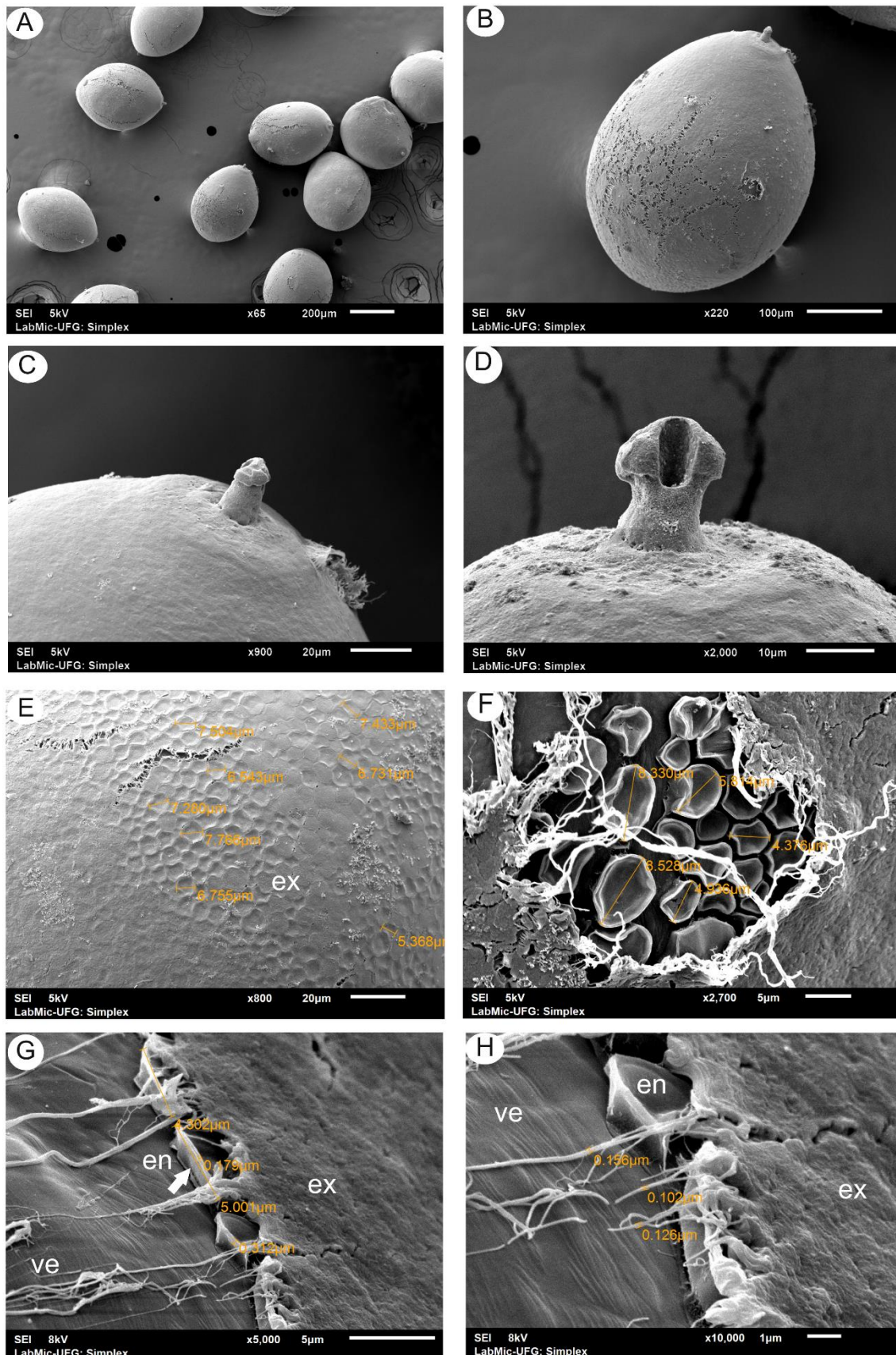


Figura 4. Eletromicrografia de varredura dos ovos de *Miathyria simplex*. (A) Vista panorâmica de um aglomerado de ovos; (B) Vista panorâmica de um dos ovos; (C) Posição da micrópila no ovo; (D) Visão ampliada da micrópila; (E) Superfície externa do ovo; (F) Vista frontal ampliada das estruturas hexagonais do córion; (G) Vista lateral dos hexágonos; (H) Vista ampliada de (G). en = endocórior; ve = envelope vitelínico; ex= exocórior.

Avaliando os ovos de *M. simplex* ao Microscópio Eletrônico de Transmissão, observamos que o endocócion é formado por estruturas lamelares sobrepostas, aparentemente enroladas sobre si (Figura 5 A – D). Em cortes transversais do cócion podemos observar estruturas em vales que se estendem junto com o exocócion, apresentando $0,24 \pm (\text{S.D. } 0,08) \mu\text{m}$ de distância entre um vale e outro, e $0,56 \pm (\text{S.D. } 0,06) \mu\text{m}$ de espessura (Figura 5 C, D).

O exocócion, a camada mais externa do ovo, é formada por filamentos apresentando $22,07 \pm (\text{S.D. } 2,18) \text{ nm}$ de espessura. Os filamentos estão distribuídos ao longo de todo exocócion, no entanto é possível observar que o exocócion é mais espesso na região central dos fragmentos côncavos do endocócion com $0,883 \pm (\text{S.D. } 0,11) \mu\text{m}$ de espessura (Figura 5 C, D). No entanto, nas bordas dos fragmentos do endocócion, os filamentos do exocócion são mais esparsos e o exocócion é mais delgado.

O envelope vitelínico apresenta estruturas filamentosas densas, a densidade desses filamentos no vitelo é semelhante aos filamentos em forma de vale presentes sob o exocócion. É possível observar um padrão dos filamentos em formato de círculos elipsoidais. O envelope vitelínico apresenta $3,51 \pm (\text{S.D. } 0,33) \mu\text{m}$ de espessura (Figura 5, F).

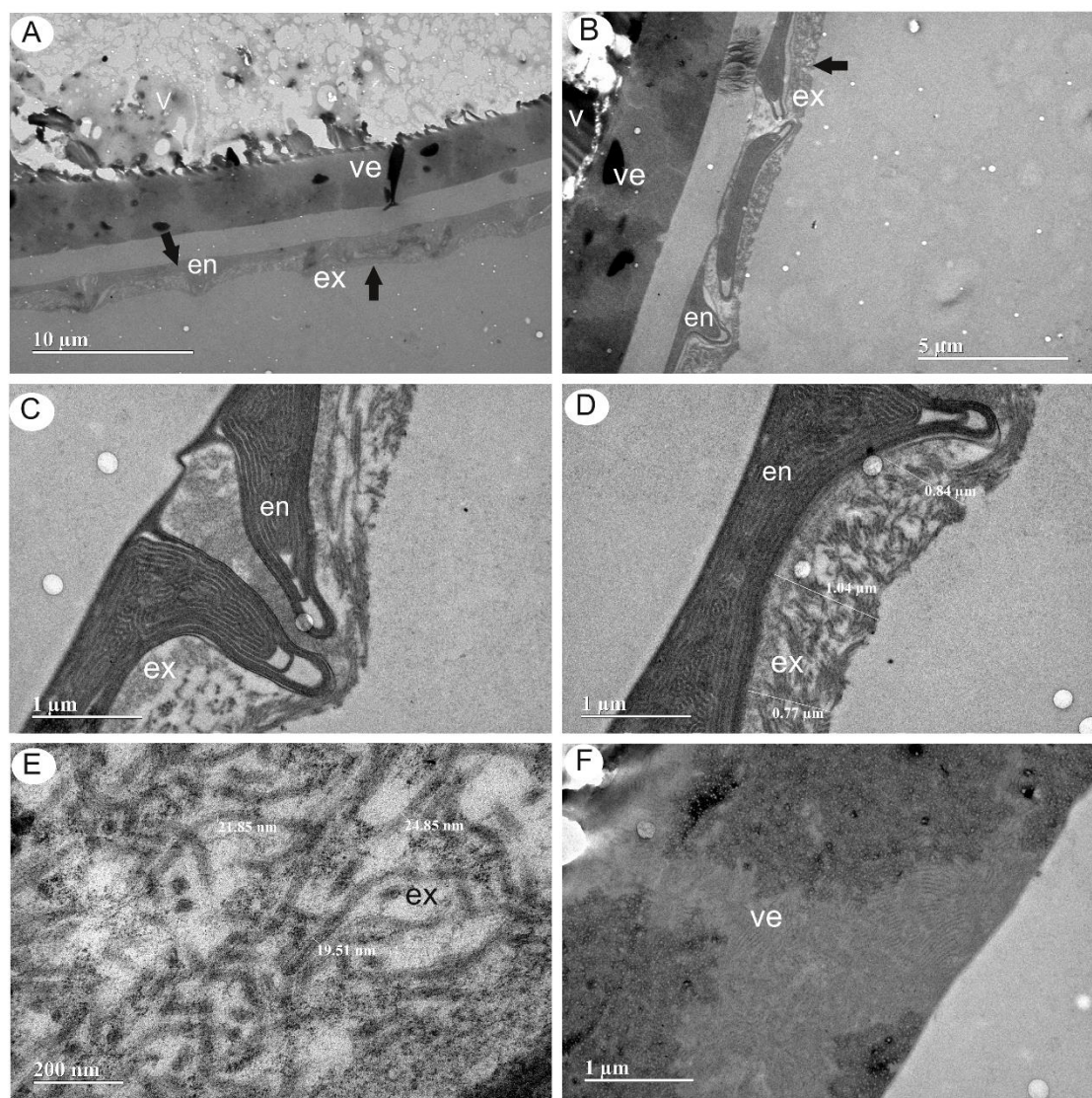


Figura 5. Eletromicrografia de transmissão dos ovos de *M. simplex*. (A) Vista frontal das camadas que compõem o córion ve = envelope vitelínico, en= endocóron, ex= exocóron (B) Vista ampliada de (a). (C) vista ampliada apresentando as estruturas em forma de vales presentes no endocóron. (D) Vista ampliada do exocóron (ex) e endocóron (en). (E) Vista ampliada dos filamentos presentes no exocóron. (F) Vista ampliada do envelope vitelínico.

Os resultados referentes aos testes histoquímicos realizados em *M. simplex* estão compilados na Tabela 1. As quatro estruturas observadas nessa análise responderam ao Xylidine Ponceau. O Xylidine detectou a presença de proteínas básicas do córion, no entanto, houve variação entre a intensidade da reação entre as camadas, o envelope vitelínico se destacou por apresentar a maior intensidade de coloração. Além disso,

podemos destacar que o endocóron respondeu com maior intensidade ao teste quando comparado ao exocóron (Figura 3 F). A reação pelo Ácido Periódico – Schiff (PAS) detectou a presença de glicoproteínas no exocóron do ovo, no vitelo e no envelope vitelínico, sendo ausente apenas no endocóron (Figura 3 D).

A técnica do Azul de Bromofenol mostrou que as camadas dos ovos de *M. symplex* possuem pH predominantemente básico, sendo intermediárias no exocóron e no vitelo, apresentando variação entre as cores azul e verde, onde azul detecta um pH básico (> 4,5) e amarelo como ácido (pH < 3,0). Esses resultados se confirmam pela resposta negativa aos testes de Azul de Alcian (pH 2,5 e 1,0).

Tabela 1. Resumo dos testes histoquímicos utilizados para estudar as estruturas dos ovos de *M. hesperis* e *M. simplex*. Ex = Exocóron; En = Endocóron; V = Vitelo; Ve = Envelope vitelínico.

Espécie	Técnica	Resultado (Ex)	Resultado (En)	Resultado (V)	Resultado (Ve)
<i>Micrathyria hesperis</i>	Azul de Bromofenol	Azul	Azul	Verde	Azul
	PAS	-	-	+++	+
	Xylidine Ponceau	+	+	++	+++
	Azul Alcian pH 2,5*	-	-	-	-
	Azul Alcian pH 1,0*	-	-	-	-
<i>Miathyria simplex</i>	Azul de Bromofenol	Verde	Azul	Verde	Azul
	PAS	+	-	++	++
	Xylidine Ponceau	+	++	++	+++
	Azul Alcian pH 2,5*	-	-	-	-
	Azul Alcian pH 1,0*	-	-	-	-

* Dados não mostrados.

4. DISCUSSÃO

O principal objetivo estabelecido neste estudo foi avaliar a morfologia do córion dos ovos de duas espécies neotropicais de Odonata. Após observar a estrutura da micrópila dos ovos das duas espécies, observamos que a micrópila de *M. hesperis* possui a base da haste micropilar larga, e sua abertura estreita, já para *M. simplex* a base da haste micropilar é estreita e o arco do topo, tanto como a abertura da micrópila são largas. É importante enfatizar nessa seção que a estrutura em forma de arco observada nos ovos de *M. simplex* mencionada anteriormente é uma característica ausente nos ovos da espécie *M. hesperis*. Todos os insetos estão sujeitos à perda de água, mas a extensão qual a perda de água ocorre é afetada pela escolha de local de oviposição pela fêmea e pela permeabilidade do córion (Chapman 1998). Em ovos de Odonata, a abertura da micrópila está associada às trocas gasosas e à entrada e saída de água no ovo (Sahlén 1994a, Andrew and Foerster 2015). Essa observação nos levou à hipótese de que o tamanho da abertura da micrópila poderia estar associado à eficiência de entrada e saída de água, no entanto, essa hipótese ainda não foi explicitamente testada em Odonata. Em ovos de insetos terrestres, em coleoptera, o tamanho da aerópila é criticamente importante, pois um poro muito pequeno não permite a entrada de oxigênio suficiente. Essa observação é evidente nos ovos de duas linhagens de *Callosobruchus maculatus* com diferentes taxas metabólicas, possuindo aerópilas com diferentes formatos (Daniel and Smith 1994, Chapman 1998). Em Odonata, o córion dos ovos não possui um sistema de espaços e o oxigênio difunde através do material sólido, provavelmente, porque na ausência de qualquer necessidade de restringir a perda de água, o córion é relativamente poroso, e por si só limita a perda de água, mas as diferenças em sua espessura pode ser importante na retenção de água (Chapman 1998).

M. simplex possui um exocóron mais fino, sendo possível observar a silhueta das estruturas hexagonais que estão localizadas sob o exocóron. A característica que mais chamou a atenção em nossos resultados são as estruturas hexagonais presentes nos ovos de *M. simplex* que acreditamos corresponder ao endocóron.

Já foram realizados estudos previamente abordando a ultraestrutura de ovos de espécies de Odonata (Sahlén 1994b, 1994a, 1995a, 1995b, Gaino et al. 2008) mas até o momento existe uma carência de estudos envolvendo análises ultraestruturais e histoquímicas em ovos de Odonata neotropicais. Diante essa lacuna de conhecimento, pressupõe-se que as estruturas hexagonais observadas anteriormente sejam uma modificação do endocóron do ovo, no entanto, seria necessário obter mais informações sobre essa estrutura, tanto como avaliar se esse padrão hexagonal é exclusivo ou não nos ovos das espécies do gênero *Miathyria*.

As estruturas hexagonais do endocóron modificado em *M. simplex* também foram observadas nas imagens obtidas através da microscopia eletrônica de transmissão e da análise histoquímica, sendo observadas pelos reagentes Azul de Bromofenol, Ácido periódico – Schiff (PAS) e pela MO (Xylidine Ponceau). Essas observações confirmam as conclusões obtidas a partir da microscopia de varredura, mostrando que existem espaços entre os fragmentos do endocóron. Esses espaços formam canais que podem estar associados à entrada e saída de água no interior do ovo, possivelmente reduzindo a capacidade de retenção de umidade no interior do ovo. Além disso, o exocóron de *M. simplex* apresenta espessura menor do que *M. hesperis* tanto como menor densidade de filamentos. Gaino et al. (2008) mostrou que esses filamentos quando em contato com a água se hidratam e expandem formando uma cobertura gelatinosa.

Nossos resultados demonstraram que os exocórons das duas espécies estudadas possuem composição glicolípídica (reação PAS positiva), o que fortalece a hipótese da

sua função na retenção de umidade ao redor dos ovos, já que os carboidratos possuem grande afinidade por água. Podemos inferir também que o endocócion nas duas espécies são formados por camadas de proteínas neutras sem carboidratos associados.

Essas diferenças observadas no endocócion e exocócion das espécies estudadas podem estar associadas às demandas dos ambientes em que as espécies estão inseridas. *M. hesperis* consegue colonizar tanto ambientes que passam por um período de seca (poças temporárias) como os ambientes permanentes (lagos e tanques) já *M. simplex* é somente encontrada em ambientes aquáticos que não passam pelo período de seca. Podemos imaginar que o endocócion fragmentado, associado a um exocócion menos desenvolvido, tornem os ovos de *M. simplex* mais vulneráveis a períodos de seca. No entanto, mais estudos precisam ser realizados para testar essa hipótese.

Em nosso estudo as duas espécies de Odonata apresentaram distintas espessuras do cócion. Devido ao seu desenvolvimento embriônico em meio aquático, as espessuras estão associadas à retenção de água no interior do ovo como havia sido dito anteriormente. As diferenças nas espessuras podem indicar que, as espécies que apresentam um cócion mais espesso possam apresentar um sucesso adaptativo quanto ao seu desenvolvimento em ambientes onde a disponibilidade de água é menor. Tanto como a espessura do cócion, a porosidade de sua superfície também pode estar associada à restrição de perda de água (Chapman 1998), indicando que variações na reticulação do cócion estejam associadas à regulação de água nos ovos. Tanto como a espessura do cócion, é importante ressaltar que o volume de filamentos no exocócion indica que o tamanho das camadas gelatinosas que se formarão em contato com a água varia entre as espécies. Portanto, é importante que mais estudos que abordem a ultraestrutura externa e microscopia de transmissão sejam feitos abordando os ovos de

espécies de Odonata de outros gêneros, de modo que haja uma maior abrangência do conhecimento dessas estruturas para as espécies desse grupo.

CONCLUSÕES

Existem inúmeras maneiras de avaliar estrutura ultraestrutural de ovos das espécies. Entre elas, a microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e análise histoquímica são ferramentas extremamente úteis na descrição das estruturas presentes nos ovos. A microscopia eletrônica de varredura foi importante nesse estudo para tratar dos atributos externos dos ovos. Para olhar a estrutura histológica dos cortes, utilizamos a microscopia eletrônica de transmissão. E, a fim de avaliar a composição histoquímica dos ovos, temos a análise histoquímica, também conhecida como microscopia de luz. Cada uma dessas ferramentas desempenhou um papel fundamental na descrição morfológica dos ovos das nossas espécies de estudo.

A partir dos resultados obtidos nas imagens, foi possível avaliar as diferentes espessuras das camadas e estruturas, tanto como as composições químicas das estruturas dos ovos e ainda mais, através da análise histoquímica e da microscopia eletrônica de varredura, identificar estruturas hexagonais presentes nos ovos de *M. simplex* e ausentes nos ovos de *M. hesperis*. Essas estruturas hexagonais, acreditamos que seja o endocóxon modificado, no entanto, é importante reforçar essa hipótese com mais estudos utilizando essas técnicas de microscopia para concluir essa suposição quanto à essas estruturas hexagonais. É possível cogitar que as diferenças na espessura do exocóxon, a densidade de filamentos, tanto como os outros atributos citados neste estudo, possa estar associada aos ambientes que essas espécies ocupam, onde *M. hesperis* está presente em corpos d'água temporários, já *M. simplex* é comumente avistada em corpos d'água permanentes. Novamente, é necessário realizar mais estudos

abordando especificamente o habitat que as espécies de Odonata ocupam e as características morfológicas dos ovos dessas espécies.

Literatura citada

Andrew, R. J., and S. Foerster. 2015. Egg shell ultrastructure of the dragonfly, *Micrathyrina dictynna* Ris (Anisoptera: Libellulidae). *Zool. Anz.* 254: 15–17.

Chapman, R. F. 1998. The insects. Structure and function, 4th editio. ed. Cambridge University press, New York.

Corbet, P. S. 1999. Dragonflies: Behavior and Ecology of Odonata. 1ª edição. Cornell University Press. 1999.

Daniel, S. H., and R. H. Smith. 1994. Functional anatomy of the egg pore in *Callosobruchus maculatus*: a trade- off between gas- exchange and protective functions? *Physiol. Entomol.* 19: 30–38.

De Marco, P., and D. C. Resende. 2002. Activity patterns and thermoregulation in a tropical dragonfly assemblage. *Odonatologica.* 31: 129–138.

De Marco P., Nogueira D. S., Correa C. C., Vieira T. B., Silva K. D., Pinto N. S., Bichsel D., Hirota V. S. A., Vieira R. R. S., Carneiro M. F., De Oliveira A. A. B., Carvalho P., Bastos R. P., Ilg C, and Oertli P. 2014. Patterns in the organization of Cerrado pond biodiversity in Brazilian pasture landscapes. *Hydrobiologia* 723:87–101

Gaino, E., S. Piersanti, and M. Reborá. 2008. Egg envelope synthesis and chorion modification after oviposition in the dragonfly *Libellula depressa* (Odonata, Libellulidae). *Tissue Cell.* 40: 317–324.

Mendonça F.Z., Bernardy J. V., Oliveira C. E. K., Oliveira P. B. G., De Marco P. 2017. Temperature Effect on the Development of Tropical Dragonfly Eggs. *Neotropical Entomology.*

- Miller, P. L., and A. K. Miller. 1985.** Rates of Oviposition and some aspects of reproductive behaviour in *Tholymis Tillarga* (Fabricius) in Kenya (Anisoptera: Libellulidae). *Odonatologica*. 14: 287–299.
- Miller, P. L. 1987.** Oviposition Behaviour and Eggshell structure in some libellulid dragonflies, with particular reference to *brachythemis lacustris* (Kirby) and *Orthetrum Coerulescens* (Anisoptera). *Odonatologica*. 16: 361–374.
- Sahlén, G. 1994a.** Ultrastructure of the Eggshell Of *Aeshna Juncea* (Odonata: Aeshnidae). 23: 345–354.
- Sahlén, G. 1994b.** Ultrastructure of the eggshell and micropylar apparatus in *somatochlora metallica* (Vander L.), *Orthetrum Cancellatum* (L.). *Odonatologica*. 23: 255–269.
- Sahlén, G. 1995a.** Transmission Electron Microscopy of the eggshell in five damselflies (Cygoptera: Coenagrionidae, Megapodagrionidae, Calopterygidae). *Odonatologica*. 24: 311–318.
- Sahlén, G. 1995b.** Eggshell ultrastructure in *Onychogomphus forcipatus unguiculatus* (Vander Linden) (Odonata: Gomphidae). *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 24: 281–286.