

Marina Prado Melchior

Inferências sobre a relação entre atributos
reprodutivos e de defesa em Medusozoa
(Cnidaria)

Inferences on the relationship between
reproductive and defense traits in Medusozoa
(Cnidaria)

São Paulo

2022

Resumo

Medusozoa é um subfilo de Cnidaria, com um ciclo de vida que inclui a fase de pólipo (geralmente sésil e bentônica) e a de medusa (geralmente livre natante). As quatro classes de Medusozoa (Cubozoa, Hydrozoa, Scyphozoa, Staurozoa) apresentam uma grande variedade de atributos reprodutivos (e.g., tamanho do ovócito, tipo de fertilização, sistema sexual, reprodução assexuada, estratégia reprodutiva) e de atributos de defesa (e.g., complexidade do cnidoma, exoesqueleto, estruturas especializadas para defesa) que, frequentemente, estão funcionalmente associados. Nesse cenário é esperada a ocorrência de “*trade offs*” entre os sistemas de defesa e reprodução, mas inexistem estudos desta correlação em um contexto evolutivo para Cnidaria. O objetivo deste estudo foi investigar as relações entre estes sistemas em uma abordagem quantificável, colaborando assim para compreender aspectos ainda obscuros da evolução do grupo. As análises foram realizadas para 94 espécies de Medusozoa, baseada em cinco atributos de reprodução e três atributos de defesa, e com inferências baseadas em 30 correlações. Os resultados das análises mostraram sete correlações estatisticamente significativas entre atributos de defesa e reprodução, sendo seis destas referentes a características pertencentes a espécies da ordem Leptothecata (Hydrozoa), e uma referente ao subfilo Medusozoa como um todo. Os dados demonstram que o surgimento de um perissarco quitinoso recoberto hidrantes/gonozoides foi fundamental na diversificação de Leptothecata, afetando diretamente a evolução de atributos (*traits*) relacionados às reproduções assexuada (como na formação de colônias) e sexuada (nas estruturas relacionadas a esta e na determinação do sistema sexual destes animais), e mesmo em relação a outros atributos de defesa. A existência de cnidomas com diferentes níveis de complexidade (no estudo definidos pelos seus ICCs, *i.e.*, Índice de Complexidade do Cnidoma) também influencia no tamanho dos ovócitos em Medusozoa, representando um provável “*trade off*” em que a alocação energética na produção de tipos variados de nematocistos, e morfologicamente mais díspares, se relaciona à produção de ovócitos menores, e vice versa.

Abstract

Medusozoa is a subphylum of Cnidaria with a life cycle that includes the polyp (usually sessile and benthic) and medusa (usually free swimming) stages. The four classes of Medusozoa (Cubozoa, Hydrozoa, Scyphozoa, Staurozoa) exhibit a wide variety of reproductive traits (e.g., ovocyte size, fertilization type, sexual system, asexual reproduction, reproductive strategy) and defense traits (e.g., cnidome complexity, exoskeleton, specialized defense structures) that are often functionally associated. In this scenario, trade offs between defense and reproduction systems are expected, but there are no studies of this correlation in an evolutionary context for Cnidaria. The objective of this study was to investigate the relationships between these systems in a quantifiable approach, thus helping to understand aspects that are still obscure in the evolution of the group. We performed analyses for 94 species of Medusozoa based on five reproductive traits and three defense traits, and with inferences based on 30 correlations. The results of the analyses showed seven statistically significant correlations between defense and reproduction traits, six of which refer to characteristics belonging to species of the order Leptothecata (Hydrozoa), and one to the subphylum Medusozoa. The data demonstrates that the emergence of a chitinous perisarc covering hydrants/gonozooids was fundamental in the diversification of Leptothecata, directly affecting the evolution of traits related to asexual reproduction (as in colony formation) and sexual reproduction (in structures related to this and in the determination of the sexual system of these animals), and even in relation to other defense traits. The existence of cnidomes with different levels of complexity (in the study defined by their ICCs, *i.e.*, Cnidoma Complexity Index) also influences the size of oocytes in Medusozoa, representing a probable trade off in which energy allocation in the production of different types of nematocysts, and morphologically more different, is related to the production of smaller oocytes, and vice versa.

Introdução

O filo Cnidaria inclui animais popularmente conhecidos como as anêmonas-do-mar, águas-vivas, corais, hidras e caravelas-do-mar, entre outros. O clado é uma das linhagens mais antigas dentre os animais, com registros fósseis de 543 Ma e estimativas de datações moleculares entre 900-600 Ma (Okamura & Gruhl, 2021; Morales-Guerrero, 2021). Essa origem precoce torna o grupo chave para a compreensão da origem e evolução de Metazoa como um todo, inclusive por sua eventual relação de grupo irmão com Bilateria (Ryan *et al.*, 2013; Simion *et al.*, 2017; Whelan *et al.*, 2017). Além disso, Cnidaria apresenta uma série de novidades evolutivas como, por exemplo, ser o clado mais antigo a possuir todas as suas espécies peçonhentas (Jaimes-Becerra *et al.*, 2017), ou por apresentar em sua evolução aspectos complexos de reprodução que podem incluir corte e transferência indireta de espermatozoides (Campbell, 1974; Lewis & Long, 2005; García-Rodríguez *et al.*, 2018), expressão de ciclos de vida altamente diversos (Miranda *et al.*, 2010; Sanders & Cartwright, 2015) e desenvolvimento de estruturas visuais complexas (Wehner, 2005; Nilsson *et al.*, 2005).

Cnidaria inclui três clados, a saber, Anthozoa, Medusozoa e Endocnidozoa, distintos por seus ciclos de vida que podem ou não incluir medusas (*viz.*, Medusozoa), por hábitos de vida que incluem em o endoparasitismo (*viz.*, Endocnidozoa), ou por caracteres moleculares próprios (*e.g.*, o DNA mitocondrial linear em Medusozoa), dentre outras características morfológicas, histológicas e moleculares. O modelo adotado neste estudo, Medusozoa, inclui as classes Cubozoa, Hydrozoa, Scyphozoa e Staurozoa (Marques & Collins, 2004). Embora Cnidaria e Medusozoa sejam bem corroborados como monofiléticos em inferências filogenéticas realizadas a partir de dados de morfologia, ciclo de vida, e diversos marcadores moleculares, as relações entre as suas classes e subgrupos ainda é discutida (Marques & Collins, 2004; Collins *et al.*, 2006; Van Iten *et al.*, 2014; Fook & Siddall, 2015; Zapata *et al.*, 2015; Mendoza-Becerril *et al.*, 2016, 2017; Kayal *et al.*, 2018).

Uma das autapomorfias de Cnidaria, e certamente a mais particular, são organelas denominadas cnidas (Marques & Collins, 2004; Fautin, 2009; Van Iten *et al.*, 2014). O cnidoma desses animais é definido como o conjunto das informações

sobre as cnidas que inclui seus tipos, dimensões e a distribuição pelo corpo do animal (Weill, 1934; Östman, 2000). As cnidas estão no âmago do estudo dos cnidários, desde os aspectos mais fundamentais de ciência básica (e.g., usadas como critério taxonômico; Fautin, 2009) até suas aplicações (e.g., no estudo de envenenamentos; Burnett, 2001; Burke, 2002), passando por sua relação com ciclo de vida e comportamento (e.g., Mariscal *et al.*, 1976; Fautin, 2009), ecologia das interações (e.g., Baxter *et al.*, 2011; Killi & Mariottini, 2018), ferramentas de engenharia ecossistêmica (e.g., Hoepner *et al.*, 2019) e toxinas e bioprospecção (e.g., Mariottini, 2014; Mariottini & Pane, 2014; Miyazato *et al.*, 2016), entre outros.

Há três categorias de cnidas, a saber, espirocistos, pticocistos e nematocistos (Fautin, 2009). O disparo das cnidas pode ser acionado por meio de estímulos químicos e/ou físicos e, uma vez disparado, ocorre a eversão de um túbulo que pode ou não ser aberto em sua extremidade e, se aberto, ocorre a liberação do conteúdo capsular, composto por uma secreção proteica com funções diversas (Fautin, 2009; Jaimes-Becerra *et al.*, 2017). A secreção de espirocistos, presentes em Anthozoa Hexacorallia, tem uma função adesiva que auxilia na captura de presas, enquanto a de pticocistos, presentes em Anthozoa Ceriantharia, tem a função de permitir a construção de tubos nos quais o animal vive (Mariscal *et al.*, 1976; Fautin, 2009). A última classe de cnidas, os nematocistos, são universais em Cnidaria – todas as ~11 mil espécies de vida livre e as ~3 mil espécies parasitas do grupo têm nematocistos (Morandini *et al.*, 2016; Jaimes-Becerra *et al.*, 2017; Shpirer *et al.*, 2018). Nematocistos possuem uma grande riqueza de formas, com até 14 tipos (Östman, 2000) com morfologias variáveis com relação ao túbulo, ornamentação por espinhos e estiletos, abertura na extremidade, entre outras características, e que atuam na produção, acúmulo e inoculação de secreções tóxicas complexas (Mariscal, 1974; Jaimes-Becerra *et al.*, 2017; Shpirer *et al.*, 2018). Essas organelas são, de fato, as estruturas de inoculação de veneno mais antigas do reino animal, com uma história de diversificação evolutiva de, no mínimo, 600 milhões de anos (Jaimes-Becerra *et al.*, 2017). Em razão dessa diversificação, a morfologia e os venenos dos nematocistos assumiram funções essenciais na predação, na defesa, e mesmo na comunicação em cnidários (Mariscal, 1974; Fautin, 2009). Neste cenário, fica evidente que os nematocistos foram e são de fundamental importância para a compreensão sobre a evolução, a biologia e a ecologia de Cnidaria.

Os nematocistos, e seus compostos tóxicos, compõem um complexo sistema de proteção em cnidários, que se relaciona a uma gama de estruturas especializadas, associadas ou derivadas dos nematocistos, como colônias polimórficas com zooides especializados na defesa e/ou captura de alimentos (tentáculos, gastrozooides, dactilozooides, nematozooides, tentaculozooides, espiralzooides) e estruturas morfológicas singulares portadoras de agrupamentos de nematocistos, como nematóforos, cnidóforos, dactilóforos, etc. (Millard, 1975). Por outro lado, nematocistos não são os únicos atributos (*'traits'*) que apresentam a função de defesa. Há também uma série de estruturas e estratégias de defesa com origem independente dos nematocistos, como formações exoesqueléticas em diversos níveis de desenvolvimento, as quais oferecem proteção física a hidrantes (e.g., coralitos, hidrotecas, pseudoidrotecas, perissarco, exossarco, espinhos) (Mendoza-Becerril, 2016), estruturas reprodutivas (e.g., gonotecas, copínias, filactocarpos), ou mesmo as próprias estruturas que possuem nematocistos (e.g., nematotecas) (Millard, 1975), além de processos caracterizados pela ação de bioativos do metabolismo secundário, que também atuam na defesa (Stachowicz & Lindquist, 2000). Apesar de possuir um sistema de defesa altamente diverso, complexo e essencial em sua evolução, percebe-se que estudos evolutivos comparativos sobre esses componentes, de natureza morfológica ou tóxica, são raros (e.g., Mendoza-Becerril *et al.*, 2016; Damian-Serrano *et al.*, 2021a), e sua associação com a diversificação dos clados de Cnidaria, ou mesmo sua integração com outros sistemas essenciais, são inexistentes.

O sistema reprodutivo é igualmente altamente variado e essencial na evolução de Cnidaria. As espécies de Medusozoa possuem um ciclo de vida denominado como metagenético, em que ocorrem duas formas principais, o pólipo (geralmente bentônico e aderido ao substrato) e a medusa (geralmente planctônica e de vida livre) (Marques & Collins, 2004). Embora variações sejam comuns em diversos grupos de Medusozoa, seu ciclo de vida básico consiste, de uma forma geral, no assentamento de uma larva plânula; seu desenvolvimento em um pólipo inicial que pode reproduzir-se assexuadamente por brotamento, gerando colônias, ou permanecer solitário; e no surgimento de medusas por diferenciação apical (Staurozoa) (Kikinger & Salvini-Plawen, 1995; Miranda *et al.*, 2010), por metamorfose do pólipo (Cubozoa), por brotamento lateral por meio de uma estrutura denominada entocóidio (Hydrozoa), ou por diferenciação e segmentação apical por

meio de um processo denominado estrobilização, que origina os estágios intermediários de éfiras (Scyphozoa) (Marques & Collins, 2004). Independentemente de sua origem, as medusas podem ser desde diminutas até de grandes dimensões, fixas ou livre-natantes, sendo geralmente dioicas e produzindo os gametas envolvidos na reprodução sexuada que, após fecundação, resultará na formação de um zigoto que se desenvolverá em novas larvas plânulas, reiniciando o ciclo (Morandini et al., 2016).

A grande diversidade de ciclos de vida das espécies de Medusozoa (Collins, 2002; Marques & Collins, 2004) é acompanhada de uma diversidade morfológica e estratégica dos atributos reprodutivos. Há variações na quantidade e dimensão de ovos, comportamento de fertilização interna ou externa, retenção / incubação de zigotos, fertilização ocorrendo no bentos ou na coluna d'água, sistema sexual dioico ou monoico, possibilidade de reprodução assexuada (brotamento, entre outras), e diferentes zooides responsáveis pela reprodução sexuada (e.g., gonóforo ou medusa) (Fautin, 2002). A expressão de todos esses atributos, que tem evidentemente uma origem evolutiva, é variável nos diferentes clados de Medusozoa, assim como há homoplasias relacionadas a variáveis ambientais específicas, indicando componentes macroecológicos (Fernandez *et al.*, 2020). Esses atributos, por exemplo, estão diretamente associados à oferta de recursos no ambiente, a variações ambientais ou a características da própria espécie (Schiariti *et al.*, 2014).

A evolução da organização dos diferentes sistemas relacionada às necessidades fisiológicas básicas da história de vida, como as atividades de alimentação, de proteção e de reprodução, compõe um equilíbrio complexo envolvendo vários aspectos básicos da vida de um indivíduo. O investimento energético no incremento de um sistema pode ocorrer com prejuízo de outros, ao menos em um cenário de recursos limitados, havendo uma evolução orquestrada de suas relações intrínsecas que demonstra a sinergia entre os sistemas envolvidos ('*trade offs*') (Stearns, 1992). Assim, duas atividades fisiológicas básicas dos seres vivos, como a defesa e a reprodução, não são, evidentemente, totalmente independentes, por integrarem-se nesse delicado equilíbrio que tem por base o mesmo indivíduo e é resultante de seleção. Identificar e entender os padrões de '*trade offs*' entre os sistemas auxilia na elucidação de forças evolutivas que não agem de forma extrínseca, como as interferências do meio ambiente, mas sim de

maneira intrínseca, e que se refletem nos atributos que observamos em cada espécie.

Nesse contexto, observa-se que estruturas de proteção estão frequentemente associadas às partes reprodutivas em cnidários (Kimura *et al.*, 1972). Em colônias de hidroides leptotecados, por exemplo, elementos gonadais são distintamente recobertos por exoesqueleto na forma de gonotecas que, por sua vez, podem estar agrupadas em estruturas mais complexas e associadas às nematotecas, tais como córbulas, filactocarpos, copínias, marsúpios e bolsas incubadoras (Millard, 1975). Em alguns casos, há um cnidoma particular relacionado às estruturas reprodutivas, como por exemplo em espermatóforos (García-Rodríguez *et al.*, 2018) ou mesmo individualmente em ovócitos (Piraino, 1992).

A despeito dessa associação frequente entre reprodução e defesa em cnidários, não há estudos integrando os aspectos da evolução desses sistemas em um mesmo cenário e incluindo testes de hipóteses de correlação. Como exemplo, é sabido que as cnidas têm apenas uma descarga em sua existência e, por isso, há uma alta demanda energética empregada em sua renovação, que está estimada na substituição diária de até 25% das células produtoras / portadoras de cnidas (Bode & Flick 1976; Fautin, 2009). É evidente que este gasto energético, considerado no todo do metabolismo, coexiste com o gasto dispendido em outras formas de defesa, como a produção de exoesqueleto e de zooides especializados, e que ainda está inter-relacionado a outros aspectos ecofisiológicos, como por exemplo o ciclo reprodutivo da espécie (*e.g.*, Kimura *et al.*, 1972). A coexistência desses sistemas em um mesmo animal está relacionada à sua história evolutiva, ao ambiente que habita, e desdobra-se em especializações, repartições ou sinergias entre esses sistemas. A investigação de padrões de associação (*e.g.*, “*trade off*” ou co-especialização) entre atributos de defesa e atributos reprodutivos, no nível do ciclo de vida das espécies ou no nível da morfologia de um indivíduo, permite a compreensão de caracteres-chave da história evolutiva dos cnidários (McFadden *et al.*, 2001).

O objetivo deste estudo é investigar a existência de correlações evolutivas entre os atributos de reprodução e de defesa em Medusozoa. A identificação de padrões concatenados entre os processos de reprodução e proteção ilumina uma compreensão evolutiva nas dimensões filogenética e ecológica de Medusozoa, assim como de Cnidaria como um todo.

Considerações finais

As análises de nosso estudo apontaram que o surgimento de uma estrutura externa protetiva recobrando hidrozoários (*i.e.*, hidrotecas e gonotecas), sinapomorfia de Leptothecata, foi fundamental para a evolução e diversificação do grupo (*cf.*, Leclère *et al.*, 2009; Cartwright & Nawrocki, 2010; Maronna *et al.*, 2016; Mendoza-Becerril *et al.*, 2016, 2018). Documentamos também a correlação entre a evolução de exoesqueletos e atributos reprodutivos (*viz.*, reprodução assexuada, estratégia reprodutiva e sistema sexual) e, possivelmente, com outros atributos de defesa (*i.e.*, estruturas especializadas para defesa).

Outra correlação encontrada nas análises foi o aparente "*trade off*", em Medusozoa, entre a produção de cnidomas com diferentes níveis de complexidade e o tamanho de ovócitos. Espécies com maior riqueza de tipos de nematocistos, e com estes mais diferentes entre si (*i.e.*, Índice de Complexidade de Cnidoma 'ICC' equivalente a médio ou alto), produzem ovócitos menores, enquanto espécies com menor número de tipos de nematocistos e com estes mais semelhantes entre si (*i.e.*, ICC baixo) produzem ovócitos maiores.

A diversidade de Medusozoa está expressa na forma de atributos da morfologia, dos ciclos de vida e comportamentos, da toxicologia, etc. Inferir como esses atributos reagem a componentes extrínsecos (*i.e.*, ambiente) e a intrínsecos (*i.e.*, "*trade offs*" entre os sistemas) ajuda a compreender parte da história evolutiva do grupo. Os testes quantitativos deste estudo, inéditos em abordagens para o grupo, representam novas possibilidades de investigação para Cnidaria. Igualmente, o Índice de Complexidade do Cnidoma (ICC) (Anexo I) compõe uma ferramenta inédita que complementa a área de investigação sobre cnidomas, com derivações nos campos da toxicologia e da ecologia, abrindo uma oportunidade para desvelar novos padrões evolutivos para o filo.