

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E RECURSOS NATURAIS

TATIENE MENDONÇA ZENNI

HÁ RELAÇÃO ENTRE PERSONALIDADE E COGNIÇÃO
EM LARVAS DE ODONATA?

SÃO CARLOS -SP
2019

TATIENE MENDONÇA ZENNI

HÁ RELAÇÃO ENTRE PERSONALIDADE E COGNIÇÃO EM LARVAS DE ODONATA?

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais da Universidade Federal de São Carlos, para obtenção do título de mestre em Ecologia.

Orientador: Rhainer Guillermo
Nascimento Ferreira

São Carlos-SP
2019

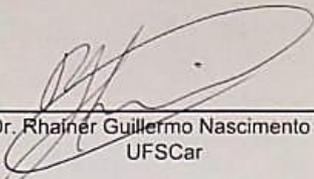


UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais

Folha de Aprovação

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Tatiene Mendonça Zenni, realizada em 29/05/2019:



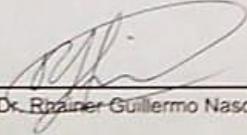
Prof. Dr. Rhaíner Guillermo Nascimento Ferreira
UFSCar



Profa. Dra. Maria da Graça Gama Melão
UFSCar

Prof. Dr. Marcos Carneiro Novaes
UEG

Certifico que a defesa realizou-se com a participação à distância do(s) membro(s) Marcos Carneiro Novaes e, depois das arguições e deliberações realizadas, o(s) participante(s) à distância está(ão) de acordo com o conteúdo do parecer da banca examinadora redigido neste relatório de defesa.



Prof. Dr. Rhaíner Guillermo Nascimento Ferreira

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente aos seres de Luz, a Deus e/ou Deusa que é a expressão desse Universo contendo todas as suas energias que nos regem física e quimicamente.

Agradeço a minha família que é meu guia ético e exemplo de relação social, sem o qual não poderia ir para longe na segurança de um lar para retornar, pois sempre regula minha bússola interna e acalenta meu coração de filha e irmã.

Agradeço a todas as perguntas de infância que nos fazem expandir a mente para horizontes inexplorados, impulsionando passos ingênuos para o além, permitindo descobrir que há muito mais que um simples “por que sim”.

Agradeço a todas as pessoas que desacreditaram de mim, não só como mulher, mas como cientista, pois essas pessoas me permitem crescer em humildade e fortalecer meu espírito.

Agradeço meu orientador, pesquisador Dr. Rhainer Guillermo Nascimento pela orientação, por entregar em minhas mãos uma pesquisa pioneira, por abrir as portas do seu laboratório, por toda a paciências que um ser em formação como eu exige, por mostrar o meu caminho de pesquisadora, por me trazer tantos obstáculos que me fortaleceram, e principalmente por amar o que faz.

Agradeço ao programa de pós-graduação PPGERN, a todos os técnicos e professores, que direta ou indiretamente contribuíram com a execução e finalização desta etapa.

Agradeço à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo fomento à minha pesquisa através da bolsa, sem o qual inviabilizaria minha permanência no programa de pós-graduação.

Agradeço a pesquisadora Dr^a. Ellouise Leadbeater, por suas considerações na fase de fundamentação do trabalho.

Agradeço a pesquisadora e atual mestranda Gabrielle Pestana, por visualizar essa pesquisa ainda em fase de graduação e permitir que eu pudesse executar, ajudando na fase experimental e dos inúmeros testes pilotos.

Agradeço ao meu amigo, Pesquisador e atual doutorando Guilherme Gonzaga da Silva, que não efetivamente ajudou na pesquisa, porém me ajudou incentivando e sempre que as situações ficavam tensas me ajudava com boas conversas, um amigo que fiz nessa etapa que levarei comigo.

Agradeço a todos os pesquisadores do Laboratório de Estudos Ecológicos em Etologia e Evolução - LESTES, que continuem perseverantes e fortes para vencer os obstáculos de

realizar pesquisa em um país atualmente governado por déspotas e fanáticos que inclinam a população para uma alienação mental e promovem uma ‘crucificação’ da ciência e dos nossos tão valiosos recursos naturais, que possamos ser a resistência desse povo que tende a repetir erros históricos.

Agradeço a Pesquisadora atual mestranda Amanda Zanesco Crivelaro, por ser essa pessoa incrível, sem a qual eu não conseguiria finalizar o mestrado, sendo mais que uma colaboradora foi meu braço direito e me auxiliou em todas as fases, principalmente nos choros, crises de ansiedade, estresse, depressão, nas risadas e no todo, uma pessoa que carregou desde a graduação que se tornou muito mais que uma amiga é parte da minha família.

Agradeço a todos os meus antigos e queridos amigos que durante esses dois anos, mesmo longe me ajudaram e foram importantes para o meu crescimento: Simone, Lorena, Dona Lurdes, Jack, Suelem, Kellen, Sergio Paulo, Ted, Patricia. Agradeço ao Thiago Dolacio por me mostrar resiliência de quem sete vezes cai, mas se levanta oito, pois quem você foi agora não é mais.

Agradeço ao Aikido por incontáveis ensinamentos, que me permitem vencer a mim mesma.

Agradeço às minhas duas casas em São Carlos, República Gaiola e República Pulero, me acolheram, me aturaram, me ajudaram, me deram corote, me deram colo, um lar, choraram comigo e riram comigo. Amo vocês.

Dedicatória

Dedico esta pesquisa em memória a todas as mulheres julgadas, queimadas e assassinadas.

Pelo simples fato de conhecerem as ervas,
a natureza e seus recursos.

Em uma ERA fomos mortas por acusação de bruxaria e em outra ERA nos tornamos cientistas

RESUMO

Recentemente, os pesquisadores concentraram sua atenção na relação entre cognição e personalidade. Devido à sua impressionante diversidade de padrões de comportamento, os insetos têm se mostrado um objeto interessante para abordar a evolução entre a cognição animal e a personalidade. Embora alguns estudos sugeriram que os odonatos possam ter personalidades e aprender, nenhum estudo realizou procedimentos experimentais usando métodos de condicionamento. Portanto, aqui nós testamos se as larvas da libélula são capazes de aprender em um experimento de condicionamento absoluto com estímulos visuais (vermelho e azul). Além disso, testamos se o aprendizado dependia da personalidade, medida como a atividade em testes de risco predatório. Os resultados sugerem que as larvas aprendem a associar um estímulo azul não condicionado a uma presa e que esse processo cognitivo depende da personalidade. Larvas mais ativas foram mais rápidas e mostraram respostas mais corretas em relação ao estímulo positivo. Concluimos que as libélulas podem se tornar um bom modelo para o estudo da personalidade e da cognição de insetos, e futuros estudos devem se esforçar em estudar como a cognição e a personalidade de insetos afetam a sucesso reprodutivo em diferentes ambientes.

Palavras-chave: Síndrome comportamental, Aeshnidae, Etologia, Ecologia comportamental, Psicobiologia.

ABSTRACT

Recently, researchers have focused their attention to the relationship between cognition and personality. Due to their striking diversity of behavioral patterns, insects have been proven an interesting object to address the evolution of between animal cognition and personality. Although some studies suggest that odonates may have personalities and learn, no study made experimental procedures using conditioning methods. Therefore, here we addressed whether dragonfly larvae are able to learn in an absolute conditioning experiment with visual stimuli (red and blue). Moreover, we tested whether learning was dependent on personality, measured as activity in predatory risk tests. The results suggest that larvae learn to associate a blue unconditioned stimulus with prey, and that this cognitive process is dependent on personality. More active larvae were faster-learners and showed more correct responses towards the positive stimulus. We conclude that dragonflies may become a good model for studying insect personality and cognition, and, future studies should endeavor on how dragonfly cognition and personality affect fitness in different environments.

Keyword: Behavioral syndromes, Aeshnidae, Ethology, Behavioral ecology, Psychobiology.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	REFERENCIAL TEÓRICO	3
2.1	ODONATA	3
2.2	COGNIÇÃO, PERSONALIDADE E SÍNDROMES COMPORTAMENTAIS EM INSETOS	3
2.3	COGNIÇÃO VISUAL EM ODONATAS	4
2.4	CONDICIONAMENTO CLÁSSICO	5
2.5	SIGNIFICÂNCIA	6
3	MATERIAL E MÉTODO	8
3.1	COLETA E MANUTENÇÃO	8
3.2	EXPERIMENTO 1 – PERSONALIDADE	9
3.3	EXPERIMENTO 2 – COGNIÇÃO	10
3.3.1	Treinamento	10
3.3.2	Condicionamento Absoluto	11
3.4	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	11
4	RESULTADOS	13
5	DISCUSSÃO	16
6	REFERÊNCIAS	18

1 INTRODUÇÃO

Os insetos são bons modelos experimentais para entender processos cognitivos (Haberkern e Jayaraman 2016). Em estudos de como os odonatos interceptam as presas (Mischiati et al. 2015), como as moscas escapam do predador (Card e Dickinson 2008), ou no estudo da capacidade numérica em abelhas (Skorupski et al. 2018), os insetos têm mostrado insights sobre o desenvolvimento da cognição. Há cada vez mais evidências de que o cérebro dos insetos depende de alguns dos mesmos mecanismos que os mamíferos para fundamentar a cognição (Haberkern & Jaramayran 2016). Assim, estudos sobre cérebro de insetos e os consequentes processos cognitivos de aprendizagem e condicionamento podem elucidar várias questões proximais e distais do comportamento animal, incluindo os humanos.

Desde os experimentos de Pavlov (1906) sobre condicionamento animal no início do século XX, estão sendo analisadas a relação da cognição com a diversidade neural, também chamada de personalidade (padrão de comportamento), que consiste na expressão comportamental das atividades neurais e sua diversidade (revisado por Dougherty e Guillette 2018). Estudos sobre a personalidade são essenciais para a compreensão dos processos ecológicos e evolutivos que atuam sobre a seleção de diferenças comportamentais entre co-específicos.

Embora odonatos sejam conhecidos como predadores notáveis (Gonzalez-Bellido et al. 2013) e um dos insetos mais antigos da Terra, os estudos sobre aquisição de informações e personalidade raramente são explorados. Como poucos exemplos, as larvas de *Enallagma* (Zygoptera, Coenagrionidae) aprendem a identificar o risco de predação usando sinais químicos de predadores (Chivers et al. 1996, Wisenden et al. 1997). As larvas de *Anax imperator* (Anisoptera: Aeshnidae) aprendem a selecionar preferencialmente as presas quando continuamente expostas aos mesmos itens de presa (Blois & Cloarec 1985). Em *Mnesarete pudica* e *Hetaerina longipes* (Zygoptera: Calopterygidae), as competições territoriais envolvem displays aéreos complexos, onde os machos avaliam a coloração das asas dos rivais, decidindo se ocorrerá ou não a disputa (Guillermo-Ferreira et al. 2015, Pestana et al. 2018). Por fim, síndromes comportamentais, ou personalidades, têm sido descritas para os odonatos como um preditor do *fitness* (Brodin 2008).

A compreensão dos mecanismos por trás da aprendizagem desses insetos pode fornecer insights sobre como eles identificam e localizam espacialmente suas presas (Barbosa & Castellanos 2005). Como o comportamento predatório geralmente envolve aprendizado e tomada de decisão (Sillar et al. 2016), diferentes estratégias de aprendizado podem reduzir os ataques malsucedidos. Esses ataques implicam em grandes custos de energia e revelam a

localização do predador, o que reduz as chances de uma segunda tentativa bem-sucedida. Portanto, os predadores devem desenvolver mecanismos comportamentais para se adaptarem ao comportamento das presas e formas de forragear eficientemente.

A capacidade de distinguir diferentes padrões cromáticos é essencial para a localização das presas, assim como para a identificação destas. Tal habilidade foi evidenciada pela primeira vez para insetos por Von Frisch (1914), que mostrou que as abelhas eram capazes de ver cores. O estudo da aprendizagem visual é um dos vários ramos da neuroetologia, que visa compreender como os mecanismos visuais estão relacionados aos processos cognitivos de aprendizagem (Sillar et al. 2016). Aprendizagem visual refere-se à capacidade de um indivíduo de adquirir informações com base na experiência com estímulos visuais para que as respostas possam ser produzidas quando eles testemunharem esses estímulos novamente (Sillar et al. 2016). Vários grupos de Insecta dependem da visão para seu sucesso reprodutivo. Por exemplo, as abelhas precisam dessa conexão entre visão e aprendizado para explorar melhor os recursos florais (Spaethe et al. 2001); a visão binocular em Mantodea é crucial para o sucesso da captura de presas (Nguyen & Maxwell 2008), e libélulas adultas têm uma área no topo do olho composto, chamada zona dorsal aguda, que auxilia na detecção de presas voadoras (Olberg et al. 2007). Durante as caças aéreas, as libélulas giram a cabeça para segurar a presa na "visão" da zona dorsal aguda (Olberg et al. 2007).

Embora estudos recentes tenham mostrado que insetos são capazes de associar padrões visuais (Stach et al. 2004; Avarguès-Weber et al. 2011) a fatores condicionantes (positivos ou aversivos) (Unoki et al. 2006; Avarguès-Weber et al. 2011; Camlitepe & Aksoy 2010), pelo menos até onde sabemos, nenhum estudo abordou o aprendizado visual em Odonata usando qualquer método de condicionamento. Além disso, a literatura sugere que deve haver uma relação entre a personalidade e a aprendizagem (Griffin & Healy 2015). Aqui, consideramos que as libélulas são bons modelos para testar se existe uma associação clara entre aprendizagem, baseada em evidências de capacidade de aprendizagem e personalidade.

2 Referencial Teórico

2.1 ODONATA

O grupo Odonata possui uma diversidade de 6 mil espécies divididas em Anisoptera e Zygoptera – libélulas e donzelinhas (Grimaldi & Engel 2005, Gullan & Cranston 2014, Suhling et al. 2015). Estes insetos aquáticos possuem um papel importante como predadores de topo, reguladores de comunidades de macroinvertebrados aquáticos (Tripplehorn & Johnson 2005). Uma vez que são conhecidas as especificidades de habitat (Oertli 2008, Suhling et al. 2015) e que parte do seu desenvolvimento se dá na água (Ramírez 2010, Suhling et al. 2015), odonatos são conhecidos como bioindicadores aquáticos (Oertli 2008). Do mesmo modo, as larvas aquáticas são sensíveis a alterações ambientais e suas populações têm sido reduzidas pelos impactos antropogênicos (Suhling et al. 2015, Simaika & Samways 2011).

A maior parte da vida de uma libélula se passa debaixo d'água, na forma de larva. Após completarem os instares larvais, os indivíduos caminham para fora d'água e ficam apoiados em galhos de plantas ou em pedras para realizarem a metamorfose que dura cerca de 30-60 min. Logo após, o indivíduo adulto precisa de um tempo para que suas asas sequem e seu corpo adquira rigidez, para só então saírem voando (Tripplehorn & Johnson 2005). As larvas de Aeshnidae são as mais conspícuas, ágeis e vorazes. São tão grandes que podem se alimentar de girinos ou ainda de pequenos peixes (Tripplehorn & Johnson 2005). A família Aeshnidae é um grupo diverso com uma larga distribuição territorial ao longo do globo (Von Ellenrieder 2002), sua diversidade está distribuída em 51 gêneros com mais ou menos 456 espécies (Dijkstra & May 2013) das maiores libélulas do mundo (Allen & Tobin 1985).

Libélulas são excelentes predadores, com uma taxa de sucesso de 97% em suas agressões (Gonzalez-Bellido et al. 2013). Entretanto, as taxas de atividade e os padrões de ataque são aparentemente determinadas pela personalidade do predador, influenciando na dinâmica trófica (Start & Gilbert 2017). Durante a fase larval, os indivíduos precisam muitas vezes caçar ativamente ou adotar uma estratégia de senta-espera, o que resulta em personalidades diferentes entre as larvas e, inclusive, entre os estágios larvais e adultos (Gyuris & Barta 2012).

2.2 COGNIÇÃO, PERSONALIDADE E SÍNDROMES COMPORTAMENTAIS EM INSETOS

Muitos estudos têm mostrado que os animais apresentam uma diversa gama de respostas comportamentais nos mais diferentes níveis da hierarquia biológica (Irwin et al.

2001). Os insetos, por sua vez, são bons modelos experimentais para entender processos cognitivos (Haberkern e Jayaraman 2016), já que são animais que podem viver em sociedade e precisam aprender a voltar para o ninho ou ensinar o caminho para encontrar alimento aos outros indivíduos (Avarguès-Weber et al. 2011, Srinivasan 2010).

Recentemente, os insetos têm se mostrado ótimos modelos para estudos sobre o desenvolvimento da cognição. Por exemplo, moscas armazenam uma referência espacial após exposição prolongada, e quando a referência espacial desaparece, ela é capaz de recuperar essa informação (Neuser et al. 2008). Entretanto, estudos recentes também sugerem que a capacidade cognitiva e de memória são influenciadas pela personalidade do animal. Personalidade pode ser definida como traços comportamentais que afetam o comportamento em diversas situações (Biro & Stamps 2008) e podem ser duradouros (Sih et al. 2004, Réale et al. 2007). Algumas variações na personalidade podem acabar surgindo em indivíduos da mesma população por influência do meio (Dochtermann et al. 2014). Nos insetos, temos como exemplos pesquisas realizadas com libélulas, mostrando a indução da mortalidade do predador em relação ao tamanho da larva de libélula (Brodin & Johansson 2004), e com mariposas, mostrando quais as implicações de ser um indivíduo mais móvel (Gu et al. 2006). No mesmo contexto, síndromes comportamentais são um conjunto de comportamentos realizados por um indivíduo que se repete em diferentes contextos ambientais e temporais (Sih et al. 2004). Uma síndrome pode ser subdividida, por exemplo, ainda em tipos comportamentais, fazendo com o que um indivíduo possa ser classificado como *shy* (indivíduos menos corajosos) ou *bold* (indivíduos mais corajosos). Essas síndromes, por exemplo, podem influenciar no *fitness* do animal, como libélulas do gênero *Lestes* (Brodin 2008).

2.3 COGNIÇÃO VISUAL EM ODONATA

Os insetos possuem olhos compostos, e estes são formados por inúmeros omatídeos, variando conforme o tipo de vida que o inseto possui (Briscoe & Chittka 2001, Bybee et al. 2012). Nas libélulas, esse número pode chegar à aproximadamente 30 mil omatídeos (Kaya et al. 2016, Warrant 2016, Sviderskii et al. 2014). Segundo Briscoe & Chittka (2001), quase todos os insetos usam entre 1-2 cromóforos: A1 e A3. Sendo o cromóforo A1 mais utilizado e o cromóforo A3 surgindo nos insetos no fim do período Cretáceo (Seki & Vogt 1998). Há grande quantidade de variabilidade de cromóforo A1 e A3, indicando um ajuste espectral, uma estratégia utilizada pela maioria das espécies da ordem Odonata (Briscoe & Chittka 2001).

Esse ajuste, quando reconstituído dentro dos fotorreceptores - chamados opsinas, indica ser uma estratégia utilizada para ter um ajuste espectral para o receptor vermelho (λ_{max}), indicando que a maioria das espécies da ordem conseguem ver a cor vermelha (Autrum & Kolb 1968). Muitas libélulas possuem omatídeos maiores na metade dorsal dos olhos e facetas menores na metade ventral, assim, possuem receptores UV e violeta na parte dorsal e são sensíveis ao azul e verde na parte ventral (Briscoe & Chikita 2001), além possuírem opsinas de comprimentos de onda maiores, como o vermelho (Goldsmith & Bernard 1974). Embora estudos sobre a visão em Odonata sejam amplos e recentes, pouco se sabe sobre a tomada de decisão ou comportamentos associados a visão em diferentes comprimentos de onda. O estudo desta cognição visual pode elucidar como sistemas neurais relativamente simples respondem a estímulos visuais dos mais diversos, de forma a moldar o comportamento dos animais. Deste modo, estudos sobre os processos cognitivos de aprendizado relacionados à visão em cores de odonatos pode trazer resultados importantes sobre a evolução do comportamento de predação em insetos, assim como implicações para a ecologia de predadores.

2.4 CONDICIONAMENTO CLÁSSICO

Para a melhor compreensão dos processos cognitivos em insetos, principalmente relacionados à visão, são necessários estudos básicos utilizando metodologias de condicionamento. Desde os experimentos de condicionamento clássico de Ivan Pavlov (1849-1936), abordando os processos psíquicos nos animais (Pavlov 1906), há uma miríade de estudos nesse campo que analisam os reflexos comportamentais (estímulo-resposta). Esses reflexos são uma ação expressada dos funcionamentos básicos do corpo do animal, que se estende desde os sistemas orgânicos (reprodutivos, endócrino, nervoso, muscular, digestivo e respiratório) até expressões emocionais. Ao observar as expressões da plasticidade neural que estão vinculadas aos estímulos - iniciadores ou inibidores de comportamento – é possível analisar os processos cognitivos de aprendizado do animal (Rescorlar & Wagner 1972).

Os estudos de condicionamento animal no início do século XX abriram um campo que possibilitou analisar a relação da cognição com a diversidade neural, também chamada de personalidade (padrão de comportamento), que consiste na expressão comportamental das atividades neurais e sua diversidade (revisado por Dougherty e Guillette 2018). Embora estudos sobre a personalidade sejam essenciais para a compreensão dos processos ecológicos e evolutivos, poucos estudos buscaram relacionar a capacidade de aprendizado dos animais e suas personalidades. Portanto, existe uma lacuna na compreensão de como variações neurais

nos animais criam um substrato para a seleção natural agir e guiar processos ecológicos e evolutivos, nos mais variados contextos ambientais (Dougherty e Guillette 2018).

No presente estudo, buscou-se analisar a relação entre a aprendizagem visual e a personalidade em um inseto predador. A compreensão de como a variação na capacidade cognitiva se relacionado com a personalidade animal em sistemas neurais simples, pode trazer evidências que suportarão estudos com sistemas complexos, por exemplo, mamíferos. A aprendizagem visual ocorre quando um estímulo visual leva à uma determinada situação (Avarguès-Weber et al. 2011), ou seja, um estímulo determinado (e.g., cor) pode fazer com que o animal adote certo comportamento. Este tipo de aprendizagem se chama "aprendizagem elementar" (Avarguès-Weber et al. 2011), e que liga o estímulo a uma recompensa/aversão. Espera-se no presente trabalho que a aprendizagem visual larvas de Aeshnidae seja dependente da personalidade destes predadores aquáticos.

2.5 SIGNIFICÂNCIA

Os odonatos são predadores, realizam controle biológico e muitas espécies são indicadores de qualidade e são extremamente afetadas por mudanças climáticas (Hassall & Thompson 2008), por isso é fundamental estudar a plasticidade neural do grupo, pois podemos prever através das expressões comportamentais, possíveis declínios causados por mudanças ambientais e antropogênicas (Schlaepfer et al 2002).

Estudos sobre cognição, que procura, mostrar resposta de estímulo natural vinculados a ocorrência da ação que é o processo de condicionamento. Por ser um dos primeiros a realizar experimento de cognição trará mais perguntas do que resposta, sendo as dúvidas que movimentam a ciências desde os primórdios. Não apenas procura entender os reflexos inatos, mas como também vincula com a personalidade do indivíduo em experimento de síndrome, no intuito de relacionar a atividade da resposta inata com a personalidade (*shy-bold*) no processo antogênico.

Pensemos na relação predador vs. presa. Larvas de Odonata são presas de animais maiores, como por exemplo peixes. Se as larvas forem mais ativas, ou seja, *bold*, elas poderão se alimentar mais, mas também, correm o risco de serem mais predadas, já que sua atividade no meio será maior, como mencionado por Sih et al. (2004).

Os resultados obtidos neste trabalho ajudam a melhorar o entendimento sobre processos cognitivos neste grupo, uma vez que não havia informações sobre aprendizagem cognitiva, apenas sobre síndrome (Sih et al. 2004, Brodin 2008) e personalidade (Start & Gilbert 2017, Brodin & Johansson 2004, Gu et al. 2006). Uma vez que odonata é uma das

primeiras ordens na evolução de Insecta (Grimaldi & Engel 2005; Gullan & Cranston, 2014, Tripplehorn & Johnson 2005), entender melhor como ocorre os processos cognitivos na ordem pode auxiliar no entendimento destes processos ao longo da Classe.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 COLETA E MANUTENÇÃO

O trabalho de campo foi realizado na Cachoeira do Peixe do Parque Nacional da Serra da Canastra, em Minas Gerais, Brasil (20° 15' 25.90"S, 46° 24' 52.22"O). O parque representa um ecótono, uma área de transição entre os domínios fitogeográficos do Cerrado e da Mata Atlântica, 1264 metros acima do nível do mar. Tem clima sazonal característico, com inverno seco e verão chuvoso; a temperatura média varia de 18°C a 22°C (PLANO DE MANEJO PNSC, 2005).

As larvas de *Castoraeschna* sp. foram coletadas com o auxílio de peneira e rede D-Frame e armazenadas em frascos plásticos brancos com água do local de coleta. Foram coletadas 100 larvas que foram condicionadas em copos de plástico branco, com papel úmido e transportadas para a Universidade Federal de São Carlos - UFSCar. As larvas foram mantidas no Laboratório de Estudos Ecológicos em Etologia e Evolução - LESTES. Cada larva foi mantida em um frasco individual. Dos indivíduos coletados quatro larvas foram criadas até a fase adulta, permitindo a identificação das espécies: *C. corbeti* (Carvalho et al. 2009).

Para realização do experimento foi necessário que os indivíduos tivessem o mínimo de interferência além da interferência dos experimentos, tanto interferência visual como climática, foram analisadas para minimizar o impacto nos indivíduos. Por esse motivo as libélulas foram colocadas em isolamento físico e visual e estabilidade climática, em uma sala de criação em ambiente climatizado (26°C ± 2, fotoperíodo de 12:12h claro:escuro). Para obtermos o isolamento físico e visual as larvas foram organizadas em bandejas brancas particionadas, como forma de isolar o contato visual entre elas.

Em cada experimento os indivíduos tinham cuidados diferentes, no Experimento 1 tanto a troca de água como a alimentação ocorriam depois dos experimentos, sendo alimentados com cinco unidades de *Artemia salina* L. (Anostraca: Artermiidae), enquanto no segundo experimento as larvas foram alimentadas durante o treinamento (cinco unidades de *A. salina* de acordo com as respostas) e a troca de água ocorria em dias alternados após o experimento.

Tanto no momento pós coleta (fase de aclimação no laboratório) quanto nos momentos em que as larvas não estavam em fase de experimento, a troca de água ocorria a cada dois dias e eram alimentados em dias alternados, com aproximadamente 10 à 12, *Artemia salina* L. (dependendo do tamanho da larva).

3.2 EXPERIMENTO 1 - PERSONALIDADE

Para Sih et al. (2004), a síndrome comportamental é caracterizada por comportamentos alterados realizados por um grupo de indivíduos em uma(s) determinada(s) situação(ões). A síndrome é subdividida ainda em tipos comportamentais, fazendo com o que um indivíduo possa ser *shy* ou *bold*, por exemplo. Portanto, o intuito desse experimento foi analisar se existem síndromes comportamentais nas larvas. Foram realizados ensaios experimentais em três momentos diferentes, em intervalos de 15 dias, repetindo o mesmo procedimento com os mesmos indivíduos. Durante todo o tempo, as larvas foram mantidas em recipientes individuais em sala climatizada (temperatura 28, fotoperíodo 12:12), alimentadas diariamente com *Artemia salina*. A água era trocada e os recipientes eram limpos a cada dois dias.

O experimento ocorreu em condições laboratoriais em um aquário de 40x20x40cm. Dentro do aquário, foi colocada uma divisória de PVC branco de 40cm de comprimento e 30cm de altura, funcionando como uma parede que ficava paralela à parede de vidro, formando um canal. Com o aquário devidamente preparado, era colocada água suficiente para a locomoção horizontal do inseto (em torno de 4cm de lâmina d'água). Os experimentos foram filmados com uma câmera digital Canon EOS 70D com lente macro e cronometrados. Esses experimentos foram divididos em cinco etapas:

Etapa 1: a larva era segurada pelo tórax usando uma pinça por cinco segundos. A resposta comportamental da larva foi categorizada de acordo com sua resposta ao risco de predação: tanatose (fingimento de morte) ou ativa (a larva agitava o abdômen lateralmente, comportamento que ocorre quando a larva busca se defender usando espinhos abdominais).

Etapa 2: A larva era solta no canal a uma altura de 30cm. Após a larva atingir a água, foram observados: (i) presença de tanatose ou locomoção; (ii) número de jatos de propulsão; (iii) distância nadada pela larva; (iv) duração do comportamento de locomoção exibido.

Etapa 3: Intervalo de dois minutos sem estímulos, onde se observava possíveis comportamentos adicionais (locomoção ou tanatose).

Etapa 4: Os indivíduos eram submetidos a leves estímulos motores com um cilindro de vidro transparente de 30cm de comprimento e 0,5cm de diâmetro. O estímulo foi realizado três vezes com intervalos com 10 segundos, anotando-se a resposta da larva – tanatose ou atividade.

Etapa 5: Intervalo de dois minutos sem estímulos, onde se observava possíveis comportamentos adicionais (locomoção ou tanatose).

Essa sequência experimental foi repetida três vezes para cada indivíduo, com intervalos de 15 dias entre os experimentos, totalizando 300 vídeos para análise. No final de cada bateria experimental, os indivíduos foram colocados em uma placa de Petri e medidos com um paquímetro digital da cabeça ao final do apêndice caudal. As medições foram feitas em todos os experimentos utilizando a mesma metodologia. Cada indivíduo foi medido duas vezes e a média foi utilizada nas análises. Durante o experimento, cinco indivíduos não puderam ser utilizados, pois estavam em fase de ecdise ou morreram no intervalo entre os experimentos. Quinze indivíduos morreram devido a uma possível infecção por fungos.

3.3 EXPERIMENTO 2 – COGNIÇÃO

3.3.1 Treinamento

Antes de realizar o Experimento 2 foram feitos testes para definir a metodologia, utilizando como exemplo o experimento de Leabeater & Dawson (2017). O intuito da fase de treinamento é preparar os animais a responderem com o reflexo de extensão do premento (REP) aos estímulos de interesse. Para realizar o treinamento, foram utilizadas duas cores: vermelho e azul. Utilizou-se de um alfinete azul e outro vermelho, ambos com 0,5 cm de diâmetro (posteriormente chamados de "estímulo azul" ou "estímulo vermelho"). Cada esfera (cabeça do alfinete) foi inserida na ponta de um canudo branco. Estas cores foram escolhidas considerando-se o espectro de visão dos receptores óticos de Aeshnidae (Bybee et al. 2012).

O treinamento foi realizado com 40 larvas no estímulo azul (Grupo 1) e 40 no estímulo vermelho (Grupo 2), assim, metade das libélulas foram treinadas para uma cor e a outra metade para a outra cor.

No grupo 1, foram feitas dez repetições intercaladas entre as cores. Esses intervalos foram de cinco minutos (cinco repetições para cada cor). A apresentação dos estímulos foi randomizada. Neste grupo, o estímulo incondicionado de reforço positivo (US+) foi a cor azul. Neste caso, *Artemia salina* L. era oferecida para o indivíduo toda vez que houvesse REP em direção ao estímulo. A cor vermelha, por sua vez, era um estímulo incondicionado de reforço negativo (US-). Um jato de água feito com a pipeta era direcionado para a cabeça do indivíduo como um estímulo negativo quando havia REP na direção do estímulo vermelho. No grupo 2, foi realizado o mesmo procedimento, entretanto, o azul foi tratado como US- e o vermelho como US+.

Para cada grupo, (estímulo azul e estímulo vermelho), as larvas eram apresentadas aos estímulos com movimentos horizontais e lentos diante dos indivíduos. A partir do momento em que o estímulo foi colocado na água, observou-se o tempo de latência de cada larva para

responder ao estímulo. Consideramos uma resposta positiva quando a larva apresentou o REP. Para aqueles que apresentaram REP ao US+, nós imediatamente oferecemos comida após a resposta, enquanto que para aqueles que não responderam, oferecemos alimentos da mesma forma apenas após 60 segundos, sem a presença de estímulos.

Assim, o treinamento consistiu em US+/US-, apresentados intercaladamente, até que cada larva recebesse 5 tentativas de cada US. Após o treinamento, espera-se que as larvas associem os estímulos visuais com a presa.

3.3.2 Condicionamento Absoluto

O experimento de cognição foi realizado no dia após o treinamento de cada indivíduo. Essa etapa tem como objetivo condicionar os indivíduos através do condicionamento absoluto, associando alimento com a cor de estímulo. As 80 larvas treinadas, foram condicionadas durante cinco dias, respeitando o grupo de estímulo (cor vermelha ou azul) ao qual foram treinadas, baseando-se em Muth et al. (2018).

Para o grupo 1, apenas o estímulo azul era colocado na água, e para o grupo 2, apenas o estímulo vermelho era colocado na água, agindo como um condicionamento de reforço positivo (CS+). O estímulo ficava no máximo 60 segundos na água com a larva, se o animal apresentasse REP ao CS+, nós imediatamente alimentávamos a larva e o tempo de latência era anotado. As respostas negativas ao CS+ foram consideradas nulas e a larva não foi alimentada. Este procedimento foi realizado em um total de cinco vezes em intervalos de 10 minutos cada. Após 10 minutos da quinta apresentação, colocamos simultaneamente as duas cores na água (azul e vermelho) em uma fase de teste não recompensada. A resposta larval aos estímulos e o tempo de latência foram anotados. Após 60 segundos, os estímulos foram retirados da água. A posição do CS+ foi alternada e randomizada entre os sujeitos. Este procedimento foi repetido por cinco dias, consistindo em cinco respostas ao CS+. Tentativas anteriores mostraram que cinco ensaios por dia, o que comumente é feito com abelhas, saciavam as larvas que pararam de responder após algumas tentativas.

3.4 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Para analisar se as larvas exibem traços de personalidade, fizemos uma Análise de Componentes Principais (PCA) com todas as variáveis comportamentais. A PCA foi feita para mostrar se existe um padrão de resposta em múltiplos comportamentos entre os indivíduos. A PCA também permitiu a redução das múltiplas dimensões comportamentais medidas para evitar a colinearidade em uma análise posterior. Em seguida, construímos

modelos de Equações de Estimação Generalizadas (GEE) para analisar o efeito do tamanho do corpo individual e os três ensaios comportamentais (variáveis preditoras) nos comportamentos exibidos (variáveis dependentes). Todos esses comportamentos foram reduzidos a três dimensões comportamentais: (i) resposta à tanatose/agressão; (ii) resposta do canal (todas as três variáveis foram correlacionadas; portanto, usamos a distância nadada pelas larvas como proxy); (iii) o primeiro eixo do PCA, que retomou todos os outros comportamentos.

Para analisar se as larvas da libélula realmente aprendem e se a personalidade afeta a aprendizagem, construímos modelos logísticos binários de GEE, nos quais a resposta a estímulos (1 - correto, 2 - errado) foi considerada uma variável dependente binária; tamanho corporal larval (mm), cor do estímulo (azul ou vermelho), latência de resposta (segundos) e número de tentativas (1 a 5) foram considerados variáveis preditoras. Em todos os modelos de GEE, a identidade de cada larva foi tratada como um fator sujeito aleatório. Os modelos de GEE foram selecionados usando a menor modelo de critério de quasi-verossimilhança independência (QIC). Assumimos $\alpha \leq 0,005$ para significância estatística (Benjamin et al. 2018). Todas as análises foram feitas usando o software IBM SPSS 20.0.

4 RESULTADOS

Os resultados da fase de treinamento sugerem que 45,8% dos indivíduos respondem ao estímulo vermelho de forma inata, enquanto 45,1% respondem ao estímulo azul de forma inata.

Os resultados mostram que o tamanho corporal e a repetição do ensaio não afetaram a consistência das características comportamentais anti-predadores, por exemplo comportamentos de tanatose, display de defesa ou comportamentos de fuga, como nadar (Tabela 1). Os resultados também mostram que a personalidade e a interação entre a tentativa e a cor do estímulo predisseram as respostas corretas que as larvas exibem durante o condicionamento absoluto, mostrando que elas são capazes de associar um estímulo não condicionado a uma recompensa por presas (Tabela 2, Figura 1).

Tabela 1. Resultados do modelo GEE mostrando o efeito do tamanho do corpo e os três ensaios sobre a consistência dos comportamentos anti-predadores ($\alpha \leq 0,005$; N = 35).

	Wald X ²	gL	p
<i>Tanatose/Agressão</i>			
Ensaio	0.721	2	0.697
Tamanho do corpo	0.246	1	0.620
<i>Resposta no Canal</i>			
Ensaio	0.448	2	0.799
Tamanho do corpo	0.537	1	0.464
<i>Resposta de Escaping</i>			
Ensaio	6.724	2	0.035
Tamanho do corpo	3.789	1	0.052

Tabela 2. Resultados dos modelos de GEE mostrando o efeito de traços de personalidade, cor de estímulo, ensaio experimental e latência de resposta nas respostas corretas/erradas durante o experimento de condicionamento absoluto. Resultados significativos em negrito ($\alpha \leq 0,005$; N = 35).

	Wald X²	gL	p
Cor do estímulo	4.468	1	0.035
Personalidade	7.820	1	0.005
Ensaio * Cor do estímulo	38.184	8	0.000
Ensaio * Latência	11.176	4	0.025
Cor do estímulo * Latência	4.148	1	0.042
Personalidade * Latência	5.230	1	0.022
QIC = 229,812			

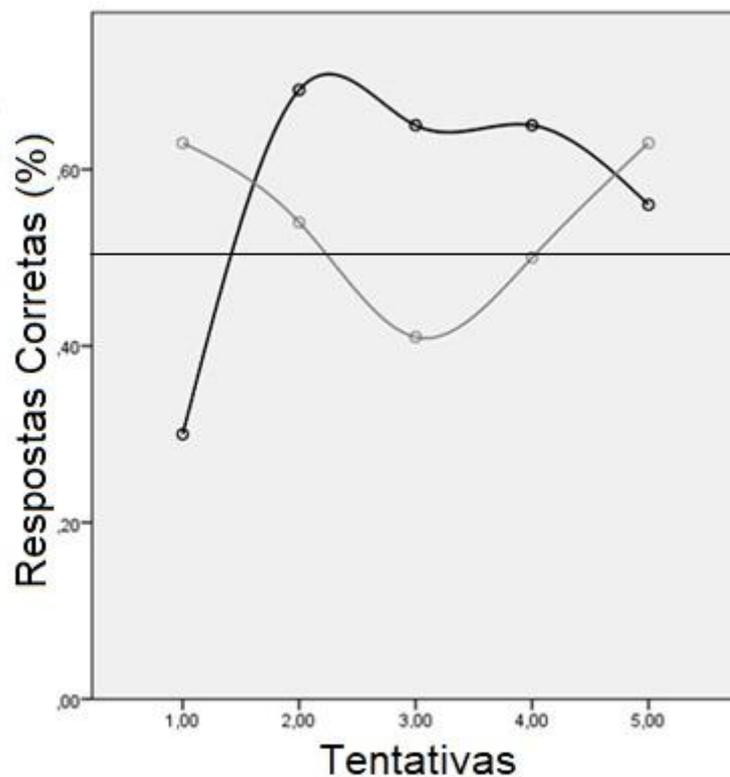


Figura 1. Funções de aquisição durante o condicionamento absoluto do reflexo de extensão do premento de *Castoraeshna sp.* (Odonata: Aeshnidae) a estímulos visuais (vermelho - linha cinza; e azul - linha preta). A linha transversal indica 50%, valor esperado caso as respostas fossem aleatórias. Na fase de treinamento, 45,8% dos indivíduos respondem ao estímulo vermelho de forma inata, enquanto 45,1% respondem ao estímulo azul de forma inata.

5 DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que houve uma relação significativa entre a maioria do comportamento de personalidade e tentativa com a cor do estímulo, corroborando nossa hipótese inicial de que as larvas de libélula exibem traços de personalidade. Além disso, os traços comportamentais mostraram consistência em todos os ensaios. De fato, há evidências de que a personalidade das larvas de libélula é transmitida em diferentes estágios e até mesmo após a emergência, durante a fase adulta (Brodin 2008). Isso implica que houve aprendizado em ambos os casos, uma vez que azul e vermelho terminam com cerca de 60% de respostas corretas, conforme a Figura 1. Diferenças no comportamento individual podem ocorrer em variações na cognição (Sih e Del Giudice 2012), que em última análise afetam processos ecológicos e evolutivos em nível populacional, por exemplo, influenciando o comportamento predatório do indivíduo e o *fitness* (Morand-Ferron et al. 2015).

Evidências recentes sugerem que tais variações na cognição (por exemplo, aprendizagem) podem ter uma relação direta com a personalidade animal (revisada por Dougherty e Guillette 2018). Nesse contexto, a plasticidade neural e a variação fenotípica nos sistemas neurais entre os membros da mesma espécie podem resultar em uma variedade de síndromes comportamentais e estratégias associadas à aprendizagem (Sih et al. 2004; Moretz et al. 2007). Conseqüentemente, várias táticas de exploração e aquisição de recursos podem ocorrer em uma população, sugerindo uma etodiversidade obscura (Cordero 2017) e um amplo substrato para a seleção natural trabalhar (Réale et al. 2007).

Para os odonatos, a aprendizagem é uma parte essencial da captura de presas e do comportamento sexual. Em libelinhas polimórficas, os machos devem aprender a diferenciar entre as formas da cor feminina e identificar sinais de recepção e recusa das fêmeas para evitar tentativas de acasalamento enganosas (Fincke 2004). Machos de libelinhas territoriais exibem um complexo sistema de tomada de decisão ao lidar com rivais, avaliando os sinais visuais que indicam a qualidade do oponente (Guillermo-Ferreira et al. 2015; Pestana et al. 2018). As larvas devem aprender a identificar sinais no ambiente para prever o risco de predação (Chivers et al. 1996; Wisenden et al. 1997) e selecionar presas (Blois & Cloarec 1985).

Os insetos adquiriram, no fim do período cretáceo a capacidade de usar o cromóforo A3, significando que há grande quantidade de variabilidade de cromóforo A1 e A3 indica um ajuste espectral, essa é uma estratégia utilizada pela maioria das espécies da ordem Odonata (Briscoe & Chittka 2001). Esse ajuste quando reconstituído dentro dos fotorreceptores

chamado opsina, indica ser uma estratégia utilizada para ter um ajuste espectral para o receptor vermelho (λ_{max}), indicando que a maioria das espécies da ordem conseguem ver a cor vermelha (Autrum & Kolb 1968). Muitas libélulas possuem omatídeos maiores na metade dorsal dos olhos e facetas menores na metade ventral, assim, possuem receptores UV e violeta na parte dorsal e são sensíveis ao azul e verde na parte ventral; corroborando nossos dados de resposta inata para ambas as cores (Goldsmith & Bernard 1974).

Considerando que nossos resultados sugerem uma relação entre personalidade e aprendizagem, diferentes fenótipos comportamentais podem ser capazes de explorar diferentes habitats e recursos que requerem estratégias variáveis. Tais estratégias podem envolver *crypsis* e camuflagem para impedir a detecção de presas e evitar o risco de predação. Essas estratégias podem favorecer larvas menos ativas, que adotam uma tática de captura de presas, que, por sua vez, pode ser lenta comparada às larvas mais ativas/aprendizes mais rápidas que são capazes de perseguir presas mais ativas. Em resumo, este trabalho fornece evidências de que larvas de libélulas podem aprender com procedimentos de condicionamento absoluto. Esta evidência pode abrir portas para futuras pesquisas sobre a cognição de insetos e pode revelar padrões interessantes de evolução dos processos cognitivos, a partir da posição filogenética de Odonata. Além disso, concluímos que a aprendizagem pode depender de traços de personalidade, bem como dos estímulos visuais apresentados. Pesquisas futuras devem se concentrar em testes de condicionamento absoluto e condicionamento aversivo, no intuito de suprir lacunas experimentais, além de testar se as variações que encontramos tem implicações no *fitness* de Odonata e nas estratégias de predação em diferentes ambientes destes animais.

6 REFERÊNCIAS

- Allen, D., Davies, L., & Tobin, P. (1985). The dragonflies of the world: a systematic list of the extant species of Odonata. Vol. 2 Anisoptera. Rapid communications, 5(1), 8-151.
- Autrum, H., & Kolb, G. (1968). Spektrale Empfindlichkeit einzelner Sehzellen der Aeschniden. Zeitschrift für vergleichende Physiologie, 60(4), 450-477.
- Avarguès-Weber, A., Deisig, N., & Giurfa, M. (2011). Visual cognition in social insects. Annual review of entomology, 56, 423-443.
- Barbosa, P., & Castellanos, I. (Eds.). (2005). Ecology of predator-prey interactions. Oxford University Press.
- Benjamin, D.J., Berger, J. O., Johannesson, M., Nosek, B. A., Wagenmakers, E. J., Berk, R., Bollen, K. A., Brembs, B., Brown, L., Camerer, C., Cesarini, D., Chambers, C. D., Clyde, M., Cook, T. D., De Boeck, P., Dienes, Z., Dreber, A., Easwaran, K., Efferson, C., Fehr, E., Fidler, F., Field, A. P., Forster, M., George, E. I., Gonzalez, R., Goodman, S., Green, E., Green, D. P., Greenwald, A. G., Hadfield, J. D., Hedges, L. V., Held, L., Ho, T. H., Hoijsink, H., Hruschka, D. J., Imai, K., Imbens, G., Ioannidis, J. P. A., Jeon, M., Jones, J. H., Kirchler, M., Laibson, D., List, J., Little, R., Lupia, A., Machery, E., Maxwell, S. E., McCarthy, M., Moore, D. A., Morgan, S. L., Munafó, M., Nakagawa, S., Nyhan, B., Parker, T. H., Pericchi, L., Perugini, M., Rouder, J., Rousseau, J., Savalei, V., Schönbrodt, F. D., Sellke, T., Sinclair, B., Tingley, D., Van Zandt, T., Vazire, S., Watts, D. J., Winship, C., Wolpert, R. L., Xie, Y., Young, C., Zinman, J., & Johnson, V. E. (2018). Redefine statistical significance. Nature Human Behaviour, 2(1), 6.
- Biro, P. A., & Stamps, J. A. (2008). Are animal personality traits linked to life-history productivity?. Trends in Ecology & Evolution, 23(7), 361-368.
- Blois, C., & Cloarec, A. (1985). Influence of Experience on Prey Selection by *Anax imperator* Larvae (Aeschnidae-Odonata). Zeitschrift für Tierpsychologie, 68(4), 303-312.
- Briscoe, A. D., & Chittka, L. (2001). The evolution of color vision in insects. Annual Review of Entomology, 46(1), 471-510.
- Brodin, T. (2008). Behavioral syndrome over the boundaries of life—carryovers from larvae to adult damselfly. Behavioral Ecology, 20(1), 30-37.
- Brodin, T., & Johansson, F. (2004). Conflicting selection pressures on the growth/predation-risk trade-off in a damselfly. Ecology, 85(11), 2927-2932.

Bybee, S. M., Johnson, K. K., Gering, E. J., Whiting, M. F., & Crandall, K. A. (2012). All the better to see you with: a review of odonate color vision with transcriptomic insight into the odonate eye. *Organisms Diversity & Evolution*, 12(3), 241-250.

Bybee, S. M., Johnson, K. K., Gering, E. J., Whiting, M. F., & Crandall, K. A. (2012). All the better to see you with: a review of odonate color vision with transcriptomic insight into the odonate eye. *Organisms Diversity & Evolution*, 12(3), 241-250.

Camlitepe, Y., & Aksoy, V. (2010). First evidence of fine colour discrimination ability in ants (Hymenoptera, Formicidae). *Journal of Experimental Biology*, 213(1), 72-77.

Card, G., & Dickinson, M. H. (2008). Visually mediated motor planning in the escape response of *Drosophila*. *Current Biology*, 18(17), 1300-1307.

Carvalho, A. L., Pinto, Â. P., & Ferreira-Jr, N. (2009). *Castoraeschna corbeti* sp. nov. from Floresta Nacional de Carajés, Pará state, Brazil (Odonata: Aeshnidae). *International Journal of Odonatology*, 12(2), 337-346.

Chivers, D. P., Wisenden, B. D., & Smith, R. J. F. (1996). Damselfly larvae learn to recognize predators from chemical cues in the predator's diet. *Animal Behaviour*, 52(2), 315-320.

Cordero-Rivera, A. (2017). Behavioral diversity (ethodiversity): a neglected level in the study of biodiversity. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5, 7.

Dijkstra, K. D. B., Bechly, G., Bybee, S. M., Dow, R. A., Dumont, H. J., Fleck, G., ... & May, M. L. (2013). The classification and diversity of dragonflies and damselflies (Odonata). *Zootaxa*, 3703(1), 36-45.

Dochtermann, N. A., Schwab, T., & Sih, A. (2014). The contribution of additive genetic variation to personality variation: heritability of personality. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1798), 20142201–20142201.

Dougherty, L. R., & Guillette, L. M. (2018). Linking personality and cognition: a meta-analysis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1756), 20170282.

Fincke, O. M. (2004). Polymorphic signals of harassed female odonates and the males that learn them support a novel frequency-dependent model. *Animal Behaviour*, 67(5), 833-845.

Goldsmith, T. H., & Bernard, G. D. (1974). The visual system of insects. *The Physiology of Insecta*, 165–272.

Gonzalez-Bellido, P. T., Peng, H., Yang, J., Georgopoulos, A. P., & Olberg, R. M. (2013). Eight pairs of descending visual neurons in the dragonfly give wing motor centers

accurate population vector of prey direction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(2), 696-701.

Griffin, A. S., Guillette, L. M., & Healy, S. D. (2015). Cognition and personality: an analysis of an emerging field. *Trends in Ecology & Evolution*, 30(4), 207–214.

Grimaldi, D., Engel, M. S., & Engel, M. S. (2005). *Evolution of the Insects*. Cambridge University Press.

Gu, H., Hughes, J., & Dorn, S. (2006). Trade-off between mobility and fitness in *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera: Tortricidae). *Ecological Entomology*, 31(1), 68-74.

Guillermo-Ferreira, R., Gorb, S. N., Appel, E., Kovalev, A., & Bispo, P. C. (2015). Variable assessment of wing colouration in aerial contests of the red-winged damselfly *Mnesarete pudica* (Zygoptera, Calopterygidae). *The Science of Nature*, 102(3-4), 13.

Gullan, P. J., & Cranston, P. S. (2014). *The insects: an outline of entomology*. John Wiley & Sons.

Gyuris, E., Feró, O., & Barta, Z. (2012). Personality traits across ontogeny in firebugs, *Pyrhocoris apterus*. *Animal Behaviour*, 84(1), 103–109

Haber Kern, H., & Jayaraman, V. (2016). Studying small brains to understand the building blocks of cognition. *Current Opinion in Neurobiology*, 37, 59-65.

Hassall, C., & Thompson, D. J. (2008). The effects of environmental warming on Odonata: a review. *International Journal of Odonatology*, 11(2), 131–153.

Irwin, D. E., Alström, P. E. R., Olsson, U., & Benowitz-Fredericks, Z. M. (2001). Cryptic species in the genus *Phylloscopus* (Old World leaf warblers). *Ibis*, 143(2), 233-247.

Kaya, M., Sargin, I., Al-jaf, I., Erdogan, S., & Arslan, G. (2016). Characteristics of corneal lens chitin in dragonfly compound eyes. *International journal of biological macromolecules*, 89, 54-61.

Leadbeater, E., & Dawson, E. H. (2017). A social insect perspective on the evolution of social learning mechanisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(30), 7838-7845.

Mischiati, M., Lin, H. T., Herold, P., Imler, E., Olberg, R., & Leonardo, A. (2015). Internal models direct dragonfly interception steering. *Nature*, 517(7534), 333.

Morand-Ferron, J., Cole, E. F., & Quinn, J. L. (2016). Studying the evolutionary ecology of cognition in the wild: a review of practical and conceptual challenges. *Biological Reviews*, 91(2), 367-389.

Moretz, J. A., Martins, E. P., & Robison, B. D. (2007). Behavioral syndromes and the evolution of correlated behavior in zebrafish. *Behavioral ecology*, 18(3), 556-562.

Muth, F., Cooper, T. R., Bonilla, R. F., & Leonard, A. S. (2018). A novel protocol for studying bee cognition in the wild. *Methods in Ecology and Evolution*, 9(1), 78-87.

Neuser, K., Triphan, T., Mronz, M., Poeck, B., & Strauss, R. (2008). Analysis of a spatial orientation memory in *Drosophila*. *Nature*, 453(7199), 1244-1247.

Nguyen, D. T., & Maxwell, M. R. (2008). Stalking of stationary prey by a praying mantid (*Hierodula patellifera* Serville)(Mantodea: Mantidae). *Entomological News*, 119(4), 425-428.

Oertli, B. (2008). The use of dragonflies in the assessment and monitoring of aquatic habitats. *Dragonflies and damselflies: model organisms for ecological and evolutionary research*. Oxford University Press, Oxford, 79-95.

Olberg, R. M., Seaman, R. C., Coats, M. I., & Henry, A. F. (2007). Eye movements and target fixation during dragonfly prey-interception flights. *Journal of comparative physiology A*, 193(7), 685-693.

Pavlov, I. P. (1906). Scientific study of the so-called psychical processes in the higher animals. *The Lancet*, 2, 911-915.

Pestana, G. C., Caromano, T. G., & Ferreira, R. G. (2018). Sexual ornamentation triggers rival aggressiveness in the Neotropical damselfly *Hetaerina longipes* (Odonata: Calopterygidae). *Odonatologica*, 47(1-2), 121.

Plano de Manejo do Parque Nacional da Serra da Canastra – Plano Executivo (2005). Disponível em: <http://www.icmbio.gov.br/portal/images/stories/imgs-unidades-coservacao/PM_PNSC_Resumo_Executivo.PDF>. Acesso em: 03 de abr. 2019.

Réale, D., Reader, S. M., Sol, D., McDougall, P. T., & Dingemanse, N. J. (2007). Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological reviews*, 82(2), 291-318.

Rescorla, R. A., & Wagner, A. R. (1972). A theory of Pavlovian conditioning: Variations in the effectiveness of reinforcement and nonreinforcement. *Classical conditioning II: Current research and theory*, 2, 64-99.

Schlaepfer, M. A., Runge, M. C., & Sherman, P. W. (2002). Ecological and evolutionary traps. *Trends in ecology & evolution*, 17(10), 474-480.

Seki, T., & Vogt, K. (1998). Evolutionary aspects of the diversity of visual pigment chromophores in the class Insecta. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 119(1), 53-64.

Sih, A., Bell, A., & Johnson, J. C. (2004). Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(7), 372-378.

Sih, A., & Del Giudice, M. (2012). Linking behavioural syndromes and cognition: a behavioural ecology perspective. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1603), 2762-2772.

Sillar, K. T., Picton, L. D., & Heitler, W. J. (2016). *The neuroethology of predation and escape*. John Wiley & Sons.

Simaika, J. P., & Samways, M. J. (2011). Comparative assessment of indices of freshwater habitat conditions using different invertebrate taxon sets. *Ecological Indicators*, 11(2), 370-378.

Skorupski, P., MaBouDi, H., Galpayage Dona, H. S., & Chittka, L. (2018). Counting insects. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 373(1740), 20160513.

Spaethe, J., Tautz, J., & Chittka, L. (2001). Visual constraints in foraging bumblebees: flower size and color affect search time and flight behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(7), 3898-3903.

Srinivasan, M. V. (2010). Honey bees as a model for vision, perception, and cognition. *Annual review of entomology*, 55, 267-284.

Stach, S., Benard, J., & Giurfa, M. (2004). Local-feature assembling in visual pattern recognition and generalization in honeybees. *Nature*, 429(6993), 758.

Start, D., & Gilbert, B. (2017). Predator personality structures prey communities and trophic cascades. *Ecology Letters*, 20(3), 366–374.

Suhling, F., Sahlén, G., Gorb, S., Kalkman, V. J., Dijkstra, K. D. B., & van Tol, J. (2015). Order Odonata. In Thorp and Covich's *Freshwater Invertebrates* (pp. 893-932). Academic Press.

Sviderskii, V. L., Plotnikova, S. I., Gorelkin, V. S., Severina, I. Y., & Isavnina, I. L. (2014). Functional role of dragonfly legs before and after wing formation: rearrangement of coordinatory relationships. *Neuroscience and Behavioral Physiology*, 44(7), 804-809.

Triplehorn, C. A., & Johnson, N. F. (2005). Borror and DeLong's. *Introduction to the Study of Insects*, 7.

Unoki, S., Matsumoto, Y., & Mizunami, M. (2006). Roles of octopaminergic and dopaminergic neurons in mediating reward and punishment signals in insect visual learning. *European Journal of Neuroscience*, 24(7), 2031-2038.

Von Ellenrieder, N. (2002). A phylogenetic analysis of the extant Aeshnidae (Odonata: Anisoptera). *Systematic Entomology*, 27(4), 437-467.

Von Frisch, K. (1914). *Der farbenninn und formenninn der biene*. Рипол Классик.

Warrant, E. J. (2016). Matched filtering and the ecology of vision in insects. In *The Ecology of Animal Senses* (pp. 143-167). Springer, Cham.

Wisenden, B. D., Chivers, D. P., & Smith, R. J. F. (1997). Learned recognition of predation risk by *Enallagma* damselfly larvae (Odonata, Zygoptera) on the basis of chemical cues. *Journal of chemical Ecology*, 23(1), 137-151.