

RESSALVA

Atendendo solicitação do autor, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 04/12/2025.

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, EVOLUÇÃO E
BIODIVERSIDADE**

**RESPOSTA IMUNE DE FASE AGUDA EM MORCEGOS:
UMA ABORDAGEM EXPERIMENTAL.**

MATHEUS FERNANDES VIOLA

**Rio Claro – SP
2025**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA, EVOLUÇÃO E
BIODIVERSIDADE**

**RESPOSTA IMUNE DE FASE AGUDA EM MORCEGOS:
UMA ABORDAGEM EXPERIMENTAL**

MATHEUS FERNANDES VIOLA

Tese apresentada ao Instituto de Biotecnologia do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ecologia, Evolução e Biodiversidade.

Orientador: Dr. Ariovaldo Pereira da Cruz Neto

**Rio Claro – SP
2025**

V795r Viola, Matheus Fernandes
Resposta imune de fase aguda em morcegos: uma
abordagem experimental / Matheus Fernandes Viola. --
Rio Claro, 2025
105 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Instituto de Biociências, Rio Claro
Orientador: Ariovaldo Pereira da Cruz Neto

1. Morcegos. 2. Sistema imunológico. 3.
Lipopolissacarídeos. 4. Restrição calórica. 5. Altas
temperaturas. I. Título.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: Resposta imune de fase aguda em morcegos: uma abordagem experimental

AUTOR: MATHEUS FERNANDES VIOLA

ORIENTADOR: ARIIVALDO PEREIRA DA CRUZ NETO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ecologia, Evolução e Biodiversidade, área: Biodiversidade pela Comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 **ARIOVALDO PEREIRA DA CRUZ NETO**
Data: 10/06/2025 21:10:02-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. ARIIVALDO PEREIRA DA CRUZ NETO (Participação Virtual)
Departamento de Biodiversidade / Unesp - IB Rio Claro

Documento assinado digitalmente
 **FERNANDO PASSOS RIBEIRO GOMES**
Data: 06/06/2025 11:31:32-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. FERNANDO RIBEIRO GOMES (Participação Virtual)
Departamento Fisiologia / Universidade de São Paulo

Documento assinado digitalmente
 **ALINE DAL OLIO GOMES**
Data: 06/06/2025 10:09:38-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. ALINE DAL OLIO GOMES (Participação Virtual)
Departamento de Biodiversidade / Unesp - IB Rio Claro

Rio Claro, 04 de junho de 2025

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus amados pais, Vladimir e Diva, e minha amada esposa, Jullyanne, por estarem ao meu lado em mais um dos meus sonhos e terem acreditado que eu seria capaz de concretizá-lo. Não foi fácil, mas conseguimos!

Ao meu orientador Ariovaldo Pereira da Cruz Neto pela oportunidade de realizar este trabalho sob a sua orientação, por toda confiança depositada em mim e por toda ajuda conferida no decorrer da dissertação.

Agradeço em especial a todos alunos e funcionários do Instituto de Biociências da Unesp de Rio Claro e do Departamento de Biodiversidade por me acolherem durante todo esse período, bem como aos funcionários programa de Pós-Graduação em Ecologia, Evolução e Biodiversidade pelo apoio e pela ajuda em todos os momentos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq 401258/2012-2 e 445353/2014-7) pelo apoio financeiro destinado ao desenvolvimento do projeto e desta tese de doutorado.



ÀS VEZES EU ACHO QUE O INDÍCIO
MAIS ÓBVIO DE QUE EXISTEM FORMAS
DE VIDA INTELIGENTE FORA DA TERRA
É QUE NENHUMA DELAS TENTOU
ENTRAR EM CONTATO CONOSCO.

Bill Watterson

RESUMO

Apesar do objetivo conservador, as respostas imunes dos animais são profundamente moldadas por uma variedade de fatores fisiológicos, ecológicos, ambientais e evolutivos. Os estudos que tentam compreender as causas e consequências de tal variação levaram ao estabelecimento do campo da ecoimunologia. A resposta de fase aguda (RFA) é um componente central da resposta imune inata e representa a primeira linha de defesa imunológica usada em resposta a infecções. Embora vários estudos com vertebrados tenham relatado a ativação dos componentes fisiológicos e comportamentais da RFA após o desafio imune, houve grande variabilidade na magnitude da ativação. Algumas destas diferenças podem refletir, até certo ponto, diferenças no período de estimulação da RFA (atividade e repouso) e na concentração do agente estimulador (lipopolissacarídeo: LPS). Por outro lado, a função imunológica pode ser suprimida ou estimulada pela exposição a fatores ambientais que mudam rapidamente, como temperatura e disponibilidade de alimentos. O aumento da temperatura ambiente (TA) e redução na disponibilidade de alimentos (RA) são duas das consequências sinérgicas mais importantes das mudanças climáticas e da perda e fragmentação de habitats, entretanto, poucos estudos testaram seus efeitos combinados na resposta imune induzida. O estudo se propôs a avaliar a interação entre a magnitude da dose de LPS e o período de estimulação nos componentes fisiológicos e comportamentais da RFA, bem como os efeitos isolados e combinados da TA e RA sobre a magnitude dessas respostas, utilizando o morcego frugívoro *Carollia perspicillata* como animal modelo. Previmos que: a magnitude da resposta dos componentes da RFA avaliados seria dependente da dose e/ou do período de estimulação; TA e RA bem como os efeito combinado de ambos os fatores atenuaria ou exacerbaria a magnitude da resposta dos componentes da RFA e a capacidade bactericida do plasma. Os resultados indicam uma redução mais acentuada na ingestão alimentar em doses de LPS mais altas durante o período ativo, e um aumento da razão neutrófilos/linfócitos (N/L) mais acentuado durante o período ativo, independentemente da dose. Além disso, o aumento da temperatura da pele durou mais tempo após doses mais altas de LPS, independentemente do período das injeções. A capacidade bactericida e a maioria dos componentes da RFA não foram afetados por mudanças de curto prazo na disponibilidade de alimentos e na temperatura ambiente. Por outro lado, a N/L aumentou em morcegos expostos à baixa disponibilidade de alimentos e alta temperatura ambiente.

Palavras-Chave: Chiroptera, imunidade inata, lipopolissacarídeo, disponibilidade de alimentos, temperatura ambiente aumentada

ABSTRACT

Despite the conservative goal, animal immune responses are profoundly shaped by a variety of physiological, ecological, environmental, and evolutionary factors. Studies attempting to understand the causes and consequences of such variation have led to the establishment of the field of ecoimmunology. The acute phase response (APR) is a central component of the innate immune response and represents the first line of immunological defense used in response to infections. Although several studies in vertebrates have reported activation of the physiological and behavioral components of the APR following immune challenge, there was great variability in the magnitude of activation. Some of these differences may reflect, to some extent, differences in the period of APR stimulation (activity and rest) and in the concentration of the stimulating agent (lipopolysaccharide: LPS). Conversely, immune function can be suppressed or stimulated by exposure to rapidly changing environmental factors, such as temperature and food availability. Increased environmental temperature (AT) and reduced food availability (RA) are two of the most important synergistic consequences of climate change and habitat loss and fragmentation; however, few studies have tested their combined effects on the induced immune response. The study aimed to evaluate the interaction between the magnitude of the LPS dose and the period of stimulation on the physiological and behavioral components of APR, as well as the isolated and combined effects of AT and RA on the magnitude of these responses, using the fruit bat *Carollia perspicillata* as a model animal. We predicted that: the magnitude of the response of the APR components evaluated would be dependent on the dose and/or the period of stimulation; AT and RA as well as the combined effect of both factors would attenuate or exacerbate the magnitude of the response of the APR components and the bactericidal capacity of the plasma. The results indicate a more pronounced reduction in food intake at higher LPS doses during the active period, and a more pronounced increase in the neutrophil/lymphocyte ratio (N/L) during the active period, regardless of the dose. Furthermore, the increase in skin temperature lasted longer after higher doses of LPS, regardless of the period of injections. The bactericidal capacity and most APR components were not affected by short-term changes in food availability and environmental temperature. On the other hand, the N/L increased in bats exposed to low food availability and high ambient temperature.

Keywords: Chiroptera, innate immunity, lipopolysaccharide, food availability, increased ambient temperature

Title in English: Acute phase immune response in bats: an experimental approach.

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO GERAL.....	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	17
MATERIAL SUPLEMENTAR.....	28
CAPITULO 1: THE ACUTE PHASE RESPONSE IN BATS (<i>CAROLLIA</i> <i>PERSPICILLATA</i>) VARIES WITH TIME AND DOSE OF THE IMMUNE CHALLENGE.....	33
ABSTRACT.....	34
2 - INTRODUCTION.....	35
2.1 - MATERIAL AND METHODS.....	41
2.1.1 - <i>Capture and Maintenance</i>	41
2.1.2 - <i>Experimental conditions and immune challenge</i>	41
2.1.3 - <i>Food intake and body mass variation</i>	42
2.1.4 - <i>Total WBC count and N/L ratio</i>	42
2.1.5 - <i>Body temperature variation</i>	43
2.2 - DATA ANALYSIS.....	43
2.3 - RESULTS.....	44
2.3.1 - ΔFI and ΔMb	44
3.3.2 - ΔWBC and $\Delta N/L$ ratio	46
2.3.3 - ΔTb	47
2.4 - DISCUSSION.....	49
2.5 - CONCLUSIONS.....	53
REFERENCES.....	54
SUPPLEMENTARY MATERIAL.....	64

CAPITULO 2 - COMBINED EFFECTS OF AMBIENT TEMPERATURE AND FOOD AVAILABILITY ON INDUCED INNATE IMMUNE RESPONSE OF A FRUIT-EATING BAT (<i>CAROLLIA PERSPICILLATA</i>)	71
ABSTRACT.....	72
3 - INTRODUCTION	73
3.1 - MATERIAL AND METHODS	78
3.1.1 - <i>Capture and Maintenance</i>	78
3.1.2 - <i>Experimental conditions and immune challenge</i>	78
3.1.3 - <i>Food intake and body mass variation</i>	79
3.1.4 - <i>Bacterial killing ability</i>	80
3.1.5 - <i>Total white blood cells count and Neutrophil/Lymphocyte ratio</i>	81
3.1.6 - <i>Body temperature measurement</i>	81
3.2 - DATA ANALYSIS.....	81
3.3. RESULTS.....	82
3.3.1 - <i>Changes in food intake and mean body mass</i>	82
3.3.2 - <i>Changes in bacterial killing ability, total white blood cell count and neutrophil/lymphocyte ratio</i>	84
3.3.3 - <i>Changes in body temperature</i>	85
3.4 - DISCUSSION.....	86
3.5 - CONCLUSIONS	90
REFERENCES.....	91
SUPPORTING INFORMATION	98
4 - CONCLUSÕES GERAIS.....	104

1 - INTRODUÇÃO GERAL

Praticamente todos os organismos estão constantemente expostos a uma ampla gama de agentes patogênicos, e seu sistema imunológico desempenha um papel fundamental na mitigação dos potenciais efeitos deletérios de tal exposição (Acevedo-Whitehouse and Duffus 2009). Apesar do objetivo conservador de combater patógenos, as respostas imunes utilizadas pelos animais são bastante diversas, e profundamente moldadas por uma variedade de fatores fisiológicos, ecológicos, ambientais e evolutivos (Bowden, 2017). Os estudos que tentam compreender as causas e consequências de tal variação, em todos os níveis de organização biológica, aumentaram substancialmente nas últimas décadas, levando ao estabelecimento do campo da ecoimunologia (Brock et al. 2014; Downs et al. 2014; Schoenle et al. 2018).

Por exemplo, fisiologicamente, fatores neuroendócrinos, como hormônios, podem modular a imunidade e o comportamento, conduzindo a respostas adaptativas ou não, dependendo das necessidades do animal e do contexto ambiental (Demas & Ashley, 2017). Aves e mamíferos que habitam ambientes com maior densidade populacional e exposição a patógenos tendem a desenvolver respostas imunes mais robustas, refletindo pressões ecológicas específicas associadas ao risco de infecção (Downs et al., 2014). Alterações ambientais como temperatura, pH e poluentes (e.g. amônia, sulfato de cobre) reduzem significativamente a atividade imunológica de crustáceos, afetando sua capacidade de resistir a infecções bacterianas (Cheng & Chen, 2002). A coevolução entre hospedeiros e patógenos é um dos principais impulsionadores da diversidade no complexo principal de histocompatibilidade (MHC) em aves. Populações que habitam ambientes com alta carga patogênica exibem maior diversidade alélica nesses genes, o que lhes confere uma vantagem imunológica significativa ao permitir o reconhecimento de uma ampla gama de antígenos (Vinkler et al., 2022). O campo emergente da ecoimunologia integra essas múltiplas perspectivas, enfatizando como as pressões ambientais naturais moldam a imunidade. Essa abordagem difere do foco mecanicista da imunologia tradicional ao considerar a relevância ecológica e as estratégias adaptativas, permitindo uma visão mais abrangente da plasticidade imunológica e de seus impactos sobre a aptidão dos organismos em ambientes variáveis (Bowden et al., 2017; Vinkler et al., 2022).

Do ponto de vista metodológico, os estudos ecoimunológicos utilizaram algumas métricas que retratam a imunocompetência, ou seja, a capacidade do sistema imune de prevenir, combater ou eliminar agentes patogênicos (Demas et al. 2011; Schoenle et al. 2018). Os primeiros estudos ecoimunológicos tendiam a usar uma ou duas métricas imunológicas e interpretavam a variação medida como uma indicação da defesa antiparasitária geral (Saino & Calza 1999; Johnsen et al. 2000; Møller & Erritzoe 2000). Entretanto, o sistema imunológico é complexo e diferentes vias imunológicas são importantes para responder a diferentes parasitas (Schoenle et al. 2018). O reconhecimento da definição de imunocompetência como sendo ampla, e logisticamente difícil avaliá-la, fez com que o resultado dos ensaios fosse interpretado em razão dos componentes imunológicos específicos mensurados, não da imunocompetência em um sentido amplo geral (Martinet et al. 2006, Schoenle et al. 2018). Em última análise, as pesquisas ecoimunológicas utilizam usaram métodos adequados para medir respostas específicas de um determinado ramo do sistema imunológico (inato ou adaptativo – Bowden et al. 2017). Esses métodos variam de simples medições de sangue para analisar a quantidade de glóbulos brancos circulantes naturalmente e/ou a capacidade do sangue de matar bactérias, até métodos mais complexos que exigem desafiar o sistema imunológico com novos antígenos e, em seguida, medir a resposta (Assis et al. 2013; Bowers et al. 2017; Grindstaff and Merrill 2017).

A resposta inflamatória de fase aguda (RFA) é um componente central do sistema imunológico inato, e sua quantificação é amplamente utilizada para avaliar a resposta imunológica de diferentes espécies de animais (Merlo et al. 2016; Roy et al. 2016; Ramirez-Otarola et al. 2018). A técnica mais comum empregada para ativar RFA é a administração central ou periférica de lipopolissacarídeo (LPS; Rudaya et al. 2005; Cray et al. 2009; Sampath 2018). O LPS consiste em um componente imunogênico da membrana externa de bactérias gram-negativas que causa a liberação de citocinas pró-inflamatórias, que por sua vez desencadeia um conjunto de respostas comportamentais (diminuição da atividade, anorexia, adipsia) e fisiológicas (ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, febre e leucocitose; Lochmiller and Deerenberg 2000; Sampath 2018). A RFA é a primeira linha de defesa induzida usada por todos os animais em resposta a infecções, e esta resposta acelera a eliminação de patógenos e aumenta a ativação do sistema imunológico adaptativo, conferindo assim um benefício imediato no controle da infecção (Cray et al. 2009). Entretanto, acredita-se que a RFA tenha uma alta relação custo/benefício porque seu valor protetor é menor quando comparado com respostas constitutivas adaptativas, como aquelas

mediadas por leucócitos, e o custo energético de sua ativação é o mais alto de todas as defesas do sistema imunológico (Hasselquist e Nilsson, 2012; Martin et al., 2008).

Ecologicamente, a diversidade e intensidade da exposição a patógenos desempenham papéis fundamentais na modelagem das respostas imunológicas. Os animais frequentemente ajustam seu investimento imunológico com base na paisagem de patógenos que enfrentam, equilibrando os custos imunológicos com outros traços de história de vida, como reprodução e crescimento (Horrocks et al., 2012). As diferentes atividades executadas ao longo do dia (descanso versus busca por comida versus interações agressivas com membros da mesma espécie), alteram risco imediato de ferimentos e/ou encontro com patógenos, e consequentemente a alocação de recursos imunológicos pode ser alterada (Zylberberg 2015). Além disso, durante a fase ativa, quando os animais exploram o ambiente em busca de alimento, a probabilidade de contato com microrganismos patogênicos é maximizada (Scheiermann et al. 2012, 2013).

O contexto ecológico pode afetar fortemente a interpretação da mudança da força das respostas imunes na natureza, portanto, abordagens experimentais em ambientes controlados podem nos ajudar a desvendar os efeitos de fontes específicas de estresse (Pörtner et al. 2004; Portner and Farrell 2008; Chown et al. 2010; Somero 2010; Cooke et al. 2013). O custo energético global da RFA induzida por LPS e/ou a magnitude dos seus componentes comportamentais, fisiológicos e hormonais foram medidos em diversas espécies de aves e mamíferos em ambientes controlados. Embora praticamente todos os estudos tenham relatado um aumento na taxa metabólica e diminuição na ingestão alimentar e/ou na massa corporal após a inoculação com LPS a magnitude das respostas variou substancialmente entre as espécies (Burness et al. 2010; Marais et al. 2011; MacDonald et al. 2012; King and Swanson 2013; Langhans et al. 1990; Kozak et al. 1994; Koutsos and Klasing 2001; Coon et al. 2011). Por outro lado, nem todos os estudos relataram que o LPS desencadeia febre, ativação do eixo HPA e/ou leucocitose (Copeland et al. 2005; Krams et al. 2012; Stockmaier et al. 2015). Algumas destas diferenças refletem certamente diferenças específicas das espécies e dependem do contexto específico do estudo. No entanto, algumas destas diferenças podem refletir, até certo ponto, diferenças na dosagem de LPS (um proxy da carga patogênica) e no período de estimulação do sistema imune (período de atividade ou repouso).

Por exemplo, estudos com roedores, aves e anfíbios mostram que o período em que o LPS é administrado tem efeitos diferentes nos componentes da RFA induzida pelo LPS (Material Suplementar; Tabela 1). Em geral, quando o sistema imune dos animais é desafiado durante o

período ativo, eles respondem com uma maior diminuição da ingestão alimentar e da massa corporal, aumento do recrutamento de leucócitos e níveis mais elevados ou semelhantes de corticosterona. Em contrapartida, hipotermia e/ou febre ocorrem tanto durante os períodos ativos quanto de repouso (Material Suplementar; Tabela 1). Além disso, estudos com vários grupos de vertebrados mostram que as doses mais elevadas de LPS resultam em uma maior diminuição da ingestão alimentar e da massa corporal, níveis mais elevados de corticosterona e leucócitos, e uma resposta febril mais longa e mais forte, em alguns casos, precedida de hipotermia ou por uma resposta hipotérmica de longa duração (Material Suplementar; Tabela 2). A febre e a hipotermia têm sido sugeridas como duas estratégias alternativas para mitigar a infecção em aves e mamíferos. A hipotermia seria favorecida quando os animais enfrentassem um compromisso altamente exigente entre os benefícios e os custos da montagem de uma resposta febril (Romanovsky and Székely 1998; Ganeshan 2019; Steiner and Romanovsky 2019; Amaral-Silva et al. 2021). Portanto, a magnitude da ativação da RFA deve variar simultaneamente com o período de infecção e carga patogênica. Até onde sabemos, nenhum estudo tentou medir os efeitos combinados da dose e do período de injeção.

Ambientalmente, a função imunológica pode ser suprimida ou estimulada pela exposição a fatores que mudam rapidamente, como temperatura e disponibilidade de alimentos (Laughton et al. 2017; Ohmer et al. 2021). As variações na temperatura ambiente e disponibilidade de alimentos podem ter um impacto significativo nas interações patógeno-hospedeiro, pois afeta o desempenho do sistema imunológico, a virulência e a dinâmica populacional (Martin et al. 2006a; Kortet and Vainikka 2008). Sob a perspectiva das mudanças climáticas globais e uso do solo, o aumento da temperatura ambiente e redução na disponibilidade de alimentos são duas das consequências sinérgicas mais importantes das mudanças climáticas e da perda e fragmentação de habitats, ameaçando a diversidade global (Hansen et al. 2001; Mantyka-pringle et al. 2012). As mudanças climáticas afetam os fatores bióticos (e.g., mudanças na abundância de recursos, competidores e predadores) e abióticos (e.g., mudanças na temperatura e precipitação; Humphries et al. 2004). O uso do solo produz efeitos semelhantes, porém mais imediatos (Pereira et al. 2010), que podem agir sinergicamente com aqueles causados por mudanças climáticas (Mantyka-pringle et al. 2012). O aumento da susceptibilidade a doenças, ligado ao aquecimento global tem sido documentado em rãs (Rohr and Raffel 2010) e mamíferos marinhos (Kuiken et al. 2006). Por sua vez, o uso do solo tem sido associado à diminuição no desempenho do sistema imune e ao aumento dos níveis de

estresse em répteis (French et al. 2010), mamíferos (Johnstone et al. 2012) e aves (Pigeon et al. 2013).

Os efeitos do aumento da temperatura e da diminuição da disponibilidade de alimentos nas respostas imunes inatas e adquiridas induzidas tem sido examinado em ambientes controlados (Material Suplementar; Tabela 3 e 4). Tais estudos foram realizados principalmente em mamíferos e aves, talvez devido ao pressuposto de que a ativação da resposta imune é energeticamente dispendiosa e, como tal, pode ter um impacto muito amplo na energia dedicada a outras atividades relacionadas com a aptidão em animais endotérmicos. Por exemplo, aves com restrição alimentar apresentam diminuição da resposta mediada por células, níveis de anticorpos e proteínas de fase aguda (Material Suplementar; Tabela 3), enquanto temperaturas ambientes mais altas resultam em resposta febril exacerbada e diminuição dos níveis de anticorpos e macrófagos ativados (Material Suplementar; Tabela 4). Mamíferos com disponibilidade alimentar limitada apresentam resposta febril atenuada ou curta, anorexia atenuada, diminuição de citocinas pró-inflamatórias e aumento dos níveis de citocinas anti-inflamatórias, diminuição da resposta mediada por células e aumento da razão neutrófilos/linfócitos (Material Suplementar; Tabela 3). Além disso, a diminuição na disponibilidade de alimentos também provoca um menor aumento na contagem total de glóbulos brancos em alguns casos, entretanto a capacidade de matar bactérias e os anticorpos séricos não são afetados pela disponibilidade limitada de alimentos (Material Suplementar; Tabela 4). Por fim, em mamíferos, o aumento da temperatura ambiente resulta em anorexia atenuada, menor aumento nos níveis de citocinas pró-inflamatórias e haptoglobina, diminuição nos níveis de anticorpos e não afeta a magnitude da resposta febril na maioria dos casos (Material Suplementar; Tabela 4).

Nesse sentido, os resultados sugerem que o aumento da temperatura e a diminuição da disponibilidade de alimentos atenuam ou exacerbam a magnitude de alguns componentes associados ao seu repertório imune e, assim, podem ter um impacto negativo na capacidade das aves e mamíferos de manter uma resposta imune adequada. Entretanto, embora a temperatura ambiente e a disponibilidade de alimentos possam afetar simultaneamente o desempenho do sistema imunológico, até onde sabemos, apenas um estudo testou seu efeito combinado na resposta imune induzida (Khajavi et al. 2003). Este estudo mostra que frangos de corte comerciais criados a 39°C apresentam títulos de anticorpos mais baixos (contra glóbulos vermelhos de ovelha; SRBC) do que grupos equivalentes mantidos a 33°C, independentemente da disponibilidade de alimento. No entanto, aqueles indivíduos criados a 39°C sob restrição alimentar intermitente apresentam

títulos de anticorpos mais elevados do que os indivíduos alimentados *ad libitum* na mesma temperatura. Em última análise, estudos focados em processos inflamatórios da resposta imune inata são mais apropriados para examinar os efeitos das mudanças ambientais na resposta imune, uma vez que essas defesas imunológicas impactam claramente a resistência (e tolerância) de diversos parasitas, são mais propensas a sofrerem soluções de compromisso com outros processos fisiológicos, e são evolutivamente conservados (Martin et al. 2010).

A análise do repertório de resposta imune dos morcegos é fundamental para entender por que esta ordem hospeda uma grande variedade de patógenos sem mostrar sinais claros de desenvolvimento de doença na maioria dos casos (O'Shea et al. 2014, 2016; Moratelli and Calisher 2015; Kacprzyk et al. 2017). No período ativo os morcegos aumentam a sua exposição a agentes patogénicos durante a procura por alimentos (Wong et al. 2007; Patz et al. 2008; Kuzmin et al. 2011), enquanto o comportamento de agregação dentro dos seus abrigos e grooming no período de repouso aumentam o potencial de transmissão de agentes infecciosos (Mühldorfer 2013; White and Razgour 2020). Estudos que analisaram a RFA em morcegos examinaram apenas alguns de seus componentes durante períodos específicos e utilizando uma dose única de LPS para sua indução (Material Suplementar; Tabela 5). Nestes estudos, o LPS provocou febre quando administrado durante o período de repouso, mas não foi observada alteração na temperatura corporal quando administrado durante o período ativo. Alguns estudos relataram leucocitose após injeções de LPS durante o repouso ou período de atividade, enquanto outros não evidenciaram leucocitose durante o período de atividade ou período de repouso. A razão neutrófilos/linfócitos (N/L) aumentou após a injeção de LPS durante o período ativo em morcegos alimentados, enquanto durante o período de repouso, utilizando uma dose semelhante de LPS, a razão N/L aumentou apenas em morcegos privados de alimento. Embora alguns estudos tenham relatado perda de massa corporal 24 horas após a injeção de LPS e assumido que isso se devia em parte à anorexia, nem todos examinaram o efeito do LPS na taxa de ingestão alimentar, e apenas um avaliou essa resposta durante o período ativo.

Por outro lado, morcegos têm um potencial significativo como bioindicadores para medir a resposta das mudanças climáticas e do uso do solo na resposta imune, uma vez que, eles são reservatórios de uma série de doenças infecciosas (Jones et al. 2009), cuja disseminação pode estar relacionada ao estresse fisiológico associado a mudanças globais (Fenton et al. 2006). Por exemplo, morcegos frugívoros expostos a temperaturas extremas têm a sua mortalidade incrementada

(*Pteropus alecto*; Welbergen et al. 2008) e menor duração do sono (*Epomophorus wahlbergi*; Downs et al. 2015). Fragmentação e perda de habitat podem resultar em modificações no padrão de forrageio (Presley et al. 2009) e aumento de prevalências de patógenos (Cottontail et al. 2009). A Síndrome do Nariz Branco causada pelo patógeno fúngico *Pseudogymnoascus destructans* produziu declínios devastadores nas populações de morcegos da América do Norte (Sherwin et al. 2013) e a mortalidade de morcegos pode estar relacionada ao aumento dos níveis de estresse ambiental (Jones et al. 2009). Poucos estudos analisaram como a RFA em morcegos é afetada pela manipulação experimental das principais consequências das mudanças climáticas e do uso do solo: aumento da temperatura ambiental e redução na disponibilidade alimentar. Por exemplo, a diminuição na disponibilidade de alimentos atrasa as respostas metabólica e febril de morcegos que se alimentam de peixes (*Myotis vivesi*; Otálora-Ardila et al. 2017), enquanto morcegos frugívoros em jejum apresentam aumento da razão neutrófilos / linfócitos, menor perda de massa corporal e atraso na resposta metabólica (*Carollia perspicillata*; Cabrera-Martinez et al. 2019).

Neste contexto, o objetivo central do trabalho foi avaliar como a resposta imune inata de morcegos, especificamente a resposta imune de fase aguda, é a determinada pela carga patogênica e período de infecção (fatores ecológicos), bem como pela temperatura e disponibilidade de alimento (fatores ambientais). No Capítulo 1, o estudo avaliou a interação entre a magnitude da dose de lipopolissacarídeo (um proxy da carga patogênica) e o período de injeção (atividade e repouso) nos componentes comportamentais (ingestão de alimentos) e fisiológicos (febre, leucocitose, relação neutrófilos/linfócitos e massa corporal) da resposta de fase aguda (RFA), usando o morcego *Carollia perspicillata* como animal modelo. Os componentes da RFA foram avaliados no período de repouso (diurno) e no período de atividade (noturno) após a injeção de três doses de lipopolissacarídeo (LPS). Previmos que a magnitude da resposta dos componentes da RFA avaliados seria dependente da dose e/ou do período de estimulação. Esperávamos que as doses mais altas de LPS resultassem em uma maior redução da ingestão alimentar e perda de massa corporal, leucocitose e aumento da relação N/L, e que essas respostas fossem mais pronunciadas quando o LPS fosse injetado no início do período ativo. Esperávamos ainda que o LPS desencadeasse uma alteração dose-dependente na temperatura corporal durante os períodos de repouso e atividade, com as doses mais altas de LPS resultando em um aumento na magnitude e/ou duração dessa resposta. Entretanto, dada a ausência de uma resposta termorregulatória em morcegos durante o período ativo (Tabela 3) e a variedade de respostas termorregulatórias

observadas em pequenos roedores e pássaros após desafio imunológico durante os períodos ativo e de repouso (Tabela 1), não fizemos previsões sobre a direção da mudança da temperatura corporal (por exemplo, febre ou hipotermia).

No Capítulo 2 nós avaliamos os efeitos isolados e combinados da exposição à alta temperatura e baixa disponibilidade de alimentos sobre os componentes fisiológicos e comportamentais da RFA, utilizando o morcego *Carollia perspicillata* submetido a diferentes tratamentos de dieta e temperatura ambiente de curto prazo. Nós também avaliamos a capacidade bactericida do plasma (Bacterial Killing Assay - BKA), que representa a atividade antimicrobiana de proteínas humorais do sistema immune inato (Matson et al., 2006). O Capítulo 1 nos forneceu subsídios para a escolha da dose e período de indução do sistema imune. Ao desafiar o sistema imunológico sob diferentes tratamentos térmico-alimentar, testamos a hipótese de que a diminuição da disponibilidade de alimentos, o aumento da temperatura ambiente e o efeito combinado de ambos os fatores atenuariam ou exacerbariam o desempenho imunológico dos morcegos. Esperávamos que: a restrição alimentar resultaria em uma diminuição na magnitude da anorexia e da capacidade de matar bactérias, uma exacerbação na magnitude das mudanças na proporção neutrófilos/linfócitos e resposta pirogênica retardada, mas não afetaria a contagem de glóbulos brancos; o aumento da temperatura ambiente resultaria em uma diminuição na magnitude da anorexia, contagem de glóbulos brancos e capacidade de matar bactérias, e uma exacerbação na magnitude das mudanças na proporção neutrófilos/linfócitos, mas não esperávamos mudanças na resposta pirogênica; os efeitos combinados da restrição alimentar e do aumento da temperatura ambiente resultariam em maior atenuação na magnitude da anorexia, contagem de glóbulos brancos e capacidade de matar bactérias, e uma maior exacerbação das mudanças na proporção neutrófilos/linfócitos. Não fizemos previsões sobre a magnitude da resposta pirogênica para o efeito combinado da restrição alimentar e do aumento da temperatura ambiente. Mamíferos geralmente apresentam febre atenuada ou ausente quando o acesso aos alimentos é restrito, mas não quando mantidos em temperaturas ambientes mais altas (Tabelas 1 e 2),

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo-Whitehouse K. and A.L.J. Duffus. 2009. Effects of environmental change on wildlife health. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 364:3429–3438.
- Alonso-Alvarez C. and J.L. Tella. 2001. Effects of experimental food restriction and body-mass changes on the avian t-cell-mediated response. *Can J Zool* 79:101–105.
- Amaral-Silva L., H. Tazawa, K.C. Bicego, and W.W. Burggren. 2020. Metabolic and Hematological Responses to Endotoxin-Induced Inflammation in Chicks Experiencing Embryonic 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzodioxin Exposure. *Environ Toxicol Chem* 39:2208–2220.
- Amaral-Silva L. do., L.H. Gargaglioni, A.A. Steiner, M.T. Oliveira, K.C. Bicego, L. do Amaral-Silva, L.H. Gargaglioni, et al. 2021. Regulated hypothermia in response to endotoxin in birds. *J Physiol* 599:2969–2986.
- Armour E.M., T.L. Bruner, J.K. Hines, and M.W. Butler. 2020. Low-dose immune challenges result in detectable levels of oxidative damage. *J Exp Biol* 223:jeb220095.
- Assis V.R. de, S.C.M. Titon, A.M.G. Barsotti, B. Spira, and F.R. Gomes. 2013. Antimicrobial Capacity of Plasma from Anurans of the Atlantic Forest. *South Am J Herpetol* 8:155–160.
- Bartlett and M. Smith. 2003. Effects of different levels of zinc on the performance and immunocompetence of broilers under heat stress. *Poult Sci* 82:1580–1588.
- Bicego K.C., A.A. Steiner, J. Antunes-Rodrigues, and L.G.S. Branco. 2002. Indomethacin impairs LPS-induced behavioral fever in toads. *J Appl Physiol* 93:512–516.
- Bowden R.M., S.S. French, and G.E. Demas. 2017. Introduction to ecoimmunology: An integrative approach. *J Exp Zool Part A Ecol Integr Physiol* 327:219–221.
- Bowers E.K., S.K. Sakaluk, and C.F. Thompson. 2017. Interactive effects of parental age on offspring fitness and age-assortative mating in a wild bird. *J Exp Zool Part A Ecol Integr Physiol* 327:302–310.
- Bozinovic F., J.L.P. Muñoz, D.E. Naya, and A.P. Cruz-Neto. 2007. Adjusting energy expenditures to energy supply: Food availability regulates torpor use and organ size in the Chilean mouse-opossum *Thylamys elegans*. *J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol* 177:393–400.
- Brock P.M., C.C. Murdock, and L.B. Martin. 2014. The history of ecoimmunology and its integration with disease ecology. *Integr Comp Biol* 54:353–362.
- Burness G., C. Armstrong, T. Fee, and E. Tilman-Schindel. 2010. Is there an energetic-based trade-off between thermoregulation and the acute phase response in zebra finches? *J Exp Biol* 213:1386–1394.

- Butler M.W., E.N. Stierhoff, J.M. Carpenetti, M.A. Bertone, A.M. Adesso, and S.A. Knutie. 2021. Oxidative damage increases with degree of simulated bacterial infection, but not ectoparasitism, in tree swallow nestlings. *J Exp Biol* 224:jeb243116.
- Cabrera-Martinez L. V., L.G. Herrera M., and A.P. Cruz-Neto. 2019. Food restriction, but not seasonality, modulates the acute phase response of a Neotropical bat. *Comp Biochem Physiol -Part A Mol Integr Physiol* 229:93–100.
- Cabrera-Martínez L. V., M.L.G. Herrera, and A.P. Cruz-Neto. 2018. The energetic cost of mounting an immune response for Pallas's longtongued bat (*Glossophaga soricina*). *PeerJ* 2018:e4627.
- Campos P.H.R.F., E. Labussière, J. Hernández-García, S. Dubois, D. Renaudeau, and J. Noblet. 2014a. Effects of ambient temperature on energy and nitrogen utilization in lipopolysaccharide-challenged growing pigs1. *J Anim Sci* 92:4909–4920.
- Campos P.H.R.F., E. Merlot, M. Damon, J. Noblet, and N. Le Floc'h. 2014b. High ambient temperature alleviates the inflammatory response and growth depression in pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Vet J* 200:404–409.
- Canale C.I. and P.Y. Henry. 2011. Energetic costs of the immune response and torpor use in a primate. *Funct Ecol* 25:557–565.
- Cheng, W., & Chen, J.-C. 2002. Effects of Environmental Factors on the Immune Responses of Freshwater Prawn *Macrobrachium rosenbergii* and Other Decapod Crustaceans. 29(1), 1–19.
- Chown S.L., A.A. Hoffmann, T.N. Kristensen, M.J. Angilletta, N.C. Stenseth, and C. Pertoldi. 2010. Adapting to climate change: A perspective from evolutionary physiology. *Clim Res* 43:3–15.
- Conrad A., D.F. Bull, M.G. King, and A.J. Husband. 1997. The effects of lipopolysaccharide (LPS) on the fever response in rats at different ambient temperatures. *Physiol Behav* 62:1197–1201.
- Cooke S.J., L. Sack, C.E. Franklin, A.P. Farrell, J. Beardall, M. Wikelski, and S.L. Chown. 2013. What is conservation physiology? Perspectives on an increasingly integrated and essential science. *Conserv Physiol* 1:cot001–cot001.
- Coon C.A.C., R.W. Warne, and L.B. Martin. 2011. Acute-phase responses vary with pathogen identity in house sparrows (*Passer domesticus*). *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 300:1418–1425.
- Copeland S., H. Shaw Warren, S.F. Lowry, S.E. Galvano, and D. Remick. 2005. Acute inflammatory response to endotoxin in mice and humans. *Clin Diagn Lab Immunol* 12:60–67.
- Cottontail V.. M., N. Wellinghausen, and E.K.. K.V. Kalko. 2009. Habitat fragmentation and haemoparasites in the common fruit bat, *Artibeus jamaicensis* (Phyllostomidae) in a tropical

- lowland forest in Panamá. *Parasitology* 136:1133–1145.
- Cray C., J. Zaias, and N.H. Altman. 2009. Acute phase response in animals: A review. *Comp Med* 59:517–526.
- Cruz-Neto A.P. and K.. Jones. 2006. Exploring the evolution of the basal metabolic rate in bats. P. 360 in A. Zubaid, G.F.M. McCracken, and T.H. Kunz eds. *Funct Evol Ecol Bats*. Oxford University Press, New York.
- Cyrino J.C., A.C. De Figueiredo, M.O. Córdoba-Moreno, F.R. Gomes, and S.C.M. Titon. 2022. Day Versus Night Melatonin and Corticosterone Modulation by LPS in Distinct Tissues of Toads (*Rhinella Icterica*). *Integr Comp Biol* 62:1606–1617.
- Dantonio V., M.E. Batalh ã O, M.H.M.R. Fernandes, E.N. Komegae, G.A. Buqui, N.P. Lopes, L.H. Gargaglioni, et al. 2016. Nitric oxide and fever: Immune-to-brain signaling vs. thermogenesis in chicks. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 310:R896–R905.
- Demas, G. E., and Ashley, N. T. (2017). Introduction to the Special Issue on Neuroendocrine-Immune Interactions: Implications for Integrative and Comparative Physiologists. *Hormones and Behavior*, 87, 1
- Demas G.E. and R.J. Nelson. 2012. Introduction to ecoimmunology. Pp. 3–6 in G.E. Demas and R.J. Nelson eds. *Ecoimmunology*. Oxford: Oxford University Press.
- Demas G.E., D.A. Zysling, B.R. Beechler, M.P. Muehlenbein, and S.S. French. 2011. Beyond phytohaemagglutinin: Assessing vertebrate immune function across ecological contexts. *J Anim Ecol* 80:710–730.
- Do Amaral J.P.S., G.A. Marvin, and V.H. Hutchison. 2002. The influence of bacterial lipopolysaccharide on the thermoregulation of the box turtle *Terrapene carolina*. *Physiol Biochem Zool* 75:273–282.
- Downs C.J., J.S. Adelman, and G.E. Demas. 2014. Mechanisms and methods in ecoimmunology: Integrating within-organism and between-organism processes. *Integr Comp Biol* 54:340–352.
- Downs C.T., A. Awuah, M. Jordaan, L. Magagula, T. Mkhize, C. Paine, E. Raymond-Bourret, et al. 2015. Too hot to sleep? Sleep behaviour and surface body temperature of wahlberg's epauletted fruit bat. (B. Fenton, ed.) *PLoS One* 10:e0119419.
- Fenton M.B., M. Davison, T.H. Kunz, G.F. McCracken, P.A. Racey, and M.D. Tuttle. 2006. Linking Bats to Emerging Diseases. *Science* (80-) 311:1098–1099.
- Freeman G.H., S.E. Maxwell, and H.D. Delaney. 1991. Designing Experiments and Analysing Data: A Model Comparison Perspective. *Biometrics* (Vol. 47).
- French S.S., D.F. DeNardo, T.J. Greives, C.R. Strand, and G.E. Demas. 2010. Human disturbance alters endocrine and immune responses in the Galapagos marine iguana (*Amblyrhynchus*

- cristatus). *Horm Behav* 58:792–799.
- Ganeshan K. 2019. Getting enough energy for immunity. *Nat Rev Immunol* 19:269.
- Gautron L., R. Mingam, A. Moranis, C. Combe, and S. Layé. 2005. Influence of feeding status on neuronal activity in the hypothalamus during lipopolysaccharide-induced anorexia in rats. *Neuroscience* 134:933–946.
- Graener R. and J. Werner. 1986. Dynamics of endotoxin fever in the rabbit. *J Appl Physiol* 60:1504–1510.
- Grindstaff J.L. and L. Merrill. 2017. Developmental corticosterone treatment does not program immune responses in zebra finches (*Taeniopygia guttata*). *J Exp Zool Part A Ecol Integr Physiol* 327:262–272.
- Guerrero-Chacón A.L., D. Rivera-Ruiz, V. Rojas-Díaz, C. Triana-Llanos, and A. Niño-Castro. 2018. Metabolic cost of acute phase response in the frugivorous bat, *Artibeus lituratus*. *Mammal Res* 63:397–404.
- Haba R., N. Shintani, Y. Onaka, H. Wang, R. Takenaga, A. Hayata, A. Baba, et al. 2012. Lipopolysaccharide affects exploratory behaviors toward novel objects by impairing cognition and/or motivation in mice: Possible role of activation of the central amygdala. *Behav Brain Res* 228:423–431.
- Hansen A.J., R.P. Neilson, V.H. Dale, C.H. Flather, L.R. Iverson, D.J. Currie, S. Shafer, et al. 2001. Interactions between climate change and land use are projected to cause large shifts in biodiversity. *Bioscience* 51:765–779.
- Hasselquist D. and J.Å. Nilsson. 2012. Physiological mechanisms mediating costs of immune responses: What can we learn from studies of birds? *Anim Behav* 83:1303–1312.
- Hoi-Leitner M., M. Romero-Pujante, H. Hoi, and A. Pavlova. 2001. Food availability and immune capacity in serin (*Serinus serinus*) nestlings. *Behav Ecol Sociobiol* 49:333–339.
- Humphries M.M., J. Umbanhowar, and K.S. McCann. 2004. Bioenergetic prediction of climate change impacts on northern mammals. *Integr Comp Biol* 44:152–162.
- Inoue W., G. Somay, S. Poole, and G.N. Luheshi. 2008. Immune-to-brain signaling and central prostaglandin E2 synthesis in fasted rats with altered lipopolysaccharide-induced fever. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 295:133–143.
- Johnstone C.P., A. Lill, and R.D. Reina. 2012. Does habitat fragmentation cause stress in the agile antechinus? A haematological approach. *J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol* 182:139–155.
- Jones G., D.S. Jacobs, T.H. Kunz, M.R. Wilig, and P.A. Racey. 2009. Carpe noctem: The importance of bats as bioindicators. *Endanger Species Res* 8:93–115.

- Kacprzyk J., G.M. Hughes, E.M. Palsson-Mcdermott, S.R. Quinn, S.J. Puechmaille, L.A.J. O'Neill, and E.C. Teeling. 2017. A Potent Anti-Inflammatory Response in Bat Macrophages May Be Linked to Extended Longevity and Viral Tolerance. *Acta Chiropterologica* 19:219–228.
- Kamel N.N., A.M.H. Ahmed, G.M.K. Mehaisen, M.M. Mashaly, and A.O. Abass. 2017. Depression of leukocyte protein synthesis, immune function and growth performance induced by high environmental temperature in broiler chickens. *Int J Biometeorol* 61:1637–1645.
- Kelm D.H., J. Schaer, S. Ortmann, G. Wibbelt, J.R. Speakman, and C.C. Voigt. 2008. Efficiency of facultative frugivory in the nectar-feeding bat *Glossophaga commissarisi*: The quality of fruits as an alternative food source. *J Comp Physiol B Biochem Syst Environ Physiol* 178:985–996.
- Khajavi M., S. Rahimi, Z.M. Hassan, M.A. Kamali, and T. Mousavi. 2003. Effect of feed restriction early in life on humoral and cellular immunity of two commercial broiler strains under heat stress conditions. *Br Poult Sci* 44:490–497.
- Killpack T.L., E. Carrel, and W.H. Karasov. 2015. Impacts of short-term food restriction on immune development in altricial house sparrow nestlings. *Physiol Biochem Zool* 88:195–207.
- Kimura M., L.A. Toth, H. Agostini, A.B. Cady, J.A. Majde, and J.M. Krueger. 1994. Comparison of acute phase responses induced in rabbits by lipopolysaccharide and double-stranded RNA. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 267:R1596–R1605.
- King M.O. and D.L. Swanson. 2013. Activation of the immune system incurs energetic costs but has no effect on the thermogenic performance of house sparrows during acute cold challenge. *J Exp Biol* 216:2097–2102.
- Kortet R. and A. Vainikka. 2008. Seasonality of Innate Immunity; Evolutionary Aspects and Latest Updates. *New Res Innate Immun.*
- Koutsos E.A. and K.C. Klasing. 2001. The acute phase response in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Comp Biochem Physiol - C Toxicol Pharmacol* 128:255–263.
- Kozak W., C.A. Conn, and M.J. Kluger. 1994. Lipopolysaccharide induces fever and depresses locomotor activity in unrestrained mice. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 266:R125–R135.
- Krams I., J. Vrublevska, D. Cirule, I. Kivleniece, T. Krama, M.J. Rantala, E. Sild, et al. 2012. Heterophil/lymphocyte ratios predict the magnitude of humoral immune response to a novel antigen in great tits (*Parus major*). *Comp Biochem Physiol - A Mol Integr Physiol* 161:422–428.
- Kuiken T., S. Kennedy, T. Barrett, M.W.G. Van De Bildt, F.H. Borgsteede, S.D. Brew, G.A. Codd, et al. 2006. The 2000 canine distemper epidemic in Caspian seals (*Phoca caspica*): Pathology

- and analysis of contributory factors. *Vet Pathol* 43:321–338.
- Kuzmin I. V., B. Bozick, S.A. Guagliardo, R. Kunkel, J.R. Shak, S. Tong, and C.E. Rupprecht. 2011. Bats, emerging infectious diseases, and the rabies paradigm revisited. *Emerg Health Threats J* 4:7159.
- Langhans W., R. Harlacher, G. Balkowski, and E. Scharrer. 1990. Comparison of the effects of bacterial lipopolysaccharide and muramyl dipeptide on food intake. *Physiol Behav* 47:805–813.
- Laughton A.M., C.O. O'Connor, and R.J. Knell. 2017. Responses to a warming world: Integrating life history, immune investment, and pathogen resistance in a model insect species. *Ecol Evol* 7:9699–9710.
- Lee K.A. 2006. Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. *Integr Comp Biol* 46:1000–1015.
- Lochmiller R.L. and C. Deerenberg. 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: Just what is the cost of immunity? *Oikos* 88:87–98.
- MacDonald L., D. Begg, R.S. Weisinger, and S. Kent. 2012. Calorie restricted rats do not increase metabolic rate post-LPS, but do seek out warmer ambient temperatures to behaviourally induce a fever. *Physiol Behav* 107:762–772.
- MacDonald L., A. Hazi, A.G. Paolini, and S. Kent. 2014. Calorie restriction dose-dependently abates lipopolysaccharide-induced fever, sickness behavior, and circulating interleukin-6 while increasing corticosterone. *Brain Behav Immun* 40:18–26.
- Macdonald L., M. Radler, A.G. Paolini, and S. Kent. 2011. Calorie restriction attenuates LPS-induced sickness behavior and shifts hypothalamic signaling pathways to an antiinflammatory bias. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 301:R172–R184.
- Maloney S.K. and D.A. Gray. 1998. Characteristics of the febrile response in Pekin ducks. *J Comp Physiol - B Biochem Syst Environ Physiol* 168:177–182.
- Mantyka-pringle C.S., T.G. Martin, and J.R. Rhodes. 2012. Interactions between climate and habitat loss effects on biodiversity: A systematic review and meta-analysis. *Glob Chang Biol* 18:1239–1252.
- Marais M., S.K. Maloney, and D.A. Gray. 2011. Ambient temperature modulates the magnitude of LPS-induced fevers in Pekin ducks. *J Therm Biol* 36:121–127.
- Martin L.B., D.M. Hawley, and D.R. Ardia. 2011. An introduction to ecological immunology. *Funct Ecol* 25:1–4.
- Martin L.B., W.A. Hopkins, L.D. Mydlarz, and J.R. Rohr. 2010. The effects of anthropogenic global changes on immune functions and disease resistance. *Ann N Y Acad Sci* 1195:129–148.

- Martin L.B., Z.M. Weil, J.R. Kuhlman, and R.J. Nelson. 2006a. Trade-offs within the immune systems of female White-footed Mice, *Peromyscus leucopus*. *Funct Ecol* 20:630–636.
- Martin L.B., Z.M. Weil, and R.J. Nelson. 2006b. Refining approaches and diversifying directions in ecoimmunology. *Integr Comp Biol* 46:1030–1039.
- _____. 2008. Fever and sickness behaviour vary among congeneric rodents. *Funct Ecol* 22:68–77.
- Mathias S., T. Schiffelholz, A.C.E. Linthorst, T. Pollmächer, and M. Lancel. 2000. Diurnal variations in lipopolysaccharide-induced sleep, sickness behavior and changes in corticosterone levels in the rat. *Neuroendocrinology* 71:375–385.
- Matsuzaki J., M. Kuwamura, R. Yamaji, H. Inui, and Y. Nakano. 2001. Inflammatory Responses to Lipopolysaccharide Are Suppressed in 40% Energy-Restricted Mice. *J Nutr* 131:2139–2144.
- Melhado G., L.G. Herrera M., and A.P. da Cruz-Neto. 2020. Bats respond to simulated bacterial infection during the active phase by reducing food intake. *J Exp Zool Part A Ecol Integr Physiol* 333:536–542.
- Merlo J.L., A.P. Cutrera, and R.R. Zenuto. 2016. Food Restriction Affects Inflammatory Response and Nutritional State in Tuco-tucos (*Ctenomys talarum*). *J Exp Zool Part A Ecol Genet Physiol* 325:675–687.
- Moratelli R. and C.H. Calisher. 2015. Bats and zoonotic viruses: Can we confidently link bats with emerging deadly viruses? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:1–22.
- Moreno K.R., M. Weinberg, L. Harten, V.B. Salinas Ramos, L.G. Herrera M., G. Czirják, and Y. Yovel. 2021. Sick bats stay home alone: fruit bats practice social distancing when faced with an immunological challenge. *Ann N Y Acad Sci* 1505:178–190.
- Morrow J.D. and M.R. Opp. 2005. Diurnal variation of lipopolysaccharide-induced alterations in sleep and body temperature of interleukin-6-deficient mice. *Brain Behav Immun* 19:40–51.
- Mühldorfer K. 2013. Bats and Bacterial Pathogens: A Review. *Zoonoses Public Health* 60:93–103.
- Mul Fedele M.L., I. Aiello, C.S. Caldart, D.A. Golombek, L. Marpegan, and N. Paladino. 2020. Differential Thermoregulatory and Inflammatory Patterns in the Circadian Response to LPS-Induced Septic Shock. *Front Cell Infect Microbiol* 10:1–18.
- Niu Z.Y., F.Z. Liu, Q.L. Yan, and W.C. Li. 2009. Effects of different levels of vitamin E on growth performance and immune responses of broilers under heat stress. *Poult Sci* 88:2101–2107.
- Nomoto S. 1996. Diurnal variations in fever induced by intravenous LPS injection in pigeons. *Pflugers Arch Eur J Physiol* 431:987–989.
- O'Shea T.J., P.M. Cryan, A.A. Cunningham, A.R. Fooks, D.T.S. Hayman, A.D. Luis, A.J. Peel, et

- al. 2014. Bat Flight and Zoonotic Viruses. *Emerg Infect Dis* 20:741–745.
- O’Shea T.J., P.M. Cryan, D.T.S. Hayman, R.K. Plowright, and D.G. Streicker. 2016. Multiple mortality events in bats: A global review. *Mamm Rev* 46:175–190.
- Ohmer M.E.B., D. Costantini, G. Czirják, C.J. Downs, L. V. Ferguson, A. Flies, C.E. Franklin, et al. 2021. Applied ecoimmunology: Using immunological tools to improve conservation efforts in a changing world. *Conserv Physiol* 9:1–16.
- Otálora-Ardila A., L.G. Herrera M., J.J. Flores-Martínez, and K.C. Welch. 2016. Metabolic Cost of the Activation of Immune Response in the Fish-Eating Myotis (*Myotis vivesi*): The Effects of Inflammation and the Acute Phase Response. (M. L. Baker, ed.) *PLoS One* 11:e0164938.
- Otálora-Ardila A., M.L.G. Herrera, J.J. Flores-Martínez, and K.C. Welch. 2017. The effect of short-term food restriction on the metabolic cost of the acute phase response in the fish-eating Myotis (*Myotis vivesi*). *Mamm Biol* 82:41–47.
- Paksuz S., E.P. Paksuz, and B. Özkan. 2009. White Blood Cell (Wbc) Count of Different Bat (Chiroptera) Species. *Trak Univ J Sci* 10:55–59.
- Patz J.A., S.H. Olson, C.K. Uejio, and H.K. Gibbs. 2008. Disease Emergence from Global Climate and Land Use Change. *Med Clin North Am* 92:1473–1491.
- Pereira H.M., P.W. Leadley, V. Proença, R. Alkemade, J.P.W. Scharlemann, J.F. Fernandez-Manjarrés, M.B. Araújo, et al. 2010. Scenarios for Global Biodiversity in the 21st Century. *Science* (80-) 330:1496–1501.
- Portner H.O. and A.P. Farrell. 2008. Physiology and Climate Change. *Science* (80-) 322:690–692.
- Pörtner H.O., M. Langenbuch, and A. Reipschläger. 2004. Biological Impact of Elevated Ocean CO₂ Concentrations: Lessons from Animal Physiology and Earth History. *J Oceanogr* 60:705–718.
- Presley S.J., M.R. Willig, I. Castro-Arellano, and S.C. Weaver. 2009. Effects of Habitat Conversion on Temporal Activity Patterns of Phyllostomid Bats in Lowland Amazonian Rain Forest. *J Mammal* 90:210–221.
- Ramirez-Otarola N., M. Sarria, D.S. Rivera, P. Sabat, and F. Bozinovic. 2018. Ecoimmunology in degus: interplay among diet, immune response, and oxidative stress. *J Comp Physiol B* 189:143–152.
- Rohr J.R. and T.R. Raffel. 2010. Linking global climate and temperature variability to widespread amphibian declines putatively caused by disease. *Proc Natl Acad Sci* 107:8269–8274.
- Romanovsky A.A., V.A. Kulchitsky, N. V. Akulich, S. V. Koulchitsky, C.T. Simons, D.I. Sessler, and V.N. Gourine. 1996. First and second phases of biphasic fever: Two sequential stages of the sickness syndrome? *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 271.

- Romanovsky A.A., C.T. Simons, and V.A. Kulchitsky. 1998. “Biphasic” fevers often consist of more than two phases. *Am J Physiol - Regul Integr Comp Physiol* 275:323–331.
- Romanovsky A.A. and M. Székely. 1998. Fever and hypothermia: two adaptive thermoregulatory responses to systemic inflammation. *Med Hypotheses* 50:219–226.
- Roy S., V. Kumar, V. Kumar, and B.K. Behera. 2016. Acute Phase Proteins and their Potential Role as an Indicator for Fish Health and in Diagnosis of Fish Diseases. *Protein Pept Lett* 24:78–89.
- Rudaya A.Y., A.A. Steiner, J.R. Robbins, A.S. Dragic, and A.A. Romanovsky. 2005. Thermoregulatory responses to lipopolysaccharide in the mouse: dependence on the dose and ambient temperature. *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 289:R1244–R1252.
- Sampath V. 2018. Bacterial endotoxin-lipopolysaccharide; structure, function and its role in immunity in vertebrates and invertebrates. *Agric Nat Resour* 52:115–120.
- Scheiermann C., Y. Kunisaki, and P.S. Frenette. 2013. Circadian control of the immune system. *Nat Rev Immunol* 13:190–198.
- Scheiermann C., Y. Kunisaki, D. Lucas, A. Chow, J.-E.E. Jang, D. Zhang, D. Hashimoto, et al. 2012. Adrenergic nerves govern circadian leukocyte recruitment to tissues. *Immunity* 37:290–301.
- Schneeberger K., G.A. Czirjak, and C.C. Voigt. 2013. Inflammatory challenge increases measures of oxidative stress in a free-ranging, long-lived mammal. *J Exp Biol* 216:4514–4519.
- Schoenle L.A., C.J. Downs, and L.B. Martin. 2018. An Introduction to Ecoimmunology. Pp. 901–932 in *Adv Comp Immunol*. Springer International Publishing, Cham.
- Schulenburg H., J. Kurtz, Y. Moret, and M.T. Siva-Jothy. 2009. Introduction. *Ecological immunology*. *Philos Trans R Soc B Biol Sci* 364:3–14.
- Seiji Suzuki and Kiwao Nakano. 1986. Possible role of endogenous histamine in mediation of LPS-induced secretion of corticosterone in mice. *Biochem Pharmacol* 35:3039–3043.
- Seltmann A., S.A. Troxell, J. Schad, M. Fritze, L.D. Bailey, C.C. Voigt, and G.Á. Czirják. 2022. Differences in acute phase response to bacterial, fungal and viral antigens in greater mouse-eared bats (*Myotis myotis*). *Sci Rep* 12:15259.
- Sherwin H.A., W.I. Montgomery, and M.G. Lundy. 2013. The impact and implications of climate change for bats. *Mamm Rev* 43:171–182.
- Skold-Chiriac S., A. Nord, M. Tobler, J.-A. Nilsson, and D. Hasselquist. 2015. Body temperature changes during simulated bacterial infection in a songbird: fever at night and hypothermia during the day. *J Exp Biol* 218:2961–2969.

- Somero G.N. 2010. The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers.” *J Exp Biol* 213:912–920.
- Soto L., A.I. Martí, and S. Milla. 1998. Effects of endotoxin lipopolysaccharide administration on the somatotrophic axis 239–246.
- Speakman J.R. and E. Król. 2010. Maximal heat dissipation capacity and hyperthermia risk: neglected key factors in the ecology of endotherms. *J Anim Ecol* 79:no-no.
- Steiner A.A., J.C. Hunter, S.M. Phipps, T.B. Nucci, D.L. Oliveira, J.L. Roberts, A.C. Scheck, et al. 2009. Cyclooxygenase-1 or -2—which one mediates lipopolysaccharide-induced hypothermia? *Am J Physiol Integr Comp Physiol* 297:R485–R494.
- Steiner A.A. and A.A. Romanovsky. 2019. Energy Trade-offs in Host Defense: Immunology Meets Physiology. *Trends Endocrinol Metab* 30:875–878.
- Stockmaier S., D.I. Bolnick, R.A. Page, and G.G. Carter. 2018. An immune challenge reduces social grooming in vampire bats. *Anim Behav* 140:141–149.
- Stockmaier S., D.K.N. Dechmann, R.A. Page, and M.T. O’Mara. 2015. No fever and leucocytosis in response to a lipopolysaccharide challenge in an insectivorous bat. *Biol Lett* 11:20150576.
- Székel M. 1978. Endotoxin fever in the new-born guinea-pig and the modulating effects of indomethacin and p -chlorophenylalanine. *J Physiol* 281:467–476.
- Titon S.C.M., B. Titon, S.M. Muxel, A.C. de Figueiredo, F.R. Floreste, A.S. Lima, F.R. Gomes, et al. 2022. Day vs. night variation in the LPS effects on toad’s immunity and endocrine mediators. *Comp Biochem Physiol -Part A Mol Integr Physiol* 267:111184.
- Vinkler, M., Adelman, J. S., and Ardia, D. R. (2022). Evolutionary and ecological immunology (pp. 519–557)
- Voigt C.C., M. Fritze, O. Lindecke, D. Costantini, G. Pētersons, and G.Á. Czirják. 2020. The immune response of bats differs between pre-migration and migration seasons. *Sci Rep* 10:17384.
- Volkoff H. and R.E. Peter. 2004. Effects of lipopolysaccharide treatment on feeding of goldfish: Role of appetite-regulating peptides. *Brain Res* 998:139–147.
- Weise P., G.A. Czirják, O. Lindecke, S. Bumrungsri, and C.C. Voigt. 2017. Simulated bacterial infection disrupts the circadian fluctuation of immune cells in wrinkle-lipped bats (*Chaerephon plicatus*). *PeerJ* 5:e3570.
- Welbergen J.A., S.M. Klose, N. Markus, and P. Eby. 2008. Climate change and the effects of temperature extremes on Australian flying-foxes. *Proc R Soc B Biol Sci* 275:419–425.

- White R.J. and O. Razgour. 2020. Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. *Mamm Rev* 50:336–352.
- Wong S., S. Lau, P. Woo, and K.-Y. Yuen. 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Rev Med Virol* 17:67–91.
- Xu D.-L. and D.-H. Wang. 2010. Fasting suppresses T cell-mediated immunity in female Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol* 155:25–33.
- Xu D.L. and Y. Wang. 2023. Effect of gradual increase and decrease in temperature on innate, cellular and humoral immunity in striped hamsters. *Mamm Biol* 103:265–276.
- Yang D.-B., Y.-C. Xu, D.-H. Wang, and J.R. Speakman. 2013. Effects of reproduction on immunosuppression and oxidative damage, and hence support or otherwise for their roles as mechanisms underpinning life history trade-offs, are tissue and assay dependent. *J Exp Biol*.
- Zimmerman L.M., R.M. Bowden, and L.A. Vogel. 2014. A vertebrate cytokine primer for eco-immunologists. (B. Tschirren, ed.) *Funct Ecol* 28:1061–1073.

4 - CONCLUSÕES GERAIS

As respostas imunes dos animais são moldadas por uma complexa interação de fatores fisiológicos, ecológicos e evolutivos. A resposta imune de fase aguda (RFA), como primeira linha de defesa frente a infecções, desempenha um papel crucial na rápida contenção de patógenos e ativação do sistema imunológico adaptativo. Compreender como esta resposta é modulada em morcegos é fundamental, dado o seu papel singular como hospedeiros de diversos patógenos zoonóticos e sua sensibilidade a alterações ambientais. Nesta tese, investigamos experimentalmente como fatores ecológicos (período de atividade vs. repouso e dose de LPS como proxy da carga patogênica) e ambientais (temperatura e disponibilidade alimentar) influenciam os componentes fisiológicos e comportamentais da resposta imune de fase aguda (RFA) no morcego *Carollia perspicillata*.

Os resultados obtidos no Capítulo 1 demonstram que tanto a dose de LPS quanto o período circadiano de inoculação modulam a intensidade e direção dos componentes comportamentais e fisiológicos da RFA, corroborando com o pressuposto de que animais podem ajustar seu investimento imunológico com base na paisagem de patógenos que enfrentam ao longo das do dia. Esses achados reforçam a visão de que a alocação de recursos imunológicos não ocorre de forma homogênea ao longo do dia, mas sim em resposta a pressões ecológicas específicas, maximizando a eficiência do sistema imunológico. Entretanto, a resposta termorregulatória parece ser menos sensível a doses elevadas de LPS, sugerindo que essa espécie não enfrenta grandes soluções de compromissos entre os benefícios e os custos de montar uma resposta febril.

No Capítulo 2, os resultados observados sob condições simuladas de temperatura ambiental elevada e restrição alimentar demonstram que os principais componentes da RFA, assim como a capacidade bactericida do plasma, não foram significativamente afetados no curto prazo. Essa estabilidade na resposta imune sugere que a espécie é capaz de sustentar uma resposta imune de fase aguda eficaz mesmo sob variações ambientais temporárias, o que é essencial para sua sobrevivência em ambientes naturais sujeitos a mudanças rápidas e adversas, como aquelas induzidas pelas mudanças climáticas e pela fragmentação de habitats. Embora os resultados corroborem com observações anteriores de que esta espécie é resiliente a mudanças antropogênicas, não descartamos que uma exposição de longo prazo a esses fatores e/ou aumento da magnitude possam alterar a direção e a magnitude dessas respostas, o estado de saúde e, conseqüentemente, a interação hospedeiro-patógeno.

Esta tese fornece contribuições relevantes para o campo da ecoimunologia ao demonstrar, de forma experimental, como múltiplos fatores podem determinar a magnitude e/ou direção da resposta imune de fase aguda em morcegos. Os resultados evidenciam que a RFA em morcegos é sensível a variações ecológicas específicas, mas notavelmente resiliente a variações ambientais específicas. Ressalta-se, contudo, a importância de estudos futuros que avaliem os efeitos cumulativos e de longo prazo desses estressores. Esses insights são particularmente relevantes em um cenário de mudanças ambientais globais, onde a habilidade de ajustar as respostas imunes a múltiplos estressores pode ser crucial para sua sobrevivência e conservação. A abordagem adotada também amplia a representatividade taxonômica da ecoimunologia, tradicionalmente centrada em aves e pequenos mamíferos terrestres, incluindo agora um morcego frugívoro tropical como modelo funcionalmente relevante para estudos comparativos.