



Interações simbióticas entre micro-organismos e insetos

Weilan Gomes da Paixão Melo^a, Camila Fiori Pereira^a, Taise Tomie Hebihara Fukuda^a e Mônica Tallarico Pupo^a

^a Universidade de São Paulo, Avenida do Café, s/n, Ribeirão Preto, SP, CEP: 14040-903, Brasil. E-mails: mtpupo@fcfrp.usp.br, weilan@usp.br, camila.fiori.pereira@usp.br, taise.fukuda@usp.br

Informação do artigo

Editor Chefe: R.F.A.Veiga
Editor Nº Especial: F.V.D.Souza
Ano: 2019
Volume: 5
Número: 1
Página: 48-56

Palavras-chave:

Bactérias
Ecologia
Fungos
Produtos naturais
Simbiose

RESUMO

Relações simbióticas entre micro-organismos e insetos são comuns na natureza e têm sido estudadas extensivamente sob aspectos biológicos e, mais recentemente, químicos. Os insetos ocupam uma gama diversa de nichos ecológicos, muitas vezes facilitados por seus micro-organismos simbiotes, de modo que esses podem influenciar a ecologia e a evolução de seus hospedeiros de várias maneiras, incluindo o provisionamento de recursos metabólicos escassos e proteção contra parasitas e predadores. Estudos sobre a associação defensiva entre insetos e micro-organismos, através de uma impressionante variedade de defesas químicas, têm levado a descoberta de inúmeros produtos naturais bioativos, os quais desempenham um papel ecológico em seus nichos e se mostram promissores na descoberta de novos compostos ativos contra patógenos humanos. Aqui, nós mostramos a interação entre insetos e micro-organismos simbiotes e a descoberta de produtos naturais a partir dessa simbiose.

ABSTRACT

(Symbiotic interactions between microorganisms and insects) Symbiotic relationships between microorganisms and insects are common in nature and have been studied extensively under biological and, more recently, chemical aspects. Insects occupy a diverse range of ecological niches, often facilitated by their symbiotic microorganisms, so that they can influence the ecology and evolution of their hosts in a variety of ways, including provision of scarce metabolic resources and protection against parasites and predators. Studies of the defensive association between insects and microorganisms, through an impressive array of chemical defenses, have led to the discovery of numerous bioactive natural products, which play an ecological role in their niches and show high potential in the discovery of new active compounds against human pathogens. Here, we show the interaction between insects and symbiotic microorganisms and the discovery of natural products from this symbiosis.

Insetos e micro-organismos

Os insetos são colonizados por micro-organismos patogênicos ou benéficos. Em geral, um inseto é composto por múltiplos habitats para micro-organismos, sendo a cutícula externa e o intestino os mais acessíveis (DOUGLAS, 2015). Os micróbios podem influenciar a ecologia e a evolução de seus hospedeiros de várias maneiras, incluindo relacionamentos benéficos ou prejudiciais em um evento conhecido como simbiose. A simbiose, definida pela primeira vez por De Bary em

1879, é um termo amplo que é usado para descrever a "convivência" de longo período entre diferentes espécies (BARY, 1879). Normalmente, o parceiro menor e dependente é chamado de simbiote, enquanto o parceiro maior é chamado de hospedeiro. O efeito que o simbiote tem sobre o hospedeiro define o tipo de relação simbiótica observada. Tradicionalmente, três formas de simbiose são reconhecidas: mutualismo, comensalismo e parasitismo. Um simbiote pode afetar seu hospedeiro de diferentes maneiras ao longo do tempo ou em resposta ao ambiente

externo. A simbiose pode ser encontrada em todos os reinos da vida sendo crucial nos processos biológicos (BROWNLIE; JOHNSON, 2009).

Micro-organismos simbiotes de insetos incluem bactérias, arqueias, fungos e outros eucariontes unicelulares, que podem proteger seus insetos hospedeiros contra patógenos, parasitoides e outros parasitas sintetizando toxinas específicas ou modificando o sistema imunológico do inseto, além de promover a aptidão dos insetos ao contribuir para a nutrição, especialmente fornecendo aminoácidos essenciais, vitaminas B e, no caso de parceiros fúngicos, esteróides (NASIR; NODA, 2003; DOUGLAS, 2015; PALUDO et al., 2018). Há evidências crescentes de que os insetos recrutam micro-organismos para protegerem suas crias, suas fontes de alimento ou a eles mesmos contra infecções, incluindo principalmente grupos de bactérias como *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* e fungos como ascomicetos, especialmente das ordens *Hypocreales* e *Saccharomycetales* (KALTENPOTH, 2009; SEIPKE; KALTENPOTH; HUTCHINGS, 2012; DOUGLAS, 2015). Vários desses parceiros microbianos, e particularmente membros do filo *Actinobacteria*, são conhecidos por função protetora que conferem às suas espécies hospedeiras.

As simbioses defensivas documentadas até hoje entre insetos e micróbios incluem insetos como besouros, vespas, abelhas, formigas, cupins, etc. Por exemplo, foi demonstrado que as vespas fêmeas solitárias nos gêneros *Philanthus*, *Trachypus* e *Philanthinus* cultivam a espécie *Candidatus Streptomyces philanthi* em glândulas especializadas nas antenas, que são usadas para espalhar as bactérias sobre a superfície de suas células antes da fêmea colocar seus ovos (KALTENPOTH et al., 2005, 2012). Essas vespas paralisam abelhas ou outras presas que levam para tocas subterrâneas como alimento para suas larvas. Antes de depositar seus ovos, elas aplicam bactérias a essas câmaras subterrâneas e as larvas eventualmente assimilam essas bactérias e as distribuem em seus casulos. As actinobactérias conferem às larvas proteção contra infecções quando dentro das células de cria, em que há condições ótimas para o crescimento de micro-organismos patogênicos. Em apoio a isso, a bactéria simbiote *Streptomyces* produz um coquetel diversificado de diferentes compostos antimicrobianos, incluindo o antifúngico piericidina e o antibacteriano estreptoclorina, que são capazes de inibir uma série de micro-organismos patogênicos (KROISS et al., 2010, KOEHLER; DOUBSKÝ; KALTENPOTH, 2013).

Um outro exemplo é o gorgulho da folha *Euops chinensis*, que enrola pedaços de folhas dentro dos quais depositam seus ovos. Eles inoculam estes rolos de folhas com um fungo específico (*Penicillium herquei*), cuja presença promove a sobrevivência das larvas. Este fungo simbiótico não parece proporcionar um benefício nutricional às larvas, mas tem atividade antifúngica protetora. Culturas deste *Penicillium* levaram à identificação do antibiótico escleroderolídeo como agente antimicrobiano, que é ativo contra uma variedade de fungos, tanto ascomicetos como basidiomicetos, isolados a partir de rolinhos foliares (LI; GUO; DING, 2012; WANG et al., 2015).

Diferentemente do gorgulho da folha *Euops chinensis*, o besouro-do-pinheiro-do-sul *Dendroctonus frontalis* cultiva seu próprio fungo como alimento, escavando galerias na casca interna de pinheiros, nas quais inocula com o fungo basidiomiceto *Entomocorticium*. As larvas de besouros se alimentam apenas desse fungo, que é armazenado em compartimentos chamados micangias (RAMADHAR et al., 2014). O fungo ascomiceto *Ophiostoma minus* é um antagonista no sistema e pode competir negativamente, impactando a sobrevivência das larvas. Foi observado que bactérias do gênero *Streptomyces* produzem um antifúngico, o qual foi denominado micangimicina, que inibe o fungo antagonista *Ophiostoma*, mas não o fungo mutualista *Entomocorticium*, sugerindo um papel defensivo que sustenta o mutualismo fungo-besouro (SCOTT et al., 2008; OH et al., 2009; RAMADHAR et al., 2014).

Além dos exemplos citados, associações entre micro-organismos e insetos sociais também são mostrados aqui. Insetos sociais são caracterizados pela presença de divisão reprodutiva do trabalho, cuidado da cria e sobreposição de geração de indivíduos da mesma colônia (HÖLLDOBLER; WILSON, 2009). O estilo de vida desses insetos que vivem em sociedade representa uma oportunidade para patógenos e parasitas explorarem meios de dispersão entre membros da colônia. As respostas de defesa para esses micro-organismos invasores são estratégias coletivas de higiene, controle e eliminação dos parasitas. Além disso, associações microbianas benéficas que aumentam as defesas imunológicas integrais e ajudam a fornecer proteção contra patógenos através da competição microbiana, estimulando respostas imunes, e também através da secreção de compostos antimicrobianos (MATARRITA-CARRANZA et al., 2017) (Figura 1).

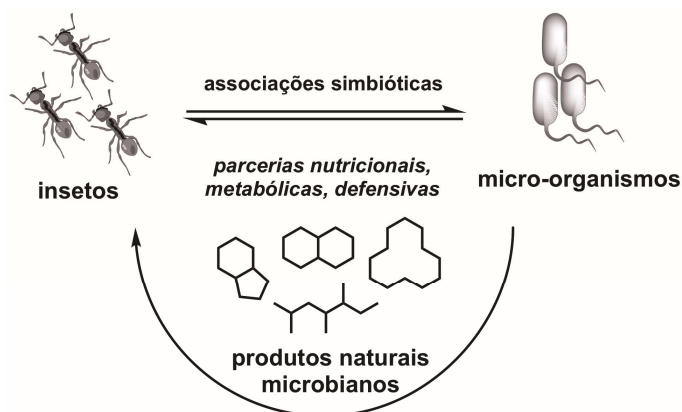


Figura 1. Interações simbióticas entre insetos e micro-organismos.

Interações entre formigas Attine e micro-organismos

A associação que existe entre as formigas Attine, seu fungo alimento, o parasita *Escovopsis* e actinobactérias produtoras de antibióticos que protegem o jardim de fungos da invasão por patógenos, é um dos exemplos mais bem estudados de uma simbiose altamente integrada (CURRIE et al., 1999; CURRIE, 2001; CURRIE; BOT; BOOMSMA, 2003; KOST et al., 2007; MUELLER et al., 2008). Essas formigas desenvolveram a fungicultura (cultivo de fungo para seu alimento) há cerca de 50 e 60 milhões de anos atrás e, desde então, diversificaram-se em mais de 230 espécies (MUELLER; GERARDO, 2002). Dentro da tribo Attini, as formigas cortadeiras *Atta* e *Acromyrmex* são as mais abundantes e fornecem material vegetal fresco para o fungo basidiomiceto *Leucoagaricus gongylophorus*, que produz corpos ricos em nutrientes chamados gongilídios que as formigas colhem para alimentação (CURRIE, 2001; MUELLER et al., 2008, BARKE et al., 2010, 2011). Além de nutrientes, as formigas também fornecem alguma proteção contra patógenos, por meio da remoção mecânica de esporos contaminantes que atingem os ninhos com o material coletado, bem como a produção e disseminação de compostos antimicrobianos produzidos em suas glândulas metapleurais (POULSEN; BOT; BOOMSMA, 2003) e glândulas mandibulares (MARSARO JÚNIOR et al., 2001; RODRIGUES et al., 2008).

As formigas Attine também abrigam uma actinobactéria filamentosa do gênero *Pseudonocardia* em suas cutículas que produzem antibióticos que inibem o crescimento do parasita *Escovopsis* (CURRIE et al., 1999; CURRIE; BOT; BOOMSMA, 2003). *Pseudonocardia* se agrupa em regiões específicas na cutícula das formigas que foram identificadas como criptas cuticulares apoiadas pelas glândulas exócrinas, sugerindo que as bactérias são, via secreções glandulares, supridas com nutrientes da

formiga em troca da produção de compostos antimicrobianos (CURRIE et al. 2006; STEFFAN et al., 2015). Geralmente, uma única linhagem de *Pseudonocardia* é transmitida verticalmente entre gerações e novas operárias são inoculadas pelas adultas mais velhas num período curto de 24 horas após a eclosão (MARSH et al., 2014), e assim a resistência das colônias de formigas aumenta frente ao *Escovopsis*, devido às substâncias antimicrobianas derivadas de bactérias, o que, por sua vez, melhora a probabilidade de transmissão bacteriana para a próxima geração (BARKE et al., 2011). Essa estreita relação entre o hospedeiro e a *Pseudonocardia* provavelmente permitiu que uma “corrida armamentista” surgisse com o patógeno *Escovopsis*, ajudando a explicar os níveis aparentemente baixos de resistência observada (CURRIE et al., 1999). As actinobactérias mutualistas *Pseudonocardia* geralmente produzem antifúngicos como dentigeromicina, selvamicina e nistatina P1, entre outros, que podem ter evoluído como resultado dessa estreita simbiose defensiva (OH et al., 2009; BARKE et al., 2010; VAN ARNAM et al., 2016; VAN ARNAM; CURRIE; CLARDY, 2018).

Desde a descrição de *Pseudonocardia* como mutualista neste sistema, outras espécies produtoras de antibióticos também foram isoladas da cutícula das formigas, algumas das quais também inibem o crescimento de *Escovopsis* e outras espécies patogênicas (KOST et al., 2007; HAEDER et al., 2009; BARKE et al., 2010; SEIPKE et al., 2011). Vários membros do gênero *Streptomyces* também se associam com formigas cortadeiras, embora com um alto nível de variabilidade entre diferentes colônias da mesma espécie de formiga. Essas descobertas, de um microbioma cuticular mais diversificado, levaram à sugestão de que as formigas cortadeiras poderiam estar ativamente e dinamicamente recrutando uma diversidade de outros simbiontes bacterianos (não *Pseudonocardia*) produtores de antibióticos do seu ambiente (MUELLER et al., 2008; BARKE et al., 2010; ANDERSEN et al., 2013). Acredita-se que as criptas cuticulares podem ter evoluído para permitir que as formigas se beneficiem de vários simbiontes microbianos com diversas atividades, permitindo a defesa contra diferentes patógenos e ajudando a restringir a evolução da resistência patogênica. Também foi proposto que os antibióticos produzidos por *Pseudonocardia* mutualista transmitida verticalmente podem ajudar a moldar a composição do microbioma cuticular em formigas operárias adultas (BARKE et al., 2011; SCHEURING; YU, 2012).

Os micro-organismos associados às formigas *Attine* podem desempenhar outras funções além da produção de compostos antimicrobianos. Um estudo recente sugere que os feromônios de formigas deixados nas trilhas de comunicação podem ter origem bacteriana. A bactéria *Serratia marcescens* encontrada na microbiota associada à espécie de formiga cortadeira *Atta sexdens rubropilosa* produz as mesmas pirazinas usadas pelas formigas para estabelecer uma trilha até seu ninho. Este estudo representa o primeiro relato de uma bactéria associada à formiga cortadeira que é capaz de produzir pirazinas previamente identificadas como feromônios de trilha do hospedeiro *A. sexdens rubropilosa* (SILVA-JUNIOR et al., 2018). As mesmas pirazinas já foram descritas como feromônios de alarme em formigas ponerine (MORGAN et al., 1999), evidenciando a necessidade de estudos mais aprofundados da microbiota associada e sua possível contribuição na biossíntese de feromônios.

Interações entre abelhas e micro-organismos

Diversas espécies de abelhas também apresentam as características de insetos eussociais, porém os estudos acerca da simbiose microbiana nestes insetos ainda são mais escassos quando comparados a formigas da tribo Attini. Um grande número de actinobactérias foi isolado a partir de células de cria, materiais da colmeia e amostras de abelhas adultas de espécies dos gêneros *Apis* e *Trigona* em um estudo realizado por Promnuan, Kudo e Chantawannakul (2009). Duas novas espécies de *Streptomyces* também foram isoladas da abelha sem ferrão do sudeste asiático, *Tetragonilla collina* (PROMNUAN et al., 2013). Vários desses isolados bacterianos apresentaram atividade inibitória contra as espécies patogênicas de bactérias *Paenibacillus larvae* e *Melissococcus plutonius*, que são os principais agentes causadores da doença cria pútrida americana e europeia, respectivamente (PROMNUAN; KUDO; CHANTAWANNAKUL, 2009). No entanto, ainda não foi demonstrado se a presença dessas espécies de *Streptomyces* é necessária para reduzir a infecção por esses patógenos e, portanto, que sua presença nas colônias pode ser uma adaptação evolutiva por parte das abelhas.

Em um estudo sobre as evidências de associações generalizadas entre insetos himenópteros neotropicais e actinobactérias, foram isoladas 12 linhagens de actinobactérias da abelha sem ferrão *Tetragonisca angustula* (Meliponinae), a partir de abelhas adultas, larvas, favo de mel e pólen. Este estudo fornece evidências de antagonismo entre algumas linhagens de

actinobactérias e fungos entomopatogênicos e apoia a ideia de que certos insetos podem usar alguns dos metabólitos secundários ativos de actinobactérias associadas como um mecanismo adicional de proteção contra inimigos naturais (MATARRITA-CARRANZA et al., 2017).

As abelhas *Apis mellifera* também são capazes de inibir os patógenos *P. larvae*, *M. plutonius* e outros. Essas abelhas abrigam uma comunidade bacteriana altamente específica em seus intestinos e nas células de cria onde suas larvas se desenvolvem. Membros desta comunidade bacteriana, especialmente bactérias lácticas, parecem ter um efeito protetor contra a doença cria pútrida americana e europeia em larvas em desenvolvimento. Alguns desses isolados bacterianos produzem bacteriocinas, que podem ser responsáveis por essa atividade inibitória (VAN ARNAM; CURRIE; CLARDY, 2018).

A associação entre abelhas e micro-organismos vai além da proteção contra patógenos dentro de suas colmeias. O cultivo de fungos na colônia para alimentação pode também ser uma prática comum entre as abelhas sem ferrão. As larvas recém-nascidas de *Scaptotrigona depilis*, uma espécie de abelha sem ferrão nativa do Brasil, se alimentam de filamentos de um fungo cultivado nas células de cria, a fim de continuar o desenvolvimento (MENEZES et al., 2015). Este fungo é um membro do gênero *Zygosaccharomyces* e fornece precursores esteroidais, como ergosterol, essenciais para a abelha em desenvolvimento. Ensaios de cultivo larval *in vitro* demonstraram que a maioria das larvas completou a morfogênese até pupa, e posteriormente jovem adulto, quando o alimento larval foi inoculado com o fungo e quando apenas o ergosterol foi adicionado. Análises filogenéticas mostraram que casos similares de simbiose mutualista íntima entre abelhas e fungos *Zygosaccharomyces* podem existir. Este caso sem precedentes de simbiose entre abelhas e fungos, impulsionado pela exigência de esteróides, traz novas perspectivas em relação à interação e preservação de polinizadores-microbiota (PALUDO et al., 2018).

Interações entre cupins e micro-organismos

Embora as formigas cortadeiras tenham sido bem estudadas, elas não são os únicos insetos a cultivar um fungo usando material vegetal, ou a fazerem uso de produtos naturais produzidos por actinobactérias. Os cupins que cultivam fungos consomem o material vegetal seco e, em seguida, alimentam seu fungo cultivar com o

material fecal contendo plantas. Este fungo é semelhante ao fungo simbiote das formigas Attine - *L. gongylophorus* - que evoluiu para produzir corpos de frutificação que são colhidos como alimento pelos cupins (RAMADHAR et al., 2014). Esses cupins cultivadores de fungo são encontrados em toda a África e Ásia e têm se envolvido em uma relação simbiótica com o fungo cultivar basidiomiceto do gênero *Termitomyces* por aproximadamente 30 milhões de anos (AANEN; EGGLETON, 2005). Fungos ascomicetos como *Pseudoxylaria* e *Trichoderma* são comuns nesses cupinzeiros onde se acredita que sejam competidores do fungo cultivado pelos cupins. As estruturas de favo de fungo dentro desses ninhos abrigam ricas comunidades bacterianas que são pelo menos parcialmente derivadas do intestino dos cupins (VISSER et al., 2012; OTANI et al., 2014; 2016; AYLWARD et al., 2014). Linhagens do gênero *Bacillus* com atividade antifúngica foram isoladas de cupins e do favo de fungos, tanto do cupim asiático cultivador de fungo *Odontotermes formosanus*, quanto do cupim africano *Macrotermes natalensis* (MATHEW et al., 2012; UM et al., 2013). Os isolados de *Bacillus* de ambas as espécies de cupins inibem seletivamente os prováveis patógenos *Pseudoxylaria* e *Trichoderma*, mas não o fungo cultivar basidiomiceto, e esta atividade foi atribuída ao antifúngico bacillaeno A nas linhagens de *Bacillus* derivadas de *M. natalensis* (UM et al., 2013).

As actinobactérias são frequentemente isoladas de ninhos de cupins cultivadores de fungos e, embora seu papel ecológico não seja claro, elas têm sido uma fonte altamente produtiva para a descoberta de produtos naturais. Essas bactérias não parecem ser específicas para cupins e, embora geralmente exibam atividade antifúngica, uma amostragem em larga escala dessas bactérias revelou que a inibição de cultivares é mais frequente do que a inibição por *Pseudoxylaria* (VISSER et al., 2012). Os isolados de *Streptomyces* de colônias do cupim da África do Sul *M. natalensis* produziram vários compostos novos interessantes. A investigação de uma linhagem de *Streptomyces* com atividade antifúngica especialmente forte levou à descoberta da natalamicina A, um antifúngico altamente incomum e a geldamicina e análogos, que apresentaram atividade contra o fungo parasita *Pseudoxylaria* (KIM et al., 2014). Uma triagem de 30 linhagens de *Streptomyces* de um cupim cultivador de fungo diferente da África do Sul, *Microtermes* sp., levou à identificação dos compostos microtermolida A e microtermolida B, os quais não apresentaram atividade antibacteriana e antifúngica (CARR et al., 2012).

Interessantemente, um isolado do fungo patogênico *Pseudoxylaria* de uma colônia sul-africana de *Microtermes* sp. possui atividade antagonista contra o cultivar *Termitomyces* em ensaios *in vitro*. Embora os compostos responsáveis por essa atividade antifúngica ainda não tenham sido identificados, esse fungo também produz uma série de compostos antibacterianos, incluindo a pseudoxilallemicina B (GUO et al., 2016).

Além de linhagens de *Streptomyces*, um recente trabalho relatou o isolamento da linhagem de *Amycolatopsis* M39 de uma colônia de *M. natalensis*, que inibiu seletivamente o fungo patogênico *Pseudoxylaria*, mas não inibiu o fungo simbiote *Termitomyces*. Esta atividade foi atribuída aos novos antifúngicos macrotermicina A e macrotermicina C (BEEMELMANN et al., 2017).

Assim, como na simbiose das formigas Attine, o microbioma associado aos cupins cultivadores de fungo possui um enorme potencial químico e biológico a ser explorado, os quais biosintetizam produtos naturais bioativos envolvidos nas atividades antibacterianas e antifúngicas de seu nicho.

Interações entre mirmecófitas e micro-organismos

A simbiose entre formigas e plantas mirmecófitas é outro exemplo de interação bem estabelecida. Ao longo dos trópicos existem diversas espécies de formigas que nidificam exclusivamente o interior de mirmecófitas, podendo ser citado como exemplos as associações, *Acacia-Pseudomyrmex*, *Cecropia-Azteca*, *Piper-Pheidole* e *Macaranga-Crematogaster* (FONSECA, 1999; HEIL; MCKEY, 2003). As interações mirmecofíticas são consideradas mutualísticas, pois favorecem ambas as espécies envolvidas (FONSECA, 1999). Essas plantas possuem ao longo do caule e/ou dos galhos câmaras internodais ocas, divididas por septos, denominadas domácias, que são utilizadas para nidificação e consolidação das colônias de formigas dentro da planta (RICO-GRAY; OLIVEIRA, 2007; YU; DAVIDSON, 1997).

As plantas do gênero *Cecropia*, por exemplo, fornecem abrigo e produzem corpos Müllermanos, ricos em glicogênio que são utilizados como fonte de alimento para as formigas que por sua vez, auxiliam a planta hospedeira na defesa contra outras plantas parasitas, insetos sugadores de seiva e outros herbívoros (HEIL; MCKEY, 2003).

Existem também outros organismos como nematoides, larvas dipterianas e fungos que vivem em simbiose com

este sistema. A presença de leveduras negras no interior das domácias pode desempenhar um papel nutricional importante nesta simbiose uma vez que são ingeridas pelas larvas de formigas (VOGLMAYR et al., 2011; BLATRIX et al., 2012). A levedura negra é um fungo pertencente à ordem *Chaetothyriales* (Ascomycota) e é transmitida de forma vertical, ou seja, a formiga rainha carrega consigo um pouco deste fungo da colônia mãe para a consolidação do seu novo ninho (MAYER et al., 2018).

Já foram encontradas actinobactérias associadas a diferentes interações mirmecofíticas, que possuem capacidade de degradação da celulose liberando subprodutos que são utilizadas pelas formigas. Essas actinobactérias, principalmente do gênero *Streptomyces*, também apresentaram atividades inibitórias frente a fungos entomopatogênicos (HANSHEW et al., 2015).

Na interação mutualística estabelecida entre as formigas da espécie *Tetraponera penzigi* e as plantas do gênero *Acacia*, foi encontrada uma nova espécie de actinobactéria denominada *Streptomyces formicae*. A partir desta linhagem foram isolados e identificados treze novos policetídeos, denominados formicamicinas, que compartilham de uma estrutura pentacíclica rara e apresentam atividade contra os patógenos *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) e *Enterococcus faecium* resistente à vancomicina (VRE) (QIN et al., 2017). Os micro-organismos envolvidos na simbiose formiga-planta apresentam, portanto, potencial para a produção de compostos com atividade antimicrobiana, podendo desempenhar um papel importante de proteção nessa interação e ainda possuem um papel crucial para a nutrição das formigas como no caso das leveduras negras. Assim, nota-se a complexidade desta interação, envolvendo diversos organismos e destaca-se a importância de se estudar a microbioma deste sistema uma

vez que ainda é pouco conhecido e possui um grande potencial químico e ecológico a ser investigado.

Conclusões

A interação entre insetos e micro-organismos tem levado a descoberta de novas abordagens ecológicas que fornecem informações sobre a ampla e dinâmica seleção de nichos de hospedeiros e micro-organismos. Essa relação simbiótica constitui, provavelmente, um dos modelos biológicos mais fascinantes para entendimento do uso de antibióticos na natureza. Como consequência, estudos químicos e biológicos nestes sistemas fornecem uma oportunidade para a descoberta de novos produtos naturais com potenciais aplicações biotecnológicas.

O Brasil é detentor de uma das maiores biodiversidades do planeta e todos os organismos vivos estão em uma complexa rede de interações no ambiente. Portanto, é urgente que mais estudos em sistemas simbiotes envolvendo micro-organismos e insetos sejam realizados, a fim de que possam ser desvendados os mecanismos moleculares envolvidos nestas interações. O conhecimento obtido nestes estudos poderá subsidiar o estabelecimento de políticas públicas de preservação da biodiversidade, uso racional de agentes químicos ou biológicos na agricultura e, ainda, ser traduzido em descobertas que possam contribuir com a saúde humana.

Agradecimentos

Agradecemos o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) (Proc. #2013/50954-0, #2015/01001-6, #2015/26349-5, #2016/26230-0), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

- AANEN, D. K.; EGGLETON, P. Fungus-growing termites originated in African rain forest. **Current Biology**, v. 15, p. 851-855, 2005.
- ANDERSEN, S.B.; HANSEN, L.H.; SAPOUNTZIS, P.; SØRENSEN, S.J.; BOOMSMA, J.J. Specificity and stability of the *Acromyrmex*-*Pseudonocardia* symbiosis. **Molecular Ecology**, v. 22, p. 4307-4321, 2013.
- AYLWARD, F.O.; SUEN, G.; BIEDERMANN, P.H.W.; ADAMS, A.S.; SCOTT, J.J.; MALFATTI, S.A.; DEL RIO, T.G.; TRINGE, S.G.; POULSEN, M.; RAFFA, K.F.; KLEPZIG, K.D.; CURRIE, C.R. Convergent bacterial microbiotas in the fungal agricultural systems of insects. **MBio**, v. 5, e02077-14, 2014.
- BARKE, J.; SEIPKE, R.F.; GRÜSCHOW, S.; HEAVENS, D.; DROU, N.; BIBB, M.J.; GOSS, R.J.; YU, D.W.; HUTCHINGS M.I. A mixed community of actinomycetes produce multiple antibiotics for the fungus farming ant *Acromyrmex octospinosus*. **BMC Biology**, v. 8, p. 109, 2010.

- BARKE, J.; SEIPKE, R.F.; YU, D.W.; HUTCHINGS, M.I. A mutualistic microbiome: How do fungus-growing ants select their antibiotic-producing bacteria?. **Communicative & Integrative Biology**, v. 4, p. 41-43, 2011.
- BARY, A. **Die erscheinung der symbiose**. Verlag von Karl J. Trübner, 1879.
- BEEMELMANN, C.; RAMADHAR, T.R.; KIM, K.H.; KLASSEN, J.L.; CAO, S.; WYCHE, T.P.; HOU, Y.; POULSEN, M.; BUGNI, T.S.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J. Macrotermycins A–D, glycosylated macrolactams from a termite-associated *Amycolatopsis* sp. M39. **Organic Letters**, v. 19, p. 1000-1003, 2017.
- BLATRIX, R.; DJIÉTO-LORDON, C.; MONDOLOT, L.; LA FISCA, P.; VOGLMAYR, H.; MCKEY, D. Plant-ants use symbiotic fungi as a food source: new insight into the nutritional ecology of ant–plant interactions. **Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, e. rspb20121403, 2012.
- BROWNLIE, J. C.; JOHNSON, K. N. Symbiont-mediated protection in insect hosts. **Trends in Microbiology**, v. 17, p. 348-354, 2009.
- CARR, G.; POULSEN, M.; KLASSEN, J. L.; HOU, Y.; WYCHE, T. P.; BUGNI, T. S.; CURRIE, C. R.; CLARDY, J. Microtermolides A and B from termite-associated *Streptomyces* sp. and structural revision of vinylamycin. **Organic Letters**, v. 14, p. 2822-2825, 2012.
- CURRIE, C.R.; SCOTT, J.A.; SUMMERBELL, R.C.; MALLOCH, D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control garden parasites. **Nature**, v. 398, n. 6729, p. 701, 1999.
- CURRIE, C.R. A community of ants, fungi, and bacteria: a multilateral approach to studying symbiosis. **Annual Reviews in Microbiology**, v. 55, p. 357-380, 2001.
- CURRIE, C.R.; BOT, A.N.; BOOMSMA, J.J. Experimental evidence of a tripartite mutualism: bacteria protect ant fungus gardens from specialized parasites. **Oikos**, v. 101, p. 91-102, 2003.
- CURRIE, C.R.; POULSEN, M.; MENDENHALL, J.; BOOMSMA, J.J.; BILLEN, J. Coevolved crypts and exocrine glands support mutualistic bacteria in fungus-growing ants. **Science**, v. 311, p. 81-83, 2006.
- DOUGLAS, A. E. Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms. **Annual Review of Entomology**, v. 60, p. 17-34, 2015.
- FONSECA, C. R. Amazonian ant-plant interactions and the nesting space limitation hypothesis. **Journal of Tropical Ecology**, v. 15, p. 807-825, 1999.
- GUO, H.; KREUZENBECK, N.B.; OTANI, S.; GARCIA-ALTARES, M.; DAHSE, H.M.; WEIGEL, C.; AANEN, D.K.; HERTWECK, C.; POULSEN, M.; BEEMELMANN, C. Pseudoxyllallemycins A–F, cyclic tetrapeptides with rare allenyl modifications isolated from *Pseudoxyllaria* sp. X802: a competitor of fungus-growing termite cultivars. **Organic Letters**, v. 18, p. 3338-3341, 2016.
- HAEDER, S.; WIRTH, R.; HERZ, H.; SPITELLER, D. Candicidin-producing *Streptomyces* support leaf-cutting ants to protect their fungus garden against the pathogenic fungus *Escovopsis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, e. pnas. 0812082106, 2009.
- HANSHEW, A.S.; MCDONALD, B.R.; DÍAZ DÍAZ, C.; DJIÉTO-LORDON, C.; BLATRIX, R.; CURRIE, C.R. Characterization of actinobacteria associated with three ant-plant mutualisms. **Invertebrate Microbiology**, v. 69, p. 192-203, 2015.
- HEIL, M.; MCKEY, D. Protective ant-plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v. 34, p. 425-453, 2003.
- HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. **The superorganism: the beauty, elegance, and strangeness of insect societies**. WW Norton & Company, 2009.
- KALTENPOTH, M.; GÖTTLER, W.; HERZNER, G.; STROHM, E. Symbiotic bacteria protect wasp larvae from fungal infestation. **Current Biology**, v. 15, p. 475-479, 2005.
- KALTENPOTH, M. Actinobacteria as mutualists: general healthcare for insects? **Trends in Microbiology**, v. 17, n. 12, p. 529-535, 2009.
- KALTENPOTH, M.; YILDIRIM, E.; GÜRBÜZ, M.F.; HERZNER, G.; STROHM, E. Refining the roots of the beewolf-*Streptomyces* symbiosis: antennal symbionts in the rare genus *Philanthinus* (Hymenoptera, Crabronidae). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 3, p. 822-827, 2012.
- KIM, K.H.; RAMADHAR, T.R.; BEEMELMANN, C.; CAO, S.; POULSEN, M.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J. Natalamycin A, an ansamycin from a termite-associated *Streptomyces* sp. **Chemical Science**, v. 5, p. 4333-4338, 2014.

- KOEHLER, S.; DOUBSKÝ, J.; KALTENPOTH, M. Dynamics of symbiont-mediated antibiotic production reveal efficient long-term protection for beewolf offspring. **Frontiers in Zoology**, v. 10, p. 3, 2013.
- KOST, C.; LAKATOS, T.; BÖTTCHER, I.; ARENDHOLZ, W.R.; REDENBACH, M.; WIRTH, R. Non-specific association between filamentous bacteria and fungus-growing ants. **Naturwissenschaften**, v. 94, p. 821-828, 2007.
- KROISS, J.; KALTENPOTH, M.; SCHNEIDER, B.; SCHWINGER, M.G.; HERTWECK, C.; MADDULA, R.K.; STROHM, E.; SVATOS, A. Symbiotic streptomycetes provide antibiotic combination prophylaxis for wasp offspring. **Nature Chemical Biology**, v. 6, p. 261, 2010.
- LI, X.; GUO, W.; DING, J. Mycangial fungus benefits the development of a leaf-rolling weevil, *Euops chinensis*. **Journal of Insect Physiology**, v. 58, p. 867-873, 2012.
- MARSARO JÚNIOR, A.L.; DELLA LUCIA, T.M.C.; BARBOSA, L.C.; MAFFIA, L.A.; MORANDI, M.A. Inhibition of the germination of *Botrytis cinerea* Pers. Fr. conidia by extracts of the mandibular gland of *Atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Neotropical Entomology**, v. 30, n. 3, p. 403-406, 2001.
- MARSH, S.E.; POULSEN, M.; PINTO-TOMÁS, A.; CURRIE, C.R. Interaction between workers during a short time window is required for bacterial symbiont transmission in *Acromyrmex* leaf-cutting ants. **PLoS One**, v. 9, p. e103269, 2014.
- MATARRITA-CARRANZA, B.; MOREIRA-SOTO, R.D.; MURILLO-CRUZ, C.; MORA, M.; CURRIE, C.R.; PINTO-TOMAS, A.A. Evidence for widespread associations between neotropical hymenopteran insects and actinobacteria. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, p. 2016, 2017.
- MATHEW, G.M.; JU, Y.M.; LAI, C.Y.; MATHEW, D.C.; HUANG, C.C. Microbial community analysis in the termite gut and fungus comb of *Odontotermes formosanus*: the implication of *Bacillus* as mutualists. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 79, n. 2, p. 504-517, 2012.
- MAYER, V.E.; NEPEL, M.; BLATRIX, R.; OBERHAUSER, F.B.; FIEDLER, K.; SCHÖNENBERGER, J.; VOGLMAYR, H. Transmission of fungal partners to incipient *Cecropia*-tree ant colonies. **PLoS ONE**, v. 13, p. 1–18, 2018.
- MENEZES, C.; VOLLET-NETO, A.; MARSAIOLI, A.J.; ZAMPIERI, D.; FONTOURA, I.C.; LUCHESSI, A.D.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. A Brazilian social bee must cultivate fungus to survive. **Current Biology**, v. 25, n. 21, p. 2851-2855, 2015.
- MORGAN, E.D.; NASCIMENTO, R.R.; KEEGANS, S.J.; BILLEN, J. Comparative study of mandibular gland secretions of workers of ponerine ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, p. 1395-1409, 1999.
- MUELLER, U.G.; GERARDO, N. Fungus-farming insects: multiple origins and diverse evolutionary histories. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 24, p. 15247-15249, 2002.
- MUELLER, U.G.; DASH, D.; RABELING, C.; RODRIGUES, A. Coevolution between attine ants and actinomycete bacteria: a reevaluation. **Evolution: International Journal of Organic Evolution**, v. 62, n. 11, p. 2894-2912, 2008.
- NASIR, H.; NODA, H. Yeast-like symbiotes as a sterol source in anobiid beetles (Coleoptera, Anobiidae): possible metabolic pathways from fungal sterols to 7-dehydrocholesterol. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology: Published in Collaboration with the Entomological Society of America**, v. 52, n. 4, p. 175-182, 2003.
- OH, D.C.; POULSEN, M.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J. Dentigerumycin: a bacterial mediator of an ant-fungus symbiosis. **Nature Chemical Biology**, v. 5, p. 391, 2009.
- OTANI, S.; MIKAELYAN, A.; NOBRE, T.; HANSEN, L.H.; KONÉ, N.A.; SØRENSEN, S.J.; AANEN, D.K.; BOOMSMA, J.J.; BRUNE, A.; POULSEN, M. Identifying the core microbial community in the gut of fungus-growing termites. **Molecular Ecology**, v. 23, p. 4631-4644, 2014.
- OTANI, S.; HANSEN, L.H.; SØRENSEN, S.J.; POULSEN, M. Bacterial communities in termite fungus combs are comprised of consistent gut deposits and contributions from the environment. **Microbial Ecology**, v. 71, p. 207-220, 2016.
- PALUDO, C.R.; MENEZES, C.; SILVA-JUNIOR, E.A.; VOLLET-NETO, A.; ANDRADE-DOMINGUEZ, A.; PISHCHANY, G.; KHADEMPOUR, L.; NASCIMENTO, F.S.; CURRIE, C.R.; KOLTER, R.; CLARDY, J.; PUPO, M.T. Stingless Bee Larvae Require Fungal Steroid to Pupate. **Scientific Reports**, v. 8, p. 1122, 2018.
- POULSEN, M.; BOT, A. N. M.; BOOMSMA, J. J. The effect of metapleural gland secretion on the growth of a mutualistic bacterium on the cuticle of leaf-cutting ants. **Naturwissenschaften**, v. 90, p. 406-409, 2003.

- PROMNUAN, Y.; KUDO, T.; CHANTAWANNAKUL, P. Actinomycetes isolated from beehives in Thailand. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 25, p. 1685-1689, 2009.
- PROMNUAN, Y.; KUDO, T.; OHKUMA, M.; CHANTAWANNAKUL, P. *Streptomyces Chiangmaiensis* sp. nov. and *Streptomyces lannensis* sp. nov., isolated from the South-East Asian stingless bee (*Tetragonilla collina*). **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, p. 1896-1901, 2013.
- QIN, Z.; MUNNOCH, J.T.; DEVINE, R.; HOLMES, N.A.; SEIPKE, R.F.; WILKINSON, K.A.; WILKINSON, B.; HUTCHINGS, M.I. Formicamycins, antibacterial polyketides produced by *Streptomyces formicae* isolated from African *Tetraponera* plant-ants. **Chemical Science**, v. 8, p. 3218-3227, 2017.
- RAMADHAR, T.R.; BEEMELMANN, C.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J. Bacterial symbionts in agricultural systems provide a strategic source for antibiotic discovery. **The Journal of Antibiotics**, v. 67, p. 53, 2014.
- RICO-GRAY, V.; OLIVEIRA, P. S. The Ecology and Evolution of ant-plant interactions. The University of Chicago Press, 2007.
- RODRIGUES, A.; BACCI JUNIOR, M.; MUELLER, U.G.; ORTIZ, A.; PAGNOCCA, F.C. Microfungal “weeds” in the leafcutter ant symbiosis. **Microbial Ecology**, Washington, v. 56, p. 604-614, 2008.
- SCHEURING, I.; YU, D. W. How to assemble a beneficial microbiome in three easy steps. **Ecology Letters**, v. 15, p. 1300-1307, 2012.
- SCOTT, J.J.; OH, D.C.; YUCEER, M.C.; KLEPZIG, K.D.; CLARDY, J.; CURRIE, C.R. Bacterial protection of beetle-fungus mutualism. **Science**, v. 322, p. 63-63, 2008.
- SEIPKE, R.F.; BARKE, J.; BREARLEY, C.; HILL, L.; DOUGLAS, W.Y.; GOSS, R.J.; HUTCHINGS, M.I. A single *Streptomyces* symbiont makes multiple antifungals to support the fungus farming ant *Acromyrmex octospinosus*. **PLoS One**, v. 6, p. e22028, 2011.
- SEIPKE, R. F.; KALTENPOTH, M.; HUTCHINGS, M. I. *Streptomyces* as symbionts: an emerging and widespread theme?. **FEMS Microbiology Reviews**, v. 36, p. 862-876, 2012.
- SILVA-JUNIOR, E.A.; RUZZINI, A.C.; PALUDO, C.R.; NASCIMENTO, F.S.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J.; PUPO, M.T. Pyrazines from bacteria and ants: convergent chemistry within an ecological niche. **Scientific Reports**, v. 8, p. 2595, 2018.
- STEFFAN, S.A.; CHIKARAISHI, Y.; CURRIE, C.R.; HORN, H.; GAINES-DAY, H.R.; PAULI, J.N.; ZALAPA, J.E.; OHKOUCHI, N. Microbes are trophic analogs of animals. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 112, p. 15119-15124, 2015.
- UM, S.; FRAIMOUT, A.; SAPOUNTZIS, P.; OH, D.C.; POULSEN, M. The fungus-growing termite *Macrotermes natalensis* harbors bacillaene-producing *Bacillus* sp. that inhibit potentially antagonistic fungi. **Scientific Reports**, v. 3, p. 3250, 2013.
- VAN ARNAM, E.B.; RUZZINI, A.C.; SIT, C.S.; HORN, H.; PINTO-TOMÁS, A.A.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J. Selvamycin, an atypical antifungal polyene from two alternative genomic contexts. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, p. 12940-12945, 2016.
- VAN ARNAM, E.B.; CURRIE, C.R.; CLARDY, J. Defense contracts: molecular protection in insect-microbe symbioses. **Chemical Society Reviews**, v. 47, p. 1638-1651, 2018.
- VISSER, A. A.; NOBRE, T.; CURRIE, C.R.; AANEN, D.K.; POULSEN, M. Exploring the potential for actinobacteria as defensive symbionts in fungus-growing termites. **Microbial Ecology**, v. 63, p. 975-985, 2012.
- VOGLMAYR, H.; MAYER, V.; MASCHWITZ, U.; MOOG, J.; DJIETO-LORDON, C.; BLATRIX, R. The diversity of ant-associated black yeasts: insights into a newly discovered world of symbiotic interactions. **British Mycological Society**, v. 115, p. 1077-1091, 2011.
- WANG, L.; FENG, Y.; TIAN, J.; XIANG, M.; SUN, J.; DING, J.; YIN, W.B.; STADLER, M.; CHE, Y.; LIU, X. Farming of a defensive fungal mutualist by an attelabid weevil. **The ISME Journal**, v. 9, p. 1793, 2015.
- YU, D.W.; DAVIDSON, D.W. Experimental studies of species-specificity in *Cecropia*-ant relationships. **Ecological Monographs**, v. 67, p. 273-294, 1997.