

Artigo de revisão

## **MECANISMOS DE DEFESA EM INSETOS SOCIAIS CONTRA PATÓGENOS**

## **DEFENSE MECHANISMS IN SOCIAL INSECTS AGAINST PATHOGENS**

**Fabírcia Gonçalves Lacerda**

Faculdade do Futuro – Manhuaçu - MG

Email: lacerdafg@gmail.com

### RESUMO

As colônias de insetos sociais são caracterizadas por uma densa agregação de indivíduos que são, geralmente, muito aparentados, além de existir uma grande interação entre eles. Essas características facilitam a transmissão de doenças e fazem, dessas colônias, alvo particularmente vulnerável aos parasitas. Conseqüentemente, esses insetos têm evoluído vários mecanismos para defender suas colônias. A proteção contra patógenos pode-se dar através de estratégias comportamentais, produção de antibióticos, além de defesas imunológicas que são comuns a outros insetos também. Nesse trabalho, são descritos os diversos tipos de defesa apresentados pelos insetos sociais contra patógenos.

Palavras-chave: insetos sociais, comportamento, parasitismo

### ABSTRACT

The colonies of social insects are characterized by a dense aggregation of individuals that are usually highly related, besides a great interaction to exist among

them. Those characteristics facilitate the transmission of diseases becoming those colonies, particularly vulnerable to the parasites. Consequently, those insects developed several mechanisms to defend their colonies. The protection against pathogens can be through behavioral strategies, production of antibiotics, besides immunological defenses that are common to other insects also. In this study, the several defense types are described presented by the social insects against pathogens.

Key-words: social insects, behavior, parasitism

## INTRODUÇÃO

A eusocialidade, dentre os insetos sociais, compreende uma situação em que várias gerações vivem juntas e a prole recebe os cuidados das operárias de forma a se distinguir uma divisão de trabalho. Esses critérios para eusocialidade são obtidos por poucos grupos de insetos, sendo quase todos pertencentes ao grupo dos Hymenoptera. Dentre os outros grupos de insetos, a eusocialidade evoluiu em um único grupo: o dos cupins (Wilson 1971).

Devido ao fato de insetos sociais viverem em colônias caracterizadas por uma densa agregação de indivíduos aparentados e que interagem entre si, há uma maior probabilidade de transmissão de doenças entre eles. Entretanto, os insetos sociais têm evoluído vários mecanismos para defender suas colônias. A proteção contra patógenos pode-se dar por meio de estratégias comportamentais, produção de antibióticos, além de defesas imunológicas que são comuns a outros insetos também. A seguir, são descritos os diversos tipos de defesa apresentados pelos insetos sociais contra patógenos.

## COMPORTAMENTO DE HIGIENE ENTRE INSETOS SOCIAIS

Dentre os mecanismos de defesa contra patógenos inerentes aos insetos sociais, está o mecanismo de defesa comportamental. Nesse aspecto, o comportamento de higiene é uma prática muito frequente entre os insetos sociais. Um exemplo desse comportamento é o “grooming” (limpeza) que corresponde à remoção de partículas da superfície do próprio corpo ou do corpo de um

companheiro de ninho. As partículas removidas podem incluir objetos estranhos, tais como esporos de parasitas, hifas de fungos ou ovos e juvenis de nematóides. Portanto, o “grooming” pode funcionar para prevenir infecções causadas por parasitas nesses insetos (Farish 1972 *apud* Schmid-Hempel 1998).

Em abelhas, o comportamento de higiene pode ser caracterizado também por uma rápida detecção de indivíduos doentes e de prole morta pelas operárias, remoção de insetos mortos da colônia e por meio da limpeza das células e pentes de mel da colméia. Operárias fazem o “self-grooming” (auto-limpeza), além de limparem suas irmãs e manterem a higiene do ninho. Esta atividade higiênica é importante contra a doença cria giz, causada pelo fungo *Ascospaera apis* e “stone brood” causada por *Aspergillus flavus*. Os adultos removem as larvas mumificadas usando suas mandíbulas e conduzem as larvas para fora do ninho (Southwick 1994 *apud* Gliński e Buczek 2003). Larvas de abelhas infectadas com vírus da cria ensacada e pelas bactérias *Melissococcus pluton* e *Paenibacillus larvae*, causadoras da cria pútrida européia e cria pútrida americana, respectivamente, também são rapidamente detectadas e removidas pelas operárias (Seeley 1985 *apud* Ayasse e Paxton, Bailey e Ball 1991 *apud* Ayasse e Paxton).

Comportamento de higiene entre formigas cortadeiras foi comprovadamente importante em estudos com *Acromyrmex echinator*. Nesse estudo, foi quantificada a relação custo-benefício entre aumento da transmissão de doenças, entre formigas vivendo em grupo, e o aumento das defesas contra doenças. Foi demonstrado que operárias expostas ao fungo entomopatógeno *Metarhizium anisopliae* tiveram aumento na sua sobrevivência quando eram mantidas junto com as companheiras de ninho, enquanto o custo de estar vivendo em um grupo, em termos do aumento da transmissão de doenças, foi baixo. Comportamento de “allogrooming” (limpeza), “self-grooming” e secreção de antibióticos, produzidos, provavelmente, pela glândula metapleurálica, sobre a cutícula foram aparentemente importantes na resistência das formigas contra esse parasita (Hughes et al. 2002).

Comportamento de “allogrooming” também tem-se mostrado importante na defesa de cupins da espécie *Zootermopsis angusticollis* contra *M. anisopliae*. Quando indivíduos infectados com baixas doses desse patógeno interagem com indivíduos saudáveis, há aumento da sobrevivência dos infectados quando comparado com grupos em que todos os indivíduos foram igualmente expostos ao patógeno (Rosengaus et al. 1998).

Um outro exemplo sobre a importância da interação social relacionada ao comportamento de higiene e aumento de defesas imunológicas é evidenciado em cupins. Estudos sobre desenvolvimento de imunidade em *Z. angusticollis*, utilizando uma dose não letal de *M. anisopliae*, revelam que ocorre aumento da sobrevivência entre indivíduos que desenvolvem imunidade quando são colocados em grupo em comparação com indivíduos que foram “vacinados” da mesma forma e foram mantidos isolados (Traniello et al. 2002). Portanto, a interação social deve exercer forte efeito direta ou indiretamente sobre a competência imunológica nesses insetos. O aumento da resistência individual à doença pode ser atribuído ao “grooming” ou a outras interações como a trofalaxia através da qual pode ocorrer a transferência de fatores imunológicos.

Em formigas cultivadoras de fungo, a remoção física de contaminantes pelas operárias pode ocorrer quando esporos de outros fungos são trazidos para o ninho juntamente com o substrato vegetal (Quinlan e Cherrett 1977). Mais de 30% das operárias que vivem na superfície do jardim de fungo ficam lambendo-o constantemente (Quinlan e Cherrett 1979) e esse comportamento pode ser considerado um mecanismo de descontaminação através da remoção de esporos estranhos. Fato semelhante foi constatado por Bass e Cherrett (1994) em que as operárias de *Atta sexdens* também controlaram o crescimento de contaminantes do jardim de fungo através do comportamento de “lambadura”. Além disso, a retirada de patógenos pode-se dar através da retirada de pedaços de jardim de fungo infectado, os quais são levados para o lixo da colônia (Currie e Stuart 2001).

Contudo, existem os dois lados do “grooming”. Enquanto por meio desse processo são removidos parasitas prejudiciais à colônia, a operária que realiza o “grooming” pode-se tornar infectada assim como ocorre com o fungo *M. anisopliae* e o cupim *Reticulitermes*, em que operárias infectadas são mais atrativas para o “grooming”. Entretanto, indivíduos já mortos pelo fungo são normalmente evitados e não recebem o “grooming” de operárias saudáveis. Esse comportamento evita a propagação de doenças pela colônia (Kramm et al. 1982). A transmissão de doenças através do “grooming” pode ganhar uma outra dimensão quando esse comportamento entre companheiras de ninho não ocorre ao acaso, principalmente se parentes próximos estiverem realizando o “grooming” entre si mais frequentemente que em indivíduos menos aparentados. Nesse caso, com a presença de interações mais frequentes entre parentes, parasitas poderiam ser

transmitidos mais frequentemente para outro hospedeiro com genótipo similar. Dessa forma, o nepotismo poderia agir no sentido de aumentar a taxa de transmissão de doenças e a probabilidade de o parasita ser mantido na população (Schmid-Hempel 1998).

A organização de insetos sociais de forma apropriada pode reduzir a possibilidade de transmissão de parasitas, diminuindo, assim, a habilidade de patógenos estabelecerem-se nas colônias. Por exemplo, se operárias podem infectar rainhas, o seu acesso a ela deve ser restrito, particularmente quando a colônia depende de uma só rainha. Nesse contexto, pode-se notar que, em todas as espécies de insetos sociais que apresentam divisão de trabalho baseada na idade (polietismo etário), são os indivíduos mais jovens que assistem a rainha enquanto os mais velhos forrageiam (Wilson 1971). A vantagem desse tipo de comportamento é que o alto risco de mortalidade imposto pelas adversidades no exterior da colônia recaem sobre a classe de operárias mais velhas e, portanto, menos valiosas.

Em abelhas, que apresentam polietismo etário, as mudanças comportamentais são acompanhadas pela atividade diferenciada de glândulas exócrinas. Por exemplo, a atividade de guarda da entrada do ninho é realizada antes do início do forrageamento, entre a idade de 12 e 25 dias, quando a glândula mandibular produz picos da substância 2-heptanona e quando as operárias são sensíveis a este feromônio de alarme (Boch e Shearer 1967 *apud* Ayasse e Paxton). Em grupos de vespas sociais como *Polybia*, a guarda do ninho também é realizada por operárias de meia idade.

Em formigas, polietismo etário foi investigado em *Manica rubida*, *Myrmica scabrinodis*, *Messor*, *Formica polyctena* e *Formica sanguinea* (Dumpeert 1978).

Comportamento de alarme diante da presença de patógenos tem sido demonstrado em cupins de madeira úmida *Z. angusticollis*. De acordo com Rosengaus et al. (1999), larvas, ninfas e imagos dessa espécie exibem comportamento de alarme vibratório durante e após a exposição a altas concentrações do entomopatógeno *M. anisopliae*. O comportamento de alarme devido a patógenos aparenta ser induzido pelo contato direto com esporos de fungos. Durante o ato de vibração, o corpo inteiro do cupim avança em um movimento anterior enquanto as pernas flexionam dorsoventralmente. Os sinais mecânicos produzidos pela vibração aparentam comunicar a presença de patógenos e induzem uma resposta de companheiros (as) não infectadas (os) de ninho que

aumentam a sua distância da fonte de contaminação. Portanto, a vibração induzida por patógeno por *Z. angusticollis* e sua correspondente indução de um comportamento de escape em companheiras de ninho podem representar adaptação para reduzir o risco de infecção dentro do ninho.

Canibalismo e remoção de indivíduos doentes do ninho por companheiras de ninho é comum entre insetos sociais (Wilson 1971). Em ninhos de abelhas, um pequeno grupo de operárias, as “agentes funerárias” (undertakers) especializam-se em tarefas de remover adultos mortos (Robinson e Page 1988). Como consequência dessa atividade funerária, ninhos raramente contêm abelhas adultas mortas. “Agentes funerárias” provavelmente reconhecem abelhas mortas através de pistas olfativas. Formigas do gênero *Pogonomyrmex* reconhecem companheiras de ninho doentes ou mortas devido ao odor rico em ácido oleico que é liberado. Até mesmo indivíduos saudáveis que são experimentalmente besuntados com ácido oleico são removidos do ninho (Wilson 1971).

#### DEFESA COMPORTAMENTAL DE FORMIGAS CORTADEIRAS RELACIONADA AO LIXO DAS COLÔNIAS

A habilidade de cultivar fungo pelas formigas da tribo Attini depende da proteção do jardim de fungo contra microrganismos agressivos que podem ser danosos à colônia como um todo. O lixo das colônias de formigas cortadeiras é formado pelo jardim de fungo já exaurido, por folhas secas, cadáveres de operárias adultas, e também de larvas e pupas mortas. Dessa forma, o refugio da colônia, pode ser considerado um grande foco de contaminação para a mesma, uma vez que nele já foram encontrados alguns fungos prejudiciais ao desenvolvimento da colônia. Dentre esses, pode-se citar *Escovopsis* (Bot et al. 2001), um parasita do jardim de fungo (Currie et al. 1999) o qual é capaz de causar a morte da colônia como constatado por Currie et al. (1999) em experimentos com *Atta colombica*. Também já foi encontrado no lixo de colônias de *Atta sexdens rubropilosa* o antagonista do jardim de fungo, *Trichoderma viride* o qual inibe o crescimento do jardim, além de *Aspergillus flavus* e *Fusarium* sp., sendo, ambos, entomopatógenos oportunistas (Lacerda 2004). No lixo de *A. colombica*, em campo, os entomopatógenos *M. anisopliae* e *Aspergillus flavus* também já foram encontrados (Hughes et al. 2004).

Bot et al. (2001) constataram que o lixo de colônias de *A. echinator* é extremamente prejudicial às operárias as quais apresentam mortalidade mais rápida na presença do material de refugio, sendo esse fato demonstrado também por Lacerda (2009) em estudos com *A. sexdens rubropilosa*.

As formigas cortadeiras apresentam várias estratégias para lidar com o próprio lixo e evitar a contaminação da colônia. Assim, o lixo não é espalhado ao redor do ninho, mas é concentrado em um ou poucos locais. A maioria das espécies de *Atta* constrói câmaras subterrâneas onde depositam seu material de refugio (Autuori 1947). Entretanto, algumas espécies de cortadeiras dispõem seu refugio em um único depósito de lixo sobre o solo a uma distância segura da colônia (Weber 1972). Este é o caso de *A. colombica* em que o refugio é depositado em lagos, na base de árvores e ao longo de troncos caídos (Hart e Ratnieks 2002).

Em se tratando de manuseio do lixo das colônias por formigas cortadeiras, uma forma de proteção do jardim de fungo contra contaminantes é através do comportamento de partição de tarefas, ao lidar com o material de refugio, o que minimiza o contato das operárias do jardim de fungo com o monte de lixo. Esse comportamento é característico de *Atta cephalotes*, segundo Hart e Ratnieks (2001), sendo que, na maioria das vezes, o lixo é transferido indiretamente para o depósito principal, isto é, a carga trazida do jardim de fungo é depositada pela operária sobre um pequeno monte secundário de lixo e, posteriormente, coletada por outra operária e transferida para o monte principal. Não há, portanto, contato entre a operária, que veio do jardim de fungo, e o depósito principal de lixo, minimizando o contato entre operária e contaminantes. Tal fato foi também comprovado por Lacerda (2006) em experimentos com colônias de *A. sexdens rubropilosa*.

Segundo Hart e Ratnieks (2001), há ainda uma divisão de trabalho entre operárias do depósito de lixo e as que trabalham no restante do ninho. Caso as "operárias do lixo" saiam deste local, sofrem fortes agressões pelas outras companheiras de ninho. Esse comportamento agressivo está relacionado à contaminação das operárias que manuseiam o material de refugio, evitando, dessa forma, a propagação de doenças para a colônia.

O lixo das colônias pode ter, também, implicações em atividades como o forrageamento. Em trabalhos sobre manuseio de lixo em *A. colombica*, Hart e Ratnieks (2002) constataram que as operárias conduzem o lixo de um olheiro localizado entre a entrada de forrageamento e o monte de lixo em uma trilha bem

definida. Em ninhos incipientes, o mesmo orifício serve como entrada de forrageamento e saída de lixo. O benefício da separação do olheiro para saída do lixo e para entrada de substrato é reduzir a contaminação do material que está entrando na colônia. Em colônias pequenas, em que não há essa separação, provavelmente o lixo representa um pequeno custo ou há um alto custo no fato de se ter duas entradas. Segundo esses mesmos autores, o monte de lixo afeta consideravelmente a localização das trilhas de forrageamento, sendo que a maioria destas são direcionadas contrariamente ao monte. Desse modo, o monte cria uma zona de exclusão através da qual as trilhas de forrageamento não passam. Portanto, deposição externa do lixo reduz o custo associado à escavação de câmaras de lixo, mas impõe custos ao forrageamento.

#### ASSOCIAÇÃO ENTRE INSETOS SOCIAIS E MICRORGANISMOS CONTRA A PRESENÇA DE PATÓGENOS

A associação entre formigas cortadeiras e microrganismos pode ser mais uma estratégia para a proteção dos ninhos contra patógenos. Estudos recentes mostram a presença de uma bactéria do gênero *Burkholderia* no jardim de fungo de *A. sexdens rubropilosa* que produz antibióticos inibidores do crescimento de patógenos de insetos e do jardim de fungo, mas que não afetam o fungo mutualista. Dentre os patógenos inibidos destacam-se os fungos *Beauveria bassiana*, *M. anisopliae*, *Lecanicillium lecanii* e também *Escovopsis weberi* (Santos et al. 2005). Além de ser encontrada no jardim de fungo, *Burkholderia* sp. foi também encontrada circundando a câmara de fungo dessas formigas em campo. Segundo Bento et al. (1991), o solo onde as formigas cortadeiras estabelecem seu ninho apresenta cerca de dez vezes mais microrganismos que o solo que circunda colônias maduras dessas formigas. Consequentemente, uma alta incidência de microrganismos intrusos circunda colônias jovens. Portanto, a presença de *Burkholderia* sp. em ninhos jovens de *A. sexdens rubropilosa* pode ter uma função importante na sua defesa contra microrganismos patogênicos.

As attines podem estar, ainda, associadas a um actinomiceto filamentoso do gênero *Pseudonocardia* presente no corpo das formigas e que produz antibióticos capazes de suprimir a ação de *Escovopsis* (Currie et al. 1999). Estudos recentes revelam, ainda, que as operárias do jardim comprimem esporos e hifas de fungos de

*Escovopsis* em sua cavidade infrabucal e depositam o “pellet” resultante em pilhas perto do jardim. A cavidade infrabucal funciona como uma estratégia de esterilização, matando esporos de fungos parasitas devido à produção de antibióticos por actinomicetos presentes nessa cavidade que inibem tal parasita (Little et al 2005).

Acredita-se que esse actinomiceto simbiote das attines, recentemente descoberto, seja um terceiro mutualista em uma antiga simbiose entre as formigas, o fungo mutualista, o fungo parasita (*Escovopsis*) e *Pseudonocardia*. Primeiro, porque tal actinomiceto está bem representado entre os gêneros de Attini. Em segundo lugar, o actinomiceto é transmitido verticalmente de colônias-mães para colônias filhas, assim como o fungo mutualista. E, em terceiro lugar, ele promove o crescimento do fungo mutualista *in vitro*. Quarto, mais importante, *Pseudonocardia* produz antibióticos altamente potentes que inibem o crescimento do parasita de jardins de fungo *Escovopsis*. As formigas beneficiam-se do actinomiceto através da produção de antibióticos inibidores de infecções microbianas do seu jardim de fungo e, em troca, elas o dispersam (Currie et al. 1999), além de fornecerem nutrientes para o seu crescimento em criptas cuticulares suportadas por glândulas exócrinas (Currie et al. 2006).

As abelhas também podem estar associadas a bactérias endógenas que apresentam efeitos bacteriostáticos contra o patógeno *Paenibacillus larvae larvae* causador da cria pútrida americana, uma das enfermidades que mais prejudicam as crias de *Apis mellifera*. Os gêneros de bactérias simbiotes encontrados foram: *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus* e *Stenotrophomonas* (Evans et al. 2006). O mel de *A. mellifera* também pode conter linhagens de *Bacillus* e *Paenibacillus* que são antagônicos a *Ascosphaera apis* causadora da doença da cria giz em larvas de abelhas (Reynaldi et al. 2004).

## DEFESA ASSOCIADA A SUBSTÂNCIAS COM PROPRIEDADES ANTISÉPTICAS

A formiga da madeira *Formica paralugubris* tem por hábito incorporar grandes quantidades de resina de coníferas em seus ninhos. Esse material possui o efeito de inibir fungos e bactérias. Dentre as bactérias patogênicas inibidas, destaca-se *Pseudomonas fluorescens* (Christe et al. 2003) que causa septicemia em *Apis*

*mellifera* (Schmid-Hempel 1998). As propriedades antifúngicas da resina são importantes contra os entomopatógenos *Metarhizium* e *Beauveria*. Aparentemente, a incorporação de resina ao ninho é, portando, um mecanismo de defesa contra patógenos (Christe et al. 2003).

Em abelhas, as atividades antimicrobianas do mel, néctar e pólen são fatores importantes na colônia uma vez que inibem o desenvolvimento de muitas bactérias e fungos saprófitas no alimento armazenado e que podem destruir alguns microrganismos patogênicos (Burgett, 1978 *apud* Gliński e Buczek 2003). A acidez, pressão osmótica, produção e acúmulo de peróxido de hidrogênio são responsáveis por esse efeito do mel. O mel, como um meio hiperosmótico pode matar células vivas, exceto fungos e bactérias osmofílicos.

Secreções de glândulas exócrinas de abelhas contêm componentes biologicamente importantes. As glândulas hipofaringeanas são particularmente bem desenvolvidas em operárias de abelhas, vestigiais em rainhas e ausente nos machos. As secreções da glândula hipofaringeana de operárias jovens contêm proteínas com propriedades bacteriostáticas e bactericidas. (Rose e Briggs 1969 *apud* Schmid-Hempel 1998). Pelo menos, dois inibidores são identificados na geléia real: ácido 10-hydroxy-2-decenóico e glucose oxidase. Eles podem inibir ou atrasar o crescimento de muitos fungos como, por exemplo, *A. apis*.

A própolis, que é constituída por uma mistura altamente complexa de ceras, resinas, bálsamos, óleos e uma pequena quantidade de pólen, forma uma parte de defesa antimicrobiana em colônias de abelhas. Flavononas juntamente com flavonas, ácido cafeico e ésteres são considerados responsáveis pela ação antibacteriana da própolis. É possível que fungos de origem vegetal e animal, poluentes e contaminantes oriundos de pólen e água recolhida pelas abelhas são inibidos pelos compostos ativos da própolis (Gliński e Buczek 2003).

A glândula metapleurale é conhecida pela produção de antibióticos capazes de inibir fungos e bactérias. Ela é exclusiva de formigas e é constituída por estruturas pares localizadas no metatórax. A presença do orifício glandular muito próximo à coxa das pernas posteriores sugere, em combinação com os movimentos da porção final, uma função de tornar a secreção acessível para espalhar pelo corpo (Schoeters e Billen 1993). Alguns compostos isolados dessa glândula com propriedades antibióticas são: ácido  $\beta$ -indolacético (IAA), ácido fenilacético (PAA) e  $\beta$ -hidroxidecanóico (mirmicacina) presentes nas espécies *A. sexdens* e *Myrmecia*

*laevinodis*, PAA e mirmicacina em *Messor barbarus* e IAA e mirmicacina em *Acromyrmex subterraneus* (Schidknecht e Koob (1970) *apud* Veal et al. (1992).

Poulsen et al. (2002) demonstraram que a habilidade de secretar antibióticos por essa estrutura é de significativa importância quando operárias de *Acromyrmex octospinosus* são expostas ao *M. anisopliae*. A infecção por esse fungo foi letal em poucos dias quando as formigas tiveram sua glândula metapleurálica fechada experimentalmente, mas menos agressiva quando a glândula metapleurálica funcionava normalmente.

A secreção da glândula mandibular da formiga *Lasius fuliginosus* também apresenta efeito inibitório sobre fungos entomopatogênicos. Akino et al. (1995) demonstraram que o composto formyl-7,11-dimethyl-(2E,6Z,10)-dodecatrienal, isolado dessa glândula inibiu a germinação de esporos de *M. anisopliae*, *B. bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* e *L. lecanii*.

Vespas têm recebido pouca atenção em relação às secreções de antibióticos, embora seus ninhos estejam sujeitos à infecção por microrganismos da mesma forma que os outros grupos de insetos sociais. A fêmea de vespas frequentemente pode ser observada lambendo ou esfregando seus gásteres contra a parede das células dos ninhos. Esse ato serve para espalhar a secreção antimicrobiana que protege a prole e o ninho contra a invasão de parasitas. Em *Vespula pennsylvanica* e *Vespula vulgaris*, a saliva da larva mostra propriedades antibióticas (Gambino 1993).

A função antimicrobiana da secreção da glândula frontal de soldados de *Nasutitermes costalis* e *Nasutitermes nigriceps* tem sido demonstrada recentemente *in vitro*. Alfa-pineno e limoneno contidos na secreção reduziram a germinação de esporos de *M. anisopliae*. Ambos os componentes são largamente distribuídos em secreções de insetos sociais e podem ter função similar em outros grupos também (Rosengaus et al. 2000).

## OUTROS TIPOS DE DEFESA CONTRA PATÓGENOS

Os mecanismos de defesa de insetos que atuam contra os entomopatogênicos podem ainda ser divididos em mecânicos, celulares, imunológicos, bioquímico-fisiológicos. Inicialmente, os patógenos precisam vencer uma barreira mecânica representada pelo tegumento ou membrana peritrófica para iniciar sua colonização.

Somente leveduras e fungos que produzem quitinase podem penetrar a cutícula e dessa forma entrar na hemocele (Alves 1998). Quando a cutícula é degradada mecanicamente ou enzimaticamente pelo crescimento de hifas, outros microrganismos como bactérias podem entrar na cavidade do corpo e desenvolver septicemias (Gliński e Jarosz 2000). Vencida essa barreira, os microrganismos podem sofrer a ação de hemócitos (defesa celular) e de mecanismos bioquímico-fisiológicos dos insetos que atuam contra a invasão de patógenos.

O revestimento quitinoso do intestino anterior e posterior fornece uma proteção mecânica contra microrganismos ingeridos, com exceção dos que produzem quitinase. O intestino médio, contudo, é completamente desprovido de quitina e, portanto, é a parte mais vulnerável do canal alimentar e a partir dele, microrganismos podem penetrar na hemocele (Gliński e Buczek 2003).

O ambiente químico do intestino médio previne o crescimento e multiplicação de muitas espécies de bactérias. Em abelhas, substâncias como os fitonsídeos, essências voláteis presentes no alimento ingerido podem destruir bactérias e fungos invasores. Competição por alimento entre bactérias e fungos intestinais pode eliminar altas doses de esporos de fungos do intestino. A membrana peritrófica que protege o epitélio do intestino médio também contribui para a proteção mecânica contra os danos químicos e mecânicos causados pelo crescimento do micélio. O epitélio e os músculos intestinais formam barreiras que restringem a penetração de micélio do lúmen do intestino para a hemocele. A umidade relativamente baixa nas traquéias é importante na redução da germinação de esporos e crescimento de fungos no trato respiratório de abelhas. Contudo, infecções com altas doses de esporos ou infecções causadas por fungos altamente virulentos destroem tais barreiras anatômicas e fisiológicas (Gliński e Jarosz 1995). *A. apis* e *A. flavus* infectam a prole de abelhas através do canal alimentar ou via abrasão da cutícula. Em adultos de abelhas, o intestino constitui uma importante porta de entrada para *Aspergillus* (Gliński e Buczek 2003).

As reações de defesa celular nos insetos ocorrem provavelmente em dois estágios, sendo que no primeiro, os granulócitos e coagulócitos localizam a partícula estranha e liberam fatores de reconhecimento. No segundo estágio, esses fatores (opsoninas) conduzem os plasmócitos em direção às partículas invasoras ou às feridas. Dessa forma, os insetos podem apresentar quatro tipos de reações de

defesa celular: fagocitose, nodulação, encapsulação e coagulação/cicatrização (Alves 1998).

Na fagocitose, os hemócitos, principalmente plasmócitos e granulócitos, englobam partículas estranhas pequenas existentes na hemolinfa. Um microrganismo, quando fagocitado, pode ser destruído ou multiplicar-se no hemócito e provocar a sua lise, retornando à hemocele e gerando uma septicemia.

Na encapsulação, um conjunto de células aglomera-se para cobrir e eliminar grandes estruturas representadas por fungos, bactérias, protozoários, nematoides e parasitoides. Inicialmente, granulócitos e coagulócitos depositam-se na superfície do corpo estranho. Depois, a cápsula vai aumentando de espessura, torna-se escura devido à melanização e, posteriormente, ocorre uma deposição de plasmatócitos sobre essa estrutura que inviabiliza ou anula a partícula estranha.

No processo de nodulação, granulócitos, coagulócitos e plasmatócitos atuam rapidamente sobre grandes quantidades de partículas que invadem a hemolinfa. Formam-se inicialmente massas necróticas, melanizadas, compostas de hemócitos granulares mais a partícula estranha as quais, posteriormente, são cobertas por hemócitos (Alves 1998).

Os fenômenos de coagulação e cicatrização ocorrem em graus variáveis e servem para evitar o extravasamento da hemolinfa e a penetração de patógeno através de feridas ou cortes do tegumento dos insetos. Inicialmente, ocorre a coagulação em que estão envolvidos os coagulócitos e ou granulócitos e, posteriormente, entram em ação os plasmatócitos, que participariam na formação da nova cutícula.

A reação de defesa humoral é evidentemente não-celular e corresponde à produção de anticorpos nos mamíferos, sendo sua existência ainda muito discutida nos insetos e aceita como um complemento da defesa celular. Os principais fatores de defesa humoral são classificados em preexistentes ou inatos e adquiridos ou induzidos. Em se tratando dos fatores preexistentes, a hemolinfa contém a enzima fenoxidase considerada de importância primária no processo de encapsulação. Também proteínas e polifenóis podem ser depositados na superfície de patógenos presentes na hemolinfa, concorrendo para uma menor proliferação dos mesmos. A imunidade pode ainda ser induzida através da injeção de determinado patógeno, ocorrendo, portanto, a suscetibilidade do inseto ao patógeno, sendo que essa característica não é transmitida à sua descendência (Alves 1998).

Estudos sobre a resposta imune de *Z. angusticollis* infectados com a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* e o fungo *M. anisopliae* revelam que uma exposição prévia ao patógeno confere a esses cupins um grau de proteção durante a exposição subsequente ao mesmo patógeno (Rosengaus et al. 1999). Saad e Schmid-Hempel (2006) demonstraram também que, em *Bombus terrestris*, após várias semanas seguintes à primeira exposição às bactérias *Pseudomonas fluorescens*, *Paenibacillus alvei* e *Paenibacillus larvae*, há um aumento da proteção e uma estreita especificidade em uma exposição secundária.

Peptídeos de ação antimicrobiana como lisozima e N-acetylmuramilhidrolase são comumente encontrados na hemolinfa de várias ordens de insetos. Lisozima ataca primariamente bactérias Gram-positivas, embora haja algumas exceções, por exemplo, Gram-negativas tais como mutantes de *Escherichia coli* (Gliński e Buczek 2003).

Em abelhas, há vários grupos de fatores imunológicos humorais para resistir infecções microbianas. Peptídeos do grupo apidaecina representam um grande grupo rico em prolina e de atividade antibacteriana contra bactérias associadas a plantas, fitopatogênicas, e bactérias entéricas. Elas são o principal componente da defesa humoral induzida contra invasões bacterianas. Ação antibacteriana de apidaecinas é mantida na defesa de abelhas pela abaecina e hymenoptaceína. Abaecina é peptídeo rico em prolina de efeito moderado sobre bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Hymenoptaceína é uma proteína rica em glicina com atividade bactericida para bactérias Gram-negativas e Gram-positivas (Casteels et al. 1990, 1993 *apud* Gliński e Buczek 2003).

Em adição à produção de peptídeos antibacterianos, o corpo gorduroso de insetos infectados sintetiza moléculas cíclicas com atividade antifúngica e antibacteriana (Gliński e Buczek 2003).

A evolução da resistência tem sido um mecanismo de defesa encontrado em insetos inclusive contra as táticas de controle de pragas. Sabe-se que o alto parentesco entre os indivíduos em colônias de insetos sociais pode facilitar a transmissão de doenças (Schmid-Hempel 1998). Entretanto, o impacto do parasita sobre o grupo pode ser reduzido se esse grupo for constituído por múltiplos genótipos e se esses genótipos variam na sua resistência ao parasita. Se determinados grupos consistem de indivíduos com variabilidade genética para a resistência a parasitas, então, há várias formas pelas quais essa característica pode

beneficiar o grupo: (1) A transmissão de um parasita entre indivíduos pode ser dificultada porque parasitas adaptados à infecção de um genótipo particular podem ser menos capazes de infectar indivíduos de outros genótipos. (2) A probabilidade de pelo menos alguns membros do grupo serem resistentes e, portanto, sobreviverem a uma infecção parasítica será maior. Essa diversidade genética será benéfica para as colônias, desde que a proporção média de indivíduos sobreviventes esteja acima do limiar necessário para a colônia sobreviver. (3) Indivíduos suscetíveis podem-se beneficiar dos mecanismos de defesa de indivíduos resistentes, por exemplo, através do “allogrooming” ou da transferência de defesas antimicrobianas. (4) A adaptação de parasitas à colônia hospedeira sobre gerações sucessivas terá sido dificultada se a colônia consiste de múltiplos genótipos (Hughes e Boomsma 2004).

A variação genética para a resistência a parasitas tem sido demonstrada em *B. terrestris* (Baer e Schmid-Hempel 2003), *A. mellifera* (Palmer e Oldroyd 2003) e *Acromyrmex* spp. (Hughes e Boomsma 2004). Em *A. echinator*, quando se comparou a resistência ao parasita *M. anisopliae* entre grupos de formigas de alta e baixa diversidade genética, constatou-se que nenhuma diferença foi encontrada em altas doses do parasita, mas houve aumento significativo na resistência em grupos de alta diversidade genética infectados com baixas doses do parasita. Tal variação genética para resistência a doenças significa que existe o potencial para a poliandria em produzir colônias mais resistentes a doenças (Hughes e Boomsma 2004). Contudo, múltiplos acasalamentos reduzem a média de parentesco na colônia. Isto representa um problema ao explicar a socialidade em Hymenoptera somente através da seleção de parentesco. Enquanto a teoria da seleção de parentesco requer alto grau parentesco genético entre os indivíduos que cooperam na colônia, múltiplos acasalamentos diminuem esse parentesco. Portanto, a necessidade de segurança da colônia contra parasitas e doenças parece ter vencido a necessidade de manter o alto parentesco entre himenópteros eusociais (Gadagkar 1992).

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em associações de parasitismo, os interesses do parasita e de seu hospedeiro são opostos de forma que qualquer tentativa do parasita em aumentar seus benefícios pode ser contrariada pelo seu hospedeiro o qual se defende contra

a exploração. Como resultado, cada simbiote evolui em resposta ao outro em um processo chamado coevolução. Quando os simbiotes coevoluem em uma série de adaptações e contra-adaptações, com cada simbiote continuamente se adaptando à pressão seletiva exercida sobre ele pelo outro, pode-se dizer que eles estão engajados em uma espécie de “corrida coevolutiva” (arms race).

Essa situação é exemplificada através da simbiose entre insetos e parasitas em que patógenos conseguem vencer as barreiras naturais de seus hospedeiros através da produção de enzimas e toxinas e assim aumentar sua virulência. Em contrapartida, os insetos evoluem uma série de estratégias de defesa descritas nessa revisão para lidar com a invasão desses parasitas. Tais defesas, em insetos sociais, culminam até mesmo com a redução do custo da transmissão de doenças na colônia frente aos benefícios que a interação entre os indivíduos pode trazer.

O conhecimento de tais estratégias inerentes aos insetos sociais tem grande aplicabilidade em situações práticas. Em se tratando de insetos úteis, os conhecimentos de biologia básica podem também ser aplicados, por exemplo, em criadouros, onde a presença do comportamento de higiene nas colônias pode caracterizar uma situação de estabilidade nessas colônias. Em relação aos insetos-praga, conhecer seus mecanismos de defesas contra patógenos é de grande importância em estratégias de controle biológico através de microrganismos patogênicos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKINO T.; TURUSHIMA T.; YAMAOKA R. 3-Formyl-7,11-dimethyl-(2E,6Z,10)-dodecatrienal: antifungal compound in the mandibular of the ant *Lasius fuliginosus* Latreille. Nip. Nog. Kaish., v. 69, p. 1581-1586, 1995.

ALVES S. B. Controle microbiano de insetos. Piracicaba: Fealq, 1998.

AUTUORI M. Contribuição para o conhecimento da saúva (*Atta* spp. IV) O saúveiro depois da primeira revoada (*Atta sexdens rubropilosa* Forel, 1908). Arq. Inst. Biol., v. 18, p. 39-70, 1947.

AYASSE M.; PAXTON, R.J. Brood Protection in Social Insects. <http://www.qub.ac.uk/bb/people/paxton/pdf/PaxtonBuch2002.pdf> (acessado em 10/nov/2006).

BAER B.; SCHMID-HEMPEL P. Bumble beeworkers from different sire groups vary in susceptibility to parasite infection. *Ecol. Lett.*, v. 6, p. 106-110, 2003.

BASS M.; CHERRETT J.M. The role of leaf-cutting ant workers (Hymenoptera: Formicidae) in fungus garden maintenance. *Ecol. Entomol.*, v. 19, p. 215-220, 1994.

BENTO J.M.S.; DELLA LUCIA T.M.C.; MUCHOVEJ R.M.C.; VILELA E.F. Influência da composição química e da população microbiana de diferentes horizontes do solo no estabelecimento de saúveiros iniciais de *Atta laevigata* (Hymenoptera: Formicidae) em laboratório. *Ann. Soc. Entomol. Bras.*, v. 20, p. 307-317, 1991.

BOT A.N.M.; CURRIE C.R.; HART A.G.; BOOMSMA J.J. Waste management in leaf-cutting ants. *Ethol. Ecol. & Evol.*, v. 13, p. 225-237, 2001a.

CHRISTE P.; OPPLIGER A.; BANCALÀ F.; CASTELLA G.; CHAPUISAT M. Evidence for collective medication in ants. *Ecol. Lett.*, v. 6, p. 19-22, 2003.

CURRIE C.R.; MUELLER U.G.; MALLOCH D. The agricultural pathology of ant fungus gardens. *Proc. Nat. Acad. Sc. Unit. Stat. Am.*, v. 96, p. 7998-8002, 1999.

CURRIE C.R.; SCOTT J.A.; SUMMERBELL R.C; MALLOCH D. Fungus-growing ants use antibiotic-producing bacteria to control gardens parasites. *Nature*, v. 398, p.701-704, 1999.

CURRIE, C.R.; STUART, A.E. Weeding and grooming of pathogens in agriculture by ants. *Proc. R. Soc. Lond.*, v. 268, p. 1033-1039, 2001.

CURRIE C.R.; POULSEN M.; MENDENHALL J.; BOOMSMA J.J.; BILLEN J. Coevolved crypts and exocrines glands support mutualistic bacteria in fungus-growing ants. *Science*, v. 311, p. 81-83, 2006.

DUMPERT K. The social biology of ants. Berlin and Hamburg: Editora Verlag Paul Parey, 1978.

EVANS J.D.; ARMSTRONG T. Antagonistic interactions between honey bee bacterial symbionts and implications for disease. *BMC Ecol.*, v. 6, p. 1-9, 2006.

GADAGKAR R. Disease and social evolution. *Cur. Sci.*, v. 63, p. 285-286, 1992.

GAMBINO P. Antibiotic activity of larval saliva of *Vespula* wasps. *J. Invertebr.Pathol.*, v. 61, p. 110, 1993.

GLIŃSKI Z.; JAROSZ J. Mechanical and biochemical defences of honey bees. *Bee World.*, v. 76, p. 110-118, 1995.

GLIŃSKI Z.; JAROSZ J. The honey bee defense in mycotic diseases. *Honeybee Sci.*, v. 21, p. 69-74, 2000.

GLIŃSKI Z.; BUCZEK K. Response of the apoidea to fungal infections. *Apiacta*, v. 38, 183-189, 2003.

HART A.G.; RATNIEKS F.L.W. Task partitioning, division of labour and nest compartmentalisation collectively isolate hazardous waste in the leafcutting ant *Atta cephalotes*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v. 49, p. 387-392, 2001.

HART A.G.; RATNIEKS F.L.W. Waste management in the leaf-cutting ant *Atta colombica*. *Behav. Ecol.*, v. 13, p. 224-231, 2002.

HUGHES W.O.H.; EILENBERG J.; BOOMSMA J.J. Trade-offs in group living: transmission and disease resistance in leaf-cutting ants. *Proc. R. Soc. Lond.*, v. 269, p. 1811-1819, 2002.

HUGHES W.O.H.; BOOMSMA J.J. Let your enemy do the work: within-host interaction between two fungal parasites of leaf-cutting ants. *Proc. R. Soc. Lond.* v. 271, p. 104 -106, 2004.

HUGHES W.O.H.; BOOMSMA J.J. Genetic diversity and disease resistance in leaf-cutting ant societies. *Evolution*, v. 58, p. 1251-1260, 2004.

HUGHES W.O.H.; THOMSEN L.; EILENBERG J.; BOOMSMA J.J. Diversity of entomopathogenic fungi near leaf-cutting ant nests in a neotropical forest, with particular reference to *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.*, v. 85, p. 46-53, 2004.

KRAMM K.R.; WEST D.F.; ROCKENBACH P.G. Termite pathogens: Transfer of the entomophagous *Metarhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. termites. *J. Invertebr. Pathol.* v. 40, p. 1-6, 1982.

LACERDA F.G.; DELLA LUCIA T.M.C.; LIMA E.R.; CAMPOS L.A.; PEREIRA O.L. Waste management by workers of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) in colonies supplied with different substrates. *Sociobiology*, v. 48, p. 165-173. 2006.

LACERDA F. G. ; DELLA LUCIA T.M.C. ; PEREIRA O.L.; PETERNELLI L.A. ; TÓTOLA M.R. Mortality of *Atta sexdens rubropilosa* (Hymenoptera: Formicidae) workers in contact with colony waste from different plant sources. *Bulletin of Entomological Research*, p. 1-5, 2009.

LITTLE A.E.F.; MURAKAMI T.; MUELLER U.G.; CURRIE C.R. Defending against parasites: fungus-growing ants combine specialized behaviours and microbial symbionts to protect their fungus gardens. *Biol. Lett.*, v. 2, p. 12-16, 2005.

PALMER K.A.; OLDROYD B.P. Evidence for intra-colonial genetic variance in resistance to American foul brood of honey bees (*Apis mellifera*): further support for the parasite/pathogen hypothesis for the evolution of polyandry. *Naturwissenschaften*, v. 90, p. 265-268, 2003.

POULSEN M.; BOT A.N.M.; NIELSEN M.G.; BOOMSMA J.J. Experimental evidence for the costs and hygienic significance of the antibiotic metapleural gland secretion in leaf-cutting ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v. 52: p. 151-157, 2002.

QUINLAN R.J.; CHERRETT J.M. The role of substrate preparation in the symbiosis between the leaf-cutting ant *Acromyrmex octospinosus* (Reich) and its food fungus. *Ecol. Entomol.*, v. 2, p. 161-170, 1977.

QUINLAN R.J.; CHERRETT J.M. The role of the fungus in the diet of the leaf-cutting ant *Atta cephalotes*. *Ecol. Entomol.*, v. 4, p. 151-160, 1979.

REYNALDI F.J.; ALIPPI A.M.; DE GIUSTI M. R. Inhibition of the growth of *Ascosphaera apis* by *Bacillus* and *Paenibacillus* strains isolated from honey. *Ver. Arg. Microbiol.*, v. 36, p. 52-55, 2004.

ROBINSON G.E.; PAGE R.E. Genetic determination of guarding and undertaking in honey-bee colonies. *Nature*, v. 333, p. 356-358, 1988.

ROSENGAUS R.B.; MAXMEN A.B.; COATES L.E.; TRANIELLO F.A. Disease resistance: a benefit of sociality in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera: Termopsidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, v. 44, p. 125-134, 1998.

ROSENGAUS R.B.; TRANIELLO J.F.A.; CHEN T.; BROWN J.J. Immunity in social insect. *Naturwissenschaften*, v. 86, p. 588-591, 1999.

ROSENGAUS R.B.; JORDAN C.; LEFEBVRE M.L.; TRANIELLO J.F.A. Pathogen Alarm Behavior in a termite: A new form of communication in social insects. *Naturwissenschaften*, v. 86, p. 544-548, 1999.

ROSENGAUS R.B.; LEFEBVRE M.L.; TRANIELLO J.F.A. Inhibition of fungal spore germination by *Nasutitermes*: Evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. *J. Chem. Ecol.*, v. 26, p. 21-39, 2000.

SAAD B.M.; SCHMID-HEMPEL P. Insect immunity shows specificity in protection upon secondary pathogen exposure. *Cur. Biol.* v. 16, p. 1206-1210, 2006.

SANTOS A.V.; DILLON R.J.; DILLON V.M.; REYNOLDS S.E.; SAMUEL R.I. Occurrence of the antibiotic producing bacterium *Burkholderia* sp. in colony of the leaf-cutting ant *Atta sexdens rubropilosa*. *FEMS Microbiol. Lett.*, v. 239, p. 319-323, 2005.

SCHMID-HEMPEL P. Parasites in social insects. Editora Princeton, Princeton University Press, 1998.

SCHOETERS E., BILLEN J. 1993. Anatomy and fine structure of the metapleural gland in *Atta* (Hymenoptera, Formicidae). *Belgian Journal of Zoology* 123:67-75.

TRANIELLO, J.F.A.; ROSENGAUS, R.B.; SAVOIE, K. The development of immunity in a social insect: Evidence for the group facilitation of disease resistance. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, v. 99, p. 838-842, 2002.

VEAL D.A.; TRIMBLE J.E.; BEATTIE A.J. Antimicrobial properties of secretions from the metapleural glands of *Myrmecia gulosa* (The Australian bull ant). *J. App. Bacteriol.*, v. 72, p.188-194, 1992.

WEBER N. Gardening ants: the Attines. Philadelphia: Editora: American Philosophical Society, 1972.

WILSON E.O. The insect societies. Cambridge: Harvard University Press, 1971.