

MICROBIOTA BACTERIANA PRESENTE EM OPERÁRIAS DA FAMÍLIA FORMICIDAE (HYMENOPTERA) PRESENTES NO IFSP, CAMPUS AVARÉ, SP

VITOR LIMA MACEDO SALES¹, EDUARDO AUGUSTO CORREA MENDES¹, LUIS GUILHERME
SIQUEIRA², GEZA THAIS RANGEL E SOUZA³

1 Licenciando em Ciências Biológicas, Bolsista PIBIFSP, IFSP - campus Avaré, vitorlmsales@gmail.com.

2 Técnico de Laboratório, IFSP - campus Avaré.

3 Docente, IFSP - campus Avaré.

Área de conhecimento (Tabela CNPq): 2.12.01.00-5 Biologia e Fisiologia dos Microorganismos

RESUMO: Atualmente existem cerca de 20.000 espécies de insetos pertencentes à Família Formicidae, sendo 1.458 de ocorrência no Brasil, distribuídas em 111 gêneros. O número de gêneros desta em dado ambiente é determinado por diversos fatores ecológicos, tais como vegetação e sua heterogeneidade. As formigas, apesar de sua sinantropia não causar medo ou repulsa ao homem, podem agir como vetores de micro-organismos (bactérias e fungos), incluindo patógenos. Este estudo visa identificar e caracterizar a associação mirmecofauna-microbiota, em duas áreas no IFSP câmpus Avaré. O conteúdo coletado será encaminhado para o laboratório de Microbiologia do IFSP - Avaré, para a identificação, contagem e inoculação da microbiota/gênero coletado. A mirmecofauna apresentou seis gêneros: *Atta*, *Dolichoderus*, *Crematogaster*, *Tapinoma* e *Paratrechina* (campo de futebol) e *Tapinoma* e *Hypoconera* (horta). A formação de colônias bacterianas após inoculação da microbiota associada ocorrem em 20% dos meios PDA 20% e em 75% dos meios MH. Os testes bioquímicos ainda estão em andamento, bem como a coloração de Gram, visando a identificação das bactérias. Espera-se uma distribuição populacional da mirmecofauna diversa entre os ambientes e diferentes gêneros microbianos.

PALAVRAS-CHAVE: Microbiota; formigas; Hymenoptera; Bactéria.

BACTERIAL MICROBIOT PRESENT IN FORMICIDAE FAMILY WORKERS (HYMENOPTERA) PRESENT AT IFSP, CAMPUS AVARÉ, SP

ABSTRACT: Currently there are about 20,000 species of insects belonging to the Formicidae Family, 1,458 of which occur in Brazil, distributed in 111 genera. The number of genera of this species in a given environment is determined by several ecological factors, such as vegetation and its heterogeneity. Ants, although their synanthropy does not cause fear or revulsion to humans, can act as vectors for microorganisms (bacteria and fungi), including pathogens. This study aims to identify and characterize the ants-microbiota association, in two areas in the IFSP campus Avaré. The collected content will be sent to the Microbiology laboratory of the IFSP - Avaré, for the identification, counting and inoculation of the collected microbiota / genus. The ants presented six genera: *Atta*, *Dolichoderus*, *Crematogaster*, *Tapinoma* and *Paratrechina* (soccer field) and *Tapinoma* and *Hypoconera* (vegetable garden). The formation of bacterial colonies after inoculation of the associated microbiota occurs in 20% of PDA media 20% and in 75% of MH media. Biochemical tests are still ongoing, as well as Gram stain, aiming at the identification of bacteria. A diverse population distribution of the ants is expected between environments and different microbial genera.

KEYWORDS: Microbiota; Ants; Hymenoptera; Bacteria.

INTRODUÇÃO

Atualmente existem cerca de 20.000 espécies da Família Formicidae (Hymenoptera), possuem uma distribuição cosmopolita, sendo ausentes nos Círculos Polares, com maior abundância, frequência e diversidade nos trópicos. No Brasil, abrigam-se aproximadamente 1.458, distribuídas em 111 gêneros, possuindo a segunda maior diversidade de espécies de formigas do planeta. (BACCARO et al., 2015; HÖLLDOBLER; WILSON, 1990; WILSON, 1987). As formigas não só tem grande abundância em florestas, como em outros ecossistemas naturais, além de estar presentes no ambiente urbano, podendo ser encontradas em ambientes domiciliares, infestando alimentos e áreas agricultáveis, através da disseminação que podem proporcionar de diferentes micro-organismos presentes em sua microbiota, sejam fungos ou bactérias (BACCARO et al., 2015). Com isso, alguns estudos realizados abordam a possibilidade de as formigas agirem como vetores de micro-organismos, incluindo patógenos (FONTANA et al., 2015). Portanto, inventários e identificações de formigas, conjuntamente com sua microbiota, presentes em fragmentos florestais são de extrema importância para reconhecer a sua microbiota presente na família Formicidae, prevenindo os possíveis riscos causados por esta a população.

Existem muitos trabalhos sobre formigas vetores de microorganismos patogênicos, boas parcelas dessas formigas habitam regiões próximas ou até mesmo dentro de hospitais. Foi constatado diversos gêneros patogênicos associados a essas formigas nestes hospitais. No estudo realizado por Pesquero et al. (2008), foram encontrados diversos gêneros de formigas em um ambiente hospitalar, mais precisamente no Hospital Municipal de Morrinhos, localizado no estado de Goiás – Brasil. Estes gêneros, alguns bem comuns como *Pheidole*, *Brachymyrmex*, *Hipoponera* e *Paratrechina*, foram encontrados juntamente com bactérias patogênicas, como por exemplo, os gêneros *Streptococci*, *Enterococci*, *Micrococcus*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter* e entre outros. Outro estudo semelhante, foi realizado no hospital escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro, na cidade de Uberaba, Minas Gerais - Brasil. Neste estudo, foram encontradas três espécies de formigas, *Tapinoma mOelanocephalum*, *Pheidole sp* e *Paratrechina longicornis*, estas funcionaram como vetores mecânicos pra bactérias como, *Staphylococcus*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Candida* e *Enterococcus*, além da presença de fungos filamentosos (COSTA, 2006).

MATERIAL E MÉTODOS

As coletas foram realizadas durante o dia, dando preferência aos locais onde é possível observar formigas em atividade no ambiente, sendo estes locais o campo de futebol e a horta do IFSP - campus Avaré, estão programadas duas coletas, uma no período de inverno (já realizada) e outra no verão (a ser realizada em novembro). Foram amostradas até o momento 10 formigas em cada área (campo e horta), totalizando 20 formigas, coletadas ativamente com auxílio de pinça de ponta fina esterilizada (uma por espécime), inseridos em um tubo de ensaio com água estéril, sendo identificadas por numeração, data e local de coleta. Este meio estéril foi utilizado para a inoculação da microbiota bacteriana. A identificação taxonômica dos gêneros das formigas foi realizada com o auxílio de uma chave de identificação (BACCARO, 2006). Após a inoculação microbiana cada espécime de formiga coletada foi acondicionada em eppendorf (2 ml) contendo álcool 70 °GL.

Para a inoculação microbiana, os tubos (água estéril e formiga) foram agitados manualmente e inoculados por derramamento, com auxílio de alça de Drigalski estéril, nos meios sólidos MH (Müller Hinton) e PDA (Ágar Batata Dextrose). As placas de Petri (identificadas com meio, data e local) foram incubadas à 35°C por 24/48 horas, em estufa bacteriológica.

As colônias obtidas ainda serão isoladas e semeadas por esgotamento de estrias, com auxílio de alça de platina, em meios seletivos EMB (Eosina Azul de Metileno), MacConkey, Salmonella-Shigella e Citrato de Simmons, incubados em estufa à 35°C por 24/48 H. A composição dos meios seletivos proporciona crescimento para diferentes grupos bacterianos. O Ágar MacConkey contém sais biliares e cristal violeta para inibir o crescimento de bactérias Gram-positivas, permitindo, portanto, o crescimento de bactérias Gram-negativas, fermentadoras de lactose, O meio Ágar EMB promove o crescimento de bactérias Gram Negativas (*Enterococcus*), o Ágar SS (Salmonella-Shigella) e Ágar Citrato Simmons (CIT). As colônias isoladas pelos meios seletivos serão submetidas aos testes VMVP (Vermelho de Metila e Voges Proskauer), SIM e TSI em tubos de ensaio, verificando a presença de coliformes termotolerantes. A coloração de Gram das colônias isoladas serão realizadas para verificar a forma e o arranjo bacteriano.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A região tropical abriga grande diversidade de mirmecofauna, associada tanto a ambientes silvestres como urbanos (FONSECA et al., 2010), entretanto poucas espécies ocasionam problemas ao homem, e apenas 1% pode ser considerada praga (BUENO; CAMPOS-FARINHA, 1999). Sua presença constante em associação com a população humana e sua ampla dispersão gera um questionamento sobre a capacidade de disseminação da microbiota por meio desses insetos. Neste contexto é essencial compreender quais espécies estão em associação (mirmecofauna - microbiota) e de que forma as formigas podem ser utilizadas como carreadores de micro-organismos.

A mirmecofauna coletada foi constituída seis gêneros, distribuídos de maneira distinta entre os pontos. No ponto ‘campo de futebol’ foram coletadas espécimes dos gêneros *Atta* (n = 3), *Dolichoderus* (n = 2), *Crematogaster* (n = 2), *Tapinoma* (n = 2) e *Paratrechina* (n = 1). Já no ponto ‘horta’ ocorreram somente dois gêneros *Tapinoma* (n = 9) e *Hypoponera* (n = 1).

A presença de *Atta* sp. no ‘campo de futebol’ pode estar associada à sua biologia, visto que, de acordo com Castellani et al. (2007), das nove espécies de *Atta* que ocorrem no Brasil, quatro cortam preferencialmente monocotiledôneas para o crescimento de seus fungos simbiotes (*A. capiguara*, *A. bispaherica*, *A. goiana* e *A. vollenweideri*), como é o caso das gramíneas. As operárias de *A. capiguara* apresentam atos comportamentais particulares durante o forrageamento, como cortar e transportar a folha de gramínea de tamanho muito maior do que a sua envergadura (GARCIA, 2005), além disso estas realizam várias tarefas ao mesmo tempo, tais como o corte e o transporte deste vegetal.

Sobre o gênero *Dolichoderus*, Van-Mele e Cuc (2001) relataram que este é utilizado em alguns sistemas agrícolas tradicionais como agentes de controle biológico, não sendo necessária a utilização de inseticidas nestes locais. Sua presença no local ‘campo de futebol’ foi inesperada, visto que a mesma normalmente está associada com ambientes de cultivo, apresentando um potencial como agente de controle de organismos que causam danos a plantas cultivadas.

As formigas do gênero *Crematogaster* pertencem à subfamília Myrmicinae e apresentam distribuição cosmopolita com 789 espécies descritas (FELIZARDO, 2010). Nos fragmentos florestais tropicais são encontradas em todos os estratos florestais (do solo à copa das árvores) apresentando várias interações com outros animais e plantas, apresentando também espécies adaptadas ao ambiente urbano. No presente estudo foram encontradas somente no ambiente ‘campo de futebol’, havendo a possibilidade do formigueiro estar associado a outras áreas do campus.

O gênero *Paratrechina* apresenta distribuição cosmopolita, sendo algumas introduzidas em novas regiões por meio do comércio e se instalando em diversos tipos de edificações (SOLIS et al., 2007). As duas espécies registradas no Brasil: *P. fulva* (nativa) e *P. longicornis* (introduzida) são consideradas formigas domiciliares (*tramp species*) visto que apresentam um conjunto de características que permitem sua adaptação e sobrevivência. Além disso, este gênero já foi relatado como vetor mecânico para micro-organismos patogênicos em hospitais. Nestes locais *P. longicornis* é considerada a segunda espécie mais importante como vetor microbiológico, ficando atrás somente de *Tapinoma* sp. (BUENO; FOWLER, 1994). Sua presença no ‘campo de futebol’ pode ser devida à proximidade deste com as edificações do campus, visto sua preferência por edificações.

As espécies do gênero *Tapinoma* já foram registradas em residências e hospitais, constituem-se como pragas domésticas por consumirem vários tipos de alimento, tendo preferência por substâncias adocicadas (CAMPOS-FARINHA et al., 1995; BUENO; CAMPOS-FARINHA, 1999; OLIVEIRA; CAMPOS-FARINHA, 2005).

O gênero *Hypoconera* (Formicidae: Ponerinae) é considerado cosmopolita, sendo a maioria das espécies predadora generalista com raras espécies invasoras generalistas (GUIMARÃES, 2015). Estas espécies são epigeicas e se escondem rapidamente no substrato quando descobertas, fato que pode ter corroborado com o baixo número amostrado. Suas espécies apresentam hábito de vida críptico (ninhas no solo, embaixo de pedras, frutos e troncos em decomposição), forrageando bem próximo do local onde nidificam, na serrapilheira e em outros micro-habitats protegidos (GUIMARÃES, 2015). Estas características podem justificar a presença deste exemplar nas proximidades da ‘horta’, visto que neste local encontram abrigo e alimento disponíveis.

A análise microbiológica preliminar, realizada nos meios MH e PDA, demonstrou que os gêneros amostrados apresentam microbiota associada. Nos meios PDA 20% das amostras inoculadas apresentaram desenvolvimento de colônias microbianas, em especial as inoculadas dos espécimes de *Tapinoma* sp. (2) e *Atta* sp. (2). No meio MH o crescimento bacteriano ocorreu em 75% das placas inoculadas, com destaque para os gêneros *Tapinoma* (9), *Dolichoderus* (2), *Atta* (1), *Pratrechina* (1),

Crematogaster (1) e *Hypoponera* (1). Todos os gêneros amostrados configuraram-se, portanto, como vetores mecânicos de bactérias. O risco patogênico associado ainda será avaliado pela inoculação em meios seletivos e coloração de Gram, visando a identificação bacteriana.

Segundo Alcantra (2018), o gênero *Staphylococcus* tem grande destaque por apresentarem simbiose a família Formicidae, mas também outros gêneros também podem ser encontrados associados as formigas. Como, os gêneros *Serratia*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Salmonella*, *Escherichia* e *Enterococcus*, além do próprio *Staphylococcus*, são patógenos em potencial para serem encontrados em formigas.

CONCLUSÕES

Existe nas áreas externas do câmpus uma relativa diversidade de gêneros de formigas, os locais amostrados apresentam alta taxa de circulação humana, seja de discentes, docentes, servidores e terceirizados. Atualmente, em virtude da suspensão das atividades presenciais pelo COVID-19, o local 'horta' tem sido mais utilizado (para manutenção por servidores), entretanto a associação da mirmecofauna com a microbiota, nesses locais bem como em outras dependências do câmpus, precisa ser investigada com fins preventivos. Já que, foi visto uma forte relação positiva dos gêneros encontrados de formigas com micro-organismos com potencial patogênico.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à PRP e à CPI-AVR pela concessão de bolsa e fomento para o desenvolvimento deste projeto (Edital 10/2019), ao IFSP Câmpus Avaré pela autorização para coleta e pela utilização de estrutura laboratorial.

REFERÊNCIAS

ALCANTRA, E.; MONTEIRO, T.F.; MENDONÇA A.T.; FREITAS, A.S.; CARVALHO, A.F.S. Identificação de formigas associadas à *Staphylococcus* spp. em diferentes ambientes. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**. v. 3. 2018; 16:1-8.

BACCARO, F.B.; FEITOSA, R.M.; FERNÁNDEZ, F.; FERNANDES, I.O.; IZZO, T.J.; SOUZA, J.L.P.; SOLAR, R. Guia para os gêneros de formigas do Brasil. **Manaus: Editora INPA**. p. 18-43, 2015.

BACCARO, F.B. Chave para as principais subfamílias e gêneros de formigas (Hymenoptera: Formicidae). Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia–INPA, **Programa de pesquisa em Biodiversidade–PPBIO**, Faculdades Cathedral. Manaus, 2006.

BUENO, O.C.; CAMPOS-FARINHA, A.E.C. As formigas domésticas. In: MARICONI, F.A.M. (Ed.). **Insetos e outros invasores de residência**. Piracicaba: Fealq, 1999. p. 135-180.

BUENO O.C.; FOWLER H.G. Exotic ants and native ant fauna of Brazilian hospitals. In: WILLIAMS, D.F. (ed.) **Exotic ants: biology, impact, and control of introduced species**. Boulder: Westview, 1994. p. 191-7.

CAMPOS-FARINHA, A.E.C.; JUSTI, J.; BERGMANN, E.C.; ZORZENON, F.J.; RODRIGUES NETTO, S.M. Formigas urbanas. **Boletim Técnico do Instituto Biológico**, v. 1, p. 1-21, 1995.

CASTELLANI, M.A.; FORTI, L.C.; MOREIRA, A.A.; CRUSCIOL, A.P.P.A. Biologia de formigas cortadeiras de gramíneas: uma visão prática. **Biológico**, v. 69, n. 2, p. 73-76, 2007.

COSTA, S. B.; PELLI, A.; CARVALHO, G. P.; OLIVEIRA, A. G.; SILVA, P. R. D.; TEIXEIRA, M. M.; ... & MORAIS, C. A. D. Formigas como vetores mecânicos de microorganismos no Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, Minas gerais – Brasil. v. 39, n. 6, p. 527-529. 2006.

FELIZARDO, S.P.S. **Revisão taxonômica do grupo limata de *Crematogaster* Lund, 1831 (Formicidae: Myrmicinae: Crematogastrini)**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Pará, Museu Paraense Emílio Goeldi, Belém, 2010.

FONSECA, A.R.; BATISTA, D.R.; AMARAL, D.P.; CAMPOS, R.B.F.; SILVA, C.G. Formigas (Hymenoptera: Formicidae) urbanas em um hospital no município de Luz, Estado de Minas Gerais. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 32, n. 1, p. 29-34, 2010.

FONTANA, R.; WETLER, R.M.C.; AQUINO, R.S.S.; ADRIOLI, J.L.; QUEIROZ, G.R.G.; FERREIRA, S.L.; NASCIMENTO, I.C.; DELABIE, J.H.C. Disseminação de bactérias patogênicas por formigas (Hymenoptera: Formicidae) em dois hospitais do nordeste do Brasil. **Neotropical Entomology**, v. 39, n. 4, p. 655-663, 2010.

GARCIA, M.G. **Biologia de *Atta capiguara* Gonçalves, 1944 (Hymenoptera: Formicidae): seleção, preparo e utilização de substratos para o cultivo do fungo simbiote**. Tese (Doutorado), UNESP, Botucatu, Brasil, 2005.

GUIMARÃES, I.N. **Contribuições ao conhecimento da morfologia de espécies do *Hypoponera* spp. complexo Foreli (Hymenoptera: Formicidae, Ponerinae) do Brasil**. Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Sta Cruz, Bahia - Brasil, 2015.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E. **The ants**. Crambidge: Harvard University Press, 1990. 746 p.

OLIVEIRA, M.F.; CAMPOS-FARINHA, A. E. Formigas urbanas do município de Maringá, PR, e suas implicações. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 1, 2005, p. 33-39.

PESQUERO, M. A.; ELIAS FILHO, J.; CARNEIRO, L. C.; FEITOSA, S. B.; OLIVEIRA, M. A.; QUINTANA, R. C. Formigas em ambiente hospitalar e seu potencial como transmissoras de bactérias. **Neotropical Entomology** (online), v.37, n.4, 2008.

SOLIS, D.R.; BUENO, O.C.; MORETTI, T.C.; SILVA, T.F. Observações sobre a biologia da formiga invasora *Paratrechina longicornis* (Latreille, 1802) (Hymenoptera, Formicidae) em ambiente urbano brasileiro. **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 9, n. 1, 2007.

VAN-MELE, P.; CUC, N.T.T. Farmers' perceptions and practices in use of *Dolichoderus thoracicus* (Smith) (Hymenoptera: Formicidae) for biological control of pests of sapodilla. **Biological Control**, v. 20, 2001, p. 23-29.

WILSON, E.O. Causes of Ecological Success: The Case of the Ants. **The Journal of Animal Ecology**, v. 56, n. 1, p.1-9, 1987.