



UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

**MARLLON RINALDO DE LIMA ANDRADE**

**DIMORFISMO DE OPERÁRIOS EM *Constrictotermes cyphergaster* (ISOPTERA:  
TERMITIDAE): POLIETISMO E SOBREVIVÊNCIA QUANDO EXPOSTOS A  
*Aspergillus flavus***

**Campina Grande**

**Abril de 2020**

**MARLLON RINALDO DE LIMA ANDRADE**

**DIMORFISMO DE OPERÁRIOS EM *Constrictotermes cyphergaster* (ISOPTERA:  
TERMITIDAE): POLIETISMO E SOBREVIVÊNCIA QUANDO EXPOSTOS A**

*Aspergillus flavus*

Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Estadual da Paraíba, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

**Área de concentração:** Ecologia e Conservação de Ecossistemas Continentais.

**Orientador(a):** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Avany Bezerra Gusmão

**CAMPINA GRANDE**

**Abril de 2020**

É expressamente proibido a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano do trabalho.

A553d Andrade, Marllon Rinaldo de Lima.  
Dimorfismo de operários em *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera:Termitidae) [manuscrito] : polietismo e sobrevivência quando expostos a *Aspergillus flavus* / Marllon Rinaldo de Lima Andrade. - 2020.  
55 p. : il. colorido.  
Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) - Universidade Estadual da Paraíba, Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa, 2020.  
"Orientação : Profa. Dra. Maria Avany Bezerra Gusmão , Coordenação de Curso de Biologia - CCBS."  
1. Cupins. 2. Operários dimórficos. 3. Reparo de ninhos. 4. Imunidade social. I. Título  
21. ed. CDD 595.736

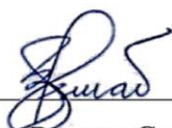
MARLLON RINALDO DE LIMA ANDRADE

DIMORFISMO DE OPERÁRIOS EM *Constrictotermes cyphergaster* (ISOPTERA:  
TERMITIDAE): POLIETISMO E SOBREVIVÊNCIA QUANDO EXPOSTOS A

*Aspergillus flavus*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Estadual da Paraíba, na linha de pesquisa Ecologia e Conservação de Ecossistemas Continentais.

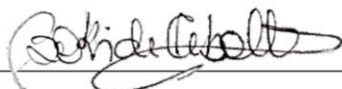
Aprovado em: 24/04/2020



---

Dr<sup>a</sup>. Maria Avany Bezerra Gusmão (UEPB)

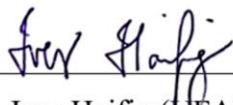
Orientador(a)



---

Dr<sup>a</sup>. Beatriz Susana Ovruski de Ceballos (UEPB)

Membro externo



---

Dr. Ives Haifig (UFABC)

Membro externo

**Campina Grande - PB**

**Abril de 2020**

**Ao meu pai e minha mãe, por todo amor,  
compreensão, investimento e apoio, DEDICO!**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus por sempre ser refúgio nas horas difíceis e por sempre estar trilhando e iluminando meus caminhos, abençoando minha jornada.

Minha eterna gratidão aqueles que me deram a vida, José Rinaldo e Ana Claudia, meus pais, que sempre foram exemplo de seres humanos em que eu me espelho todos os dias. Agradeço pelo investimento, apoio, compreensão e principalmente pelo amor incondicional. Muito obrigado, tudo isso é para vocês. Agradeço também aos meus irmãos, que apesar das mudanças de humor, correria e stress da vida acadêmica, sempre me compreenderam.

Deixo aqui o meu agradecimento especial a minha avó Maria de Fátima, que sempre está por perto oferecendo seu apoio acima de tudo. Muito obrigado, “vó”!

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dr<sup>a</sup>. Maria Avany Bezerra-Gusmão, pelo conhecimento, pelos puxões de orelha nos momentos oportunos, por sempre querer a minha evolução, por me ensinar o comprometimento com a ciência, mas principalmente pelo ser humano que ela é. A maior parte do meu “eu” cientista devo a senhora. Muito obrigado!

Quero agradecer também a todos aqueles que fazem parte do Laboratório de Ecologia de Térmitas da UEPB, pelos momentos de companheirismo, amizade e confraternização; vocês também são da minha família, em especial Carlos Moreno, Igor Eloi e Maria do Socorro.

Deixo minha gratidão especial ao meu amigo Igor Eloi Moreira, pelo auxílio nas análises estatísticas, sem você esse trabalho se tornaria mais difícil. Muito obrigado! Outro agradecimento especial vai para Ana Márcia, por sua valiosa ajuda no cultivo dos fungos, muito obrigado, Ana.

Gratidão a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, pelos valiosos ensinamentos, e ao técnico Júlio César, vocês fazem nosso programa ser de excelência, muito obrigado a todos. Agradeço também aos colegas da turma 2018.1 de mestrado desse programa, pelos momentos de descontração, amizade e partilha de conhecimentos, em especial a Camile Dias Avelino, que me acompanha desde a graduação, você faz parte da minha família, amiga.

Agradeço ao Prof. Dr. Og de Souza, coordenador do Laboratório de Termitologia da Universidade Federal de Viçosa (UFV), por ter me recebido e permitido que eu fizesse parte de sua equipe durante dois meses como parte do meu mestrado. Com certeza, as experiências adquiridas em seu laboratório sob sua supervisão e das Dr<sup>as</sup>. Avany Gusmão e Rebeca Rosengaus contribuíram significativamente para a conclusão deste estudo.

Obrigado a Dr<sup>a</sup>. Beatriz Ceballos e ao Dr. Ives Haifig pelo aceite em participar dessa banca de mestrado, com certeza vossas sugestões enriquecerão ainda mais esse estudo.

Agradeço a Capes pela concessão da bolsa de mestrado, sem ela o andamento do trabalho se tornaria mais difícil. Por fim, agradeço a todos que de alguma forma fizeram ou fazem parte dessa jornada, muito obrigado!

## RESUMO

A manutenção das colônias de cupins depende de diversos fatores inerentes ao modo de vida em sociedade que esses insetos apresentam, como a divisão de trabalho entre os indivíduos e a resistência a microrganismos que possam comprometer a colônia. Muitos cupins apresentam operários polimórficos, cuja característica pode estar associada a divisão de tarefas dentro da colônia, além de estratégias de vida que aumentam a sobrevivência da casta. O dimorfismo dos operários do cupim *Constrictotermes cyphergaster* já é conhecido, porém, a associação com o polietismo e a sobrevivência da casta ainda não é estabelecida. O presente estudo visou observar se há essa interação, e o mesmo foi dividido em dois capítulos: Capítulo 1 - Influência do dimorfismo morfológico no polietismo de operários de *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae) no reparo de ninhos, observando-se a atividade de reparo de seus ninhos em uma área de caatinga no estado da Paraíba. Quinze ninhos tiveram seu reparo observado em um intervalo de uma hora, e os operários coletados a cada cinco minutos, em células distintas da construção termítica. Os indivíduos analisados foram identificados em operários pequenos (Op) e grandes (Og). Indivíduos Op foram mais abundantes durante a atividade de reparo nos ninhos amostrados, verificando-se diminuição da quantidade de Og até o final da observação (1h). Houve redução na presença dos dois morfotipos com o aumento do volume dos ninhos. Nossos resultados, aliados a observações em campo, mostram que os operários dimórficos de *C. cyphergaster* apresentam comportamentos distintos no reparo do ninho, e que Op está mais engajado nessa atividade, enquanto que Og mimetiza a posição de defesa dos soldados no início da atividade; Capítulo 2 – Nesse capítulo, vimos a sobrevivência de operários dimórficos desse cupim exposto a fungo entomopatogênico - aqui nosso objetivo foi observar o tempo de sobrevivência dos operários (Op e Og) a suspensões do fungo *Aspergillus flavus*. Os bioensaios de sobrevivência foram feitos com os dois morfotipos tratados isoladamente e em conjunto. Indivíduos Op apresentaram maior tempo médio de sobrevivência em todas as suspensões testadas nos dois bioensaios, enquanto que o tempo de sobrevivência de Og aumentou quando tratado em conjunto com indivíduos Op. Os resultados podem fundamentar a hipótese do desenvolvimento de imunidade adquirida, visto que Op está mais frequente nas trilhas de forrageio e conseqüentemente mais expostos a patógenos e que, a sobrevivência dos indivíduos dentro da colônia pode aumentar devido ao estilo de vida em sociedade desses insetos a partir de estratégias de imunidade social.

**Palavras-chave:** Cupins. operários dimórficos. reparo de ninhos. imunidade social



## ABSTRACT

The maintenance of termite colonies depends on several factors inherent to the way of life in society that these insects present, such as the division of labor between individuals and resistance to microorganisms that may compromise the colony. Many termites have polymorphic workers, whose characteristic may be associated with the division of tasks within the colony, in addition to life strategies that increase the survival of the caste. The dimorphism of the *Constrictotermes cyphergaster* termite workers is already known, however, the association with polyethism and the survival of the caste is not yet established. The present study aimed to observe if there is this interaction, and it was divided into two chapters: Chapter 1 - Influence of the morphological dimorphism on the polyethism of *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae) workers in the repair of nests, observing the repair activity of their nests in a caatinga area in the state of Paraíba. Fifteen nests were repaired within an hour, and workers were collected every five minutes, in cells other than the thermite construction. The analyzed individuals were identified in small (SW) and large (LW) workers. SW individuals were more abundant during the repair activity in the sampled nests, with a decrease in the amount of LW until the end of the observation (1h). There was a reduction in the presence of both morphotypes with the increase in the volume of the nests. Our results, combined with field observations, show that the dimorphic workers of *C. cyphergaster* exhibit different behaviors in nest repair, and that SW is more engaged in this activity, while LW mimics the defense position of soldiers at the beginning of the activity; Chapter 2 - In this chapter, we saw the survival of dimorphic workers from this termite exposed to entomopathogenic fungus - here our objective was to observe the survival time of workers (SW and LW) to suspensions of the fungus *Aspergillus flavus*. The survival bioassays were performed with the two morphotypes treated separately and together. SW individuals had a longer average survival time in all suspensions tested in the two bioassays, while LW survival time increased when treated together with SW individuals. The results may support the hypothesis of the development of acquired immunity, since SW is more frequent on foraging trails and consequently more exposed to pathogens and that the survival of individuals within the colony may increase due to the lifestyle in society of these insects based on social immunity strategies.

**Keywords:** Termites. dimorphic workers. nest repair. social immunity

## LISTA DE FIGURAS

### Introdução Geral

- Figura 1 Figura1 – Georreferenciamento da Estação Experimental de São João do Cariri, Município de São João do Cariri, Paraíba, Brasil. .... 16

### Capítulo 1

- Figura 1 Dano físico feito em  $\frac{1}{4}$  da superfície superior de ninho de *Constrictotermes cyphergaster* para obtenção de dados da atividade de reparo..... 25
- Figura 2 Aspirador entomológico manual utilizado na coleta de cupins durante atividade de reparo em ninho de *Constrictotermes cyphergaster*..... 26
- Figura 3 Diferenças morfológicas para o pronoto de operários dimórficos (Op=operário pequeno e Og=operário grande) de *Constrictotermes cyphergaster*. Os espécimes foram visualizados com estereomicroscópio com aumento ocular de 1x..... 26
- Figura 4 Número de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* durante atividades de reparo (Op= operário pequeno, Og = operário grande), por unidade amostral, células/ninho. Barra em cinza mostra os volumes dos ninhos em litros..... 28
- Figura 5 Número médio de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* durante atividade de reparo em relação ao volume dos ninhos. Para cada morfotipo cada ponto no gráfico representa um ninho. Op=operário pequeno, Og=operário grande..... 29

### Capítulo 2

- Figura 1 Operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* (Op = operário pequeno, Og = operário grande), classificados visualmente a partir de caracteres morfológicos como tamanho do corpo e coloração da cápsula cefálica. As imagens foram adquiridas a partir do comprimento do tamanho do corpo, utilizando uma ocular milimetrada em estereomicroscópio com aumento de 1x. .... 39

Figura 2	Colônia pura do fungo <i>Aspergillus flavus</i> obtida a partir de ninhos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> . (A) Destaque para os conidióforos, estruturas produtoras de conídios, típicos de <i>Aspergillus</i> (B).....	40
Figura 3	Metodologia aplicada para obtenção de suspensões fúngicas seriadas de <i>Aspergillus flavus</i> . ADE – água destilada esterilizada.....	41
Figura 4	Modelo de bioensaio utilizado para observar a sobrevivência de operários dimórficos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> expostos a <i>Aspergillus flavus</i> tratados isoladamente.....	42
Figura 5	Modelo de bioensaio utilizado para observar a sobrevivência de operários dimórficos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> expostos a <i>Aspergillus flavus</i> tratados em conjunto. (Op=operário pequeno; Og=operário grande) .....	42
Figura 6	Mostra de agente causal, <i>Aspergillus flavus</i> , para operários dimórficos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> após 72 horas de contato. Detalhe para os diferentes estágios de infecção entre o operário pequeno - Op e operário grande - Og.....	43
Figura 7	Probabilidade de sobrevivência de operários pequenos (Op) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> expostos a diferentes suspensões do fungo <i>Aspergillus flavus</i> .....	45
Figura 8	Probabilidade de sobrevivência de operários grandes (Og) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> expostos a diferentes suspensões do fungo <i>Aspergillus flavus</i> .....	46
Figura 9	Probabilidade de sobrevivência para operários pequenos (Op) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> tratados em conjunto com operários grandes (Og) em diferentes suspensões de <i>Aspergillus flavus</i> .....	46
Figura 10	Probabilidade de sobrevivência de operários grandes (Og) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> tratados em conjunto com operários pequenos (Op) em diferentes suspensões de <i>Aspergillus flavus</i> .....	47

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

Tabela 1	Quantidade de operários dimórficos (Op e Og) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> coletados durante atividade de reparo em ninhos de diferentes volumes.....	27
----------	---	----

### Capítulo 2

Tabela 1	Comparações pareadas das suspensões do fungo <i>Aspergillus flavus</i> utilizadas para testes de sobrevivência dos operários Op (pequenos) e Og (grandes) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> tratados isoladamente.....	44
Tabela 2	Sobrevivência média (horas) de operários dimórficos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> tratados separadamente em diferentes suspensões fúngicas de <i>Aspergillus flavus</i> . Op= operários pequenos; Og=operários grandes; média seguida de erro padrão.....	45
Tabela 3	Comparações pareadas das suspensões do fungo <i>Aspergillus flavus</i> utilizadas para testes de sobrevivência de operários pequenos (Op) e grandes (Og) de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> tratados em conjunto.....	47
Tabela 4	Sobrevivência média (horas) de operários dimórficos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> tratados em conjunto em diferentes suspensões fúngicas de <i>Aspergillus flavus</i> . Op=operários pequenos; Og=operários grandes; média seguida de erro padrão.....	48

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1.1 <i>Constrictotermes cyphergaster</i> .....	15
2 ÁREA DE ESTUDO.....	16
3 REFERÊNCIAS.....	17
CAPÍTULO 1 .....	21
Introdução.....	23
Materiais e métodos.....	25
Resultados.....	27
Discussão.....	29
Referências.....	32
CAPÍTULO 2.....	35
Introdução.....	37
Materiais e métodos.....	39
Resultados.....	42
Discussão.....	48
Referências.....	52

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

Cupins ou térmitas são insetos eusociais cujas colônias vivem no sistema de ninhos (BIGNELL & EGGLETON, 2000). Esses organismos apresentam grande importância ecológica devido às modificações que causam nas paisagens dos ecossistemas em que estão inseridos. Eles participam na decomposição e reciclagem dos nutrientes, conseguem alterar a textura e a porosidade do solo, facilitando a infiltração de água (NASH & WHITFORD, 1995; HOLT & LAPAGE, 2000). Por isso, são peças-chaves essenciais na manutenção dos ambientes.

Os ninhos dos cupins podem ser construídos subterraneamente, de forma epígea ou arborícola, refletindo muito o hábito de vida das espécies (ELEOTÉRIO, 2000). Essas estruturas extremamente complexas do ponto de vista arquitetônico apresentam condições de temperatura, luminosidade e umidade controladas, proporcionando assim um lugar ideal para a sobrevivência e manutenção das populações termíticas, além de gerar abrigo para espécies inquilinas e promover o desenvolvimento de microrganismos (NOIROT et al., 2000).

Sem dúvidas, o grande sucesso evolutivo dos cupins caminhou em conjunto com a evolução da eussocialidade a partir de ancestrais subsociais. Os pressupostos da eussocialidade compreendem indivíduos morfologicamente distintos que obedecem a três critérios, 1) a sobreposição de gerações, 2) o cuidado com a prole e 3) a divisão de funções, estes dois últimos cruciais para o estabelecimento e a manutenção das colônias (WILSON, 1971). Esse modo de vida é encontrado em insetos das ordens Hymenoptera e Blattodea, subordem Isoptera, se diferenciando em algumas características de seu desenvolvimento, como a hemimetabolia diploide e a presença de soldados e operários estéreis nos cupins (BIGNELL et al., 2011).

Do ponto de vista evolutivo, os sistemas eusociais são considerados um grande mistério para os estudiosos, uma vez que indivíduos estéreis são selecionados e mantidos dentro das colônias, contrariando os pressupostos da teoria da evolução postulados por Charles Darwin em 1859. Hamilton (1964) tentou explicar a origem da eussocialidade a partir da seleção por parentesco, onde indivíduos estéreis exercem influência indireta na capacidade reprodutiva de seus parentes, complementando assim o fitness total daquele sistema. Wilson & Holldobler (2005) propuseram uma teoria alternativa para origem da eussocialidade, pressupondo que o parentesco entre os indivíduos é uma consequência originada do altruísmo presente antes do ponto irreversível que separa a linhagem ninfal da áptera (operários e soldados).

Como requisito para a eussocialidade, a divisão de atividades dentro de sistemas sociais é imprescindível para a manutenção dessas populações. Esse processo, denominado de polietismo, está associado a diferenciação entre as castas presentes na colônia e possibilita a execução simultânea de atividades distintas, diferentemente ao que ocorre em insetos solitários (WILSON, 1990).

O polietismo pode variar de acordo com a espécie eussocial observada e a um conjunto de fatores pertinentes à colônia, como o seu tamanho, a arquitetura do ninho e o potencial dos operários e soldados (WILSON, 1990; ROSENGAUS & TRANIELLO, 1997). Em himenópteros, o polietismo é do tipo temporal, cuja divisão de atividades é feita a partir da idade dos indivíduos; já nos cupins, a divisão de atividades pode ocorrer tanto pela idade e estágio do desenvolvimento dos indivíduos como pelas alterações morfológicas encontradas nos indivíduos de uma mesma casta (OSTER & WILSON, 1978; SOLEYMANINEJADIAN et al., 2014). A sociedade de cupins é organizada em várias castas que desempenham diversas funções. A linhagem áptera é constituída pelos soldados que realizam a defesa da colônia e os operários que participam do forrageio, construção, reparo e limpeza do ninho, além de cuidar da prole e alimentar a rainha e o rei, sendo esses últimos encarregados da reprodução, juntamente com as ninfas e os alados (ROISIN, 2000; KATOH et al., 2007).

A diferenciação das castas dos cupins ocorre por um processo denominado de polifenismo, e o mesmo acarreta uma série de modificações no período de desenvolvimento pós-embrionário do inseto, proporcionando a expressão de vários fenótipos e a diferenciação das diversas castas, destacando-se a casta dos operários como a mais numerosa (ROISIN, 2000; MIURA & MATSUMOTO, 2006).

Além da diferenciação morfológica entre as castas, pode ocorrer também o polimorfismo intracasta nas linhagens ápteras. Usando análises morfométricas, esse tipo de polimorfismo foi verificado em operários de cupins de *Hospitalitermes medioflavus*, *Velocitermes heteropterus*, *Nasutitermes corniger*, verificando-se dimorfismo quanto ao tamanho, diâmetro da cabeça e tamanho metatibial (MIURA & MATSUMOTO, 1995; HAIFIG et al., 2011, 2015; LIMA et al., 2013). Tais diferenças nesses caracteres mostraram haver operários de diversos morfotipos e uma possível divisão de funções entre eles, o que pode estar associado às adaptações para melhorar ou potencializar as várias atividades realizadas por esses indivíduos.

A relação entre o polimorfismo intracasta e o polietismo pode variar de acordo com o cupim que apresenta essa condição, podendo envolver parâmetros como o tamanho, sexo, idade ou a combinação entre eles (NALEPA, 2001). Em *H. medioflavus*, os operários apresentam trimorfismo morfológico, com indivíduos pequenos, médios e grandes apresentando divisão de trabalho entre eles (MIURA & MATSUMOTO, 1995). Também foi observado para esse cupim o dimorfismo sexual para os operários, em que os pequenos, machos, são responsáveis por roer e formar bolas de alimento e os operários médios e grandes, fêmeas, encarregadas pelo transporte desse alimento para o ninho (MIURA & MATSUMOTO, 2006).

O dimorfismo presente entre os operários de *V. heteropterus* influencia a topologia de túneis formados, verificando-se que operários grandes conseguem escavar túneis mais longos e com poucas ramificações, enquanto os operários pequenos escavam túneis mais curtos com muitas ramificações. Nesse cupim, o dimorfismo também influencia na dinâmica de forrageio, registrando-se a proporção de oito operários grandes para um operário pequeno nas trilhas de forrageamento (HAIFIG et al., 2011; 2015). Para *N. corniger* foram registrados sete tipos de operários divididos em dois grupos, um com três operários pequenos e outro com quatro grandes, observando-se divisão de atividades entre os morfotipos nos diferentes estágios do forrageio desse cupim (LIMA et al., 2013).

Além da divisão de atividades dentro da colônia, outro aspecto muito importante para o sucesso ecológico dos cupins foi sua capacidade de explorar uma vasta gama de recursos alimentares, estando o polimorfismo intracasta diretamente associado ao melhoramento e potencialização dessa atividade, como também o imprescindível papel dos microrganismos que auxiliam nessa alimentação, a exemplo dos fungos (NI & TOKUDA, 2013; BARBOSA-SILVA et al., 2016). A presença de fungos nos ninhos de cupins pode ser uma relação benéfica para ambos, pois pode constituir relações mutualísticas nutricionais, já que muitos fungos apresentam enzimas que podem contribuir para a digestão da celulose (SANDS, 1969; LEPONCE et al., 1999; RADEK, 1999).

Por outro lado, os fungos também podem causar prejuízos à colônia caso sejam patogênicos e com alto grau de toxicidade, devido à penetração direta na cutícula desses insetos, havendo efeitos fisiológicos desequilibrados em cascata (CREMER et al., 2007; MBURU et al., 2008;), podendo levar a extinção da colônia em função do modo de vida em sociedade desses indivíduos (ROULAND-LEFÉVRE, 2000; JAYASIMHA & HENDERSON, 2007). A sociabilidade além de influenciar nas atividades realizadas pelos operários no ninho também pode influenciar na sobrevivência dos indivíduos quando infectados com algum tipo de patógeno, refletindo diretamente na manutenção dessas colônias (BOUCIAS et al., 1996).



Estudos associando o modo de vida dos cupins e a sua sobrevivência levam em consideração a contaminação por fungos entomopatogênicos comumente encontrados no solo próximo aos ninhos e no interior desses, cuja interação pode influenciar na sobrevivência e no desenvolvimento das castas (BIGNELL, 2010). Ao observar a sobrevivência de *Zootermopsis angusticollis*, Rosengaus et al. (2001) verificaram que os indivíduos de maiores ínstares apresentavam maior resistência comparados àqueles de ínstares menores quando infectados com fungo entomopatogênico. Nesse mesmo estudo, os autores observaram que a susceptibilidade ao fungo era reduzida quando os cupins eram colocados em grupos. Resultados semelhantes foram encontrados para *Coptotermes formosanus*, quando Yanagawa et al. (2006) observaram que os indivíduos tratados em grupos apresentavam apenas 20% de susceptibilidade à infecção, enquanto indivíduos tratados sozinhos apresentaram índice de 90%; verificando-se que os parceiros realizavam a limpeza dos indivíduos infectados.

### **1.1 *Constrictotermes cyphergaster***

O cupim *C. cyphergaster* (Silestri, 1901), amplamente distribuído em áreas de cerrado e caatinga do território brasileiro, constrói ninhos em sua maioria arborícolas (MATHEWS, 1977; MELO & BANDEIRA, 2004). A presença desse cupim nesses ambientes tem ampla importância ecológica, uma vez que o mesmo participa de grande parte da ciclagem de nutrientes nesses ambientes, haja vista que o carbono em seus ninhos pode chegar a 16% (BEZERRA-GUSMÃO et al., 2010). Além disso, participa na decomposição de matéria orgânica, correspondendo a cerca de 13% na formação da serrapilheira, contribuindo assim com a manutenção dessas áreas que estão em processo de desertificação (MOURA et al., 2008).

O forrageio de *C. cyphergaster* é noturno, com formação de trilhas a céu aberto sobre o substrato a ser consumido (MOURA et al., 2006b). Esse tipo de forrageio pode apresentar maior ameaças aos operários que realizam a atividade, como a exposição a predadores e a entomopatogênicos fúngicos como *Aspergillus* spp. e *Penicillium* spp., comumente relatados junto aos cupins e encontrados nos ninhos de *C. cyphergaster* (JAYASIMHA et al., 2007; BARBOSA-SILVA et al., 2016). Segundo Mathews (1977), os operários dessa espécie são dimórficos por apresentarem alguns caracteres morfológicos distintos como a coloração da cápsula cefálica, coloração dos tergitos e curvatura do abdôme. Recentemente, Oliveira (2019), verificou esse dimorfismo através de análises morfométricas que mostrou dois morfotipos de operários (um pequeno-Op e um grande-Og), os quais ao retornarem do forrageio ou durante a construção do ninho podem transmitir agentes patogênicos para os outros indivíduos da colônia, comprometendo-a no total (ROSENGAUS et al., 1993, 1997). Logo, o polimorfismo

e a divisão de trabalho dentro de uma mesma casta sugerem que esse mecanismo seja utilizado para minimizar os riscos à colônia, devido a não exposição de todos os indivíduos em uma mesma atividade, e com isso manter a integridade da mesma (DUARTE et al., 2011).

Todavia, o dimorfismo verificado para os operários de *C. cyphergaster* ainda não é bem compreendido ecologicamente, não se sabendo qual o grau e a influência que esse caráter exerce sobre a divisão de tarefas dentro dessa casta e em sua sobrevivência, bem como na colônia como um todo, diferentemente do que ocorre em outros gêneros de cupins. Nesse intuito, o objetivo deste estudo foi observar se o dimorfismo encontrado em operários de *C. cyphergaster* está associado à divisão de tarefas no reparo de ninhos e se existe diferença na sobrevivência desses operários dimórficos quando expostos a fungos entomopatogênicos.

## 2 Área de estudo

As observações em campo e as coletas dos cupins foram realizadas na Estação Experimental de São João do Cariri (EESJ) ( $7^{\circ}20'34''$  S,  $36^{\circ}31'50''$  W), vinculada ao Centro de Ciências Agrárias da UFPB e localizada no município de São João do Cariri, uma região de caatinga no estado da Paraíba (Fig. 1). A área está entre 400 e 600 metros de altitude, apresentando clima classificado como semiárido quente, com média de precipitação de 400 mm anuais, caracterizando-a como uma das mais secas do Estado (EMEPA, 2005). O solo dessa região apresenta relevo suave e ondulado e é classificado em sua grande maioria como luvissole, crômico vértico, vertissolo e neossolo lítico com cobertura vegetal majoritariamente arbustiva (CHAVES et al., 2000; PAES-SILVA et al., 2003; BARBOSA et al., 2007).

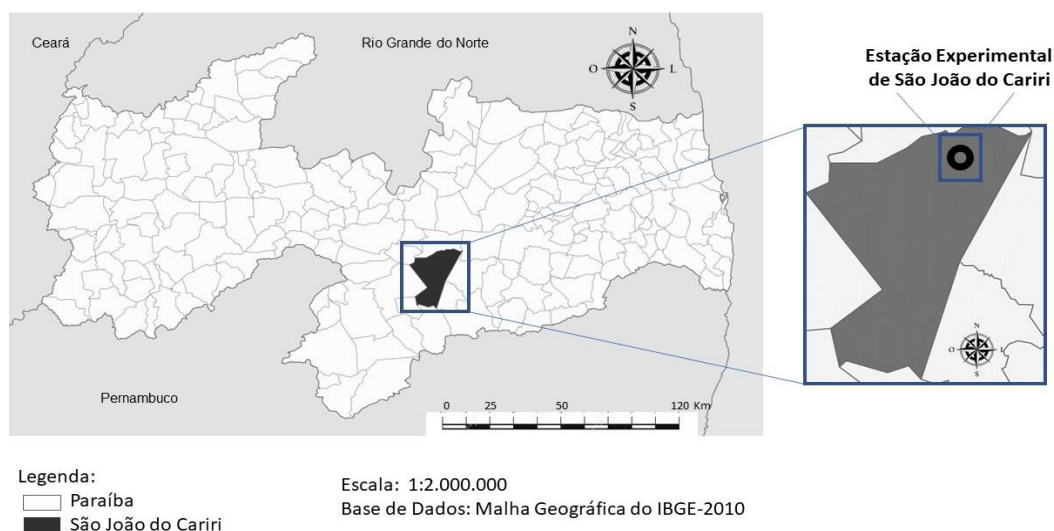


Figura1 – Georreferenciamento da Estação Experimental de São João do Cariri, Município de São João do Cariri, Paraíba, Brasil.

## REFERÊNCIAS

BARBOSA, M. R. V.; LIMA, I. B.; LIMA, J. R.; CUNHA, J. P.; AGRA, M. F.; THOMAS, W. W. Vegetação e Flora no Cariri Paraibano. **Oecologia Brasiliensis**, v.11, p.313-322, 2007.

BARBOSA-SILVA, A.M., FARIAS M.A.A., MELLO A.P., SOUZA A.E.F, GARCIA H.H.M. & BEZERRA-GUSMÃO M.A. Lignocellulosic fungi in nests and food content of *Constrictotermes cyphergaster* and *Inquilinitermes fur* (Isoptera, Termitidae) from the semiarid region of Brazil. **Fungal Ecology**, v.20, p.75–78, 2016.

BEZERRA-GUSMÃO, M. A. História natural de *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestre, 1901) (Isoptera; Termitidae) em uma área de caatinga do cariri paraibano, no Nordeste do Brasil. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB. 130p. 2008.

BEZERRA-GUSMÃO, M.A., BARBOSA, J.R.C., BARBOSA, M.R.V., BANDEIRA, A.G., SAMPAIO, E.V.S.B. Are nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae) important in the C cycle in the driest area of semiarid caatinga in northeast Brazil? **Applied Soil Ecology**, v.47, p.1-5, 2010.

BOUCIAS, D.C.; PENDLAND, J.C. Principles of insect pathology. **Klewer Academic Publishers Group**. Boston. p. 537. 1998.

CHAVES, L. H. G.; CHAVES, I. B.; VASCONCELOS, A. C. F. Salinidade das águas superficiais e suas relações com a natureza dos solos na Bacia Escola do açude Namorados. **BNB/UFPB**, 54p. 2000.

DELATE, K.M.; GRACE, J.K.; TOME, C.M. Potential use of pathogenic fungi in baits to control the formosan subterranean termite (Isoptera, Rhinotermitidae). **Journal of Applied Entomology**, p. 429-433, 1995.

DUARTE, A., WEISSING, F.J., PEN, I., KELLER, L. An Evolutionary Perspective on Self-Organized Division of Labor in Social Insects. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 42, p. 91-110, 2011.

ELEOTÉRIO, E.S.R. Levantamento e identificação de cupins (Insecta: Isoptera) em área urbana de Piracicaba. **Ciência Florestal**, Santa Maria, p. 125-139, 2000.

HAIFIG, I.; JOST, C.; JANEI, V.; COSTA-LEONARDO, A. M. The size of excavators within a polymorphic termite species governs tunnel topology. **Animal Behaviour**, v. 82, p. 1409-1414, 2011.

HAIFIG, Y.; JOST, C.; FOURCASSIÉ, V. ZANA, Y.; COSTA-LEONARDO, A. M. Dynamics of foraging trails in the neotropical termite *Velocitermes heteropterus* (Isoptera: Termitidae). **Behavioural Processes**, v.118, p.123-129, 2015.

HÖLLDOBLER, B.; WILSON, E.O. The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies. New York: W.W. **Norton & Company**, 544p. 2009.

HOLT, J.A.; LEPAGE, M. Termites and soil properties. In: Abe, T., Bignell, D.E., Higashi, M. (Eds.), **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 389–407, 2000.

JAYASIMHA, P.; HENDERSON, G. Effect of *Aspergillus flavus* and *Trichoderma harzianum* on survival of *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v.49, p.135–141, 2007.

KATOH, H.; MATSUMOTO, T. & MIURA, T. Alate differentiation and compound-eye development in the dry-wood termite *Neotermes kashunensis* (Isoptera, Kalotermitidae). **Insectes Sociaux**, v. 54, p. 1-9, 2007.

LEE, K.E.; WOOD, T.G. Termites and soils. London: **Academic Press**, p. 251, 1971.

LIMA, V.L.D.S.; BAILEZ, O.E.; VIANA-BAILEZ, A.M. Caste polymorphism of apterous line of the Neotropical termite *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera Termitidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 57, p.309–312, 2013.

MATHEWS, A. G. A. Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 267 p. 1977.

MÉLO, A. C. S.; BANDEIRA, A. G. A Qualitative and Quantitative survey of Termites (Isoptera) in an Open Shrubby Caatinga in Northeast Brazil. **Sociobiology**, v.44, p.707-716, 2004.

MIURA, T.; MATSUMOTO, T. Worker Polymorphism and Division of Labor in the Foraging Behavior of the Black Marching Termite *Hospitalitermes medioflavus*, on Borneo Island. **Naturwissenschaften**, v.82, p.564-567, 1995.

MIURA, T. Caste development and division of labor in the processional nasute termite *Hospitalitermes medioflavus* in Borneo. **Tropics**, v. 15, p.275-278, 2006.

MOURA, F. M. S.; VASCONCELLOS, A. V. E. P. ARAÚJO & BANDEIRA, A. G. Seasonality in foraging behavior of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae) in the Caatinga of Northeastern Brazil. **Insect Sociaux**, v. 20, p.1-8, 2006.

MOURA, F. M. S; VASCONCELLOS A., ARAÚJO V.F.P. AND BANDEIRA A.G. Consumption of vegetal organic matter by *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae) in an area of Caatinga, Northeastern Brazil. **Sociobiology**, v.51, p.181–189, 2008.

NALEPA, C.A. Body Size and Termite Evolution. **Journal Evolutionary Biology**, v.38, p.243-257, 2001.

NI, J.; TOKUDA, G. Lignocellulose-degrading enzymes from termites and their symbiotic microbiota. **Biotechnololy Advances**, v.31, p.838-850,2013.

NOIROT, C. & DARLINGTON, J. P. E. C. Termites nests: Architecture, regulation and defence. pp. 121-139. In: **Termites: Evolution, Sociality, Symbiosis, Ecology**. Abe, M.Higashi & D. E. Bignell (eds). Kluwer Academic Publications, Dordrecht, 2000.

OLIVEIRA, M.H. Estratégias de forrageamento de *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 48p. 2019.

OSTER, G.F.; WILSON, E.O. Caste and ecology in the social insects. Princeton: Princeton University Press, 352p. 1978.

PAES-SILVA, A. P.; CHAVES, I. de B.; SAMPAIO, E. V. S. B. Cobertura vegetal da bacia hidrográfica do açude namorado no cariri oriental paraibano. **Revista Agropecuária Técnica**. v.24, 2003.

PASSOS, E. M., ALBUQUERQUE, A. C., MARQUES, E. J., TEIXEIRA, V. W., SILVA, C. C., & OLIVEIRA, M. A. P. Effects of *Isaria* (Persoon) isolates on the subterranean termite *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.81, p.232–237, 2014.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>.

RADEK, R. Flagellates, bacteria, and fungi associated with termite: diversity and function in nutrition. **Ecotropica**, v5, p. 183-196, 1999.

ROISIN, Y. Development of non-reproductive castes in the Neotropical termite genera *Cornitermes*, *Embiratermes* and *Rhynchotermes* (Isoptera, Nasutitermitinae). **Insectes Sociaux**, v. 39, p. 313-324, 1992.

ROISIN, Y. Diversity and evolution of caste patterns. In: Abe, T. Bignell, D.E., Higashi, M. (Eds.), **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses**, Ecology, 2000.

ROULAND-LEFEVRE. Symbiosis with fungi. In: Abe T, Bignell DE, Higashi M, eds. **Termites: evolution, sociability, symbiosis and ecology**. Kluwer Academic Publishers. p 289–306, 2000.

ROSENGAUS, R. B., TRANIELLO, J. F. A. Disease risk as a cost of outbreeding in the termite *Zootermopsis angusticollis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 90, p. 6641-6645, 1993.

ROSENGAUS, R. B.; TRANIELLO, J. F. A. Pathobiology and disease transmission in dampwood termites *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera: Termopsidae) infected with the fungus *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hypomycetes). **Sociobiology**, v.30, p. 185-195, 1997.

ROSENGAUS, R.B.; TRANIELLO, J.F.A. Disease susceptibility and the adaptive nature of colony demography in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis*. **Behavior, Ecology and Sociobiology**. 50: 546–556, 2001.

SANDS WA. The association of termites and fungi. In: Krishna K, Weesner FM, eds. **Biology of termites**. New York: Academic Press. p. 495–524, 1969.

SOLEYMANINEJADIAN, E; BAO, Z; LIU, S; JI, S.; LIU, J. Polyethism in Termites. **Advances in Entomology**, v.2, p.129-134, 2014.

WILSON, E. O. The insect societies. Cambridge: **Harvard University Press**. 548p.1971.

Wilson, E.O. Success and dominance in ecosystems: the case of the social insects. Ecology Institute, **Oldendorf/Luhe**, Federal Republic of Germany, 104p. 1990.

## Capítulo – 1

---

*Manuscrito a ser submetido a Insectes Sociaux*

---

**Influência do dimorfismo morfológico no polietismo de operários de *Constrictotermes cyphergaster* (ISOPTERA: TERMITIDAE) no reparo de ninhos**Marllon Rinaldo de Lima Andrade<sup>1</sup>Maria Avany Bezerra Gusmão<sup>1</sup><sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação - UEPB**RESUMO**

Os cupins são considerados engenheiros do ecossistema visto sua grande capacidade de transformação do ambiente em que estão inseridos e também pela grande diversidade de ninhos construídos. Essas estruturas complexas são construídas pela casta de operários e agem como um tipo de mecanismo de defesa isolando o meio interno do meio externo, e com isso garante a proteção dos indivíduos no interior das colônias. Logo, diante de uma perturbação, o reparo de ninho deve ser feito o mais rápido possível. Como a presença de operários de *C. cyphergaster* dimórficos (Op= operário pequeno, Og= operário grande) ainda não é relacionada com a divisão de funções dentro da colônia, o presente estudo teve como objetivo observar se esses operários dimórficos apresentam polietismo na atividade de reparo de seus ninhos. Danos físicos na estrutura externa de 15 ninhos de diferentes volumes desse cupim foram realizados, e o reparo dessas construções foi observado num intervalo de 1 h, para cada ninho. Os operários em atividade foram coletados e identificados. Nossos resultados mostraram maior frequência de Op executando a atividade de reparo em todos os ninhos amostrados ( $\chi^2= 92.1940$ ,  $df=1$ ,  $p<0.001$ ). Também houve correlação negativa significativa entre quantidade de morfotipos e o volume dos ninhos (Op  $R_2 = 0.893$ , Og  $R_2 = 0.648$ ). Em relação ao período de observação da atividade de reparo, Og diminuiu sua participação à medida que o tempo avançou ( $z= -9.602$ ,  $p<0,001$ ), ao contrário do observado para Op. Além disso, nossas observações em campo apontaram comportamentos distintos entre os morfotipos na atividade reparadora. O estudo relata divisão de funções na atividade reparadora de ninhos para *C. cyphergaster*.

**Palavras-chave:** divisão de tarefas, cupins, termiteiros

**Influence of morphological dimorphism on the polyethism of *Constrictotermes cyphergaster* workers (ISOPTERA: TERMITIDAE) in nest repair**

Marllon Rinaldo de Lima Andrade<sup>1</sup>

Maria Avany Bezerra Gusmão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Ecology and Conservation

**ABSTRACT**

Termites are considered ecosystem engineers because of their great capacity for transforming the environment in which they live and also for the great diversity of built nests. These complex structures are built by the caste of workers and act as a type of defense mechanism, isolating the internal environment from the external environment, thereby ensuring the protection of individuals within the colonies. Therefore, in the face of a disturbance, the nest repair must be done as soon as possible. As the presence of dimorphic *C. cyphergaster* workers (SW = small worker, LW = large worker) is not yet related to the division of functions within the colony, the present study aimed to observe whether these dimorphic workers have polyethism in the activity of repair of their nests. Physical damage to the external structure of 15 nests of different volumes of this termite was carried out, and the repair of these constructions was observed at an interval of 1 h, for each nest. Active workers were collected and identified. Our results showed a higher frequency of SW performing repair activity in all sampled nests ( $\chi^2 = 92.1940$ ,  $df = 1$ ,  $p < 0.001$ ). There was also a significant negative correlation between the number of morphotypes and the volume of the nests (SW  $R_2 = 0.893$ , LW  $R_2 = 0.648$ ). Regarding the observation period of repair activity, LW decreased its participation as time progressed ( $z = -9.602$ ,  $p < 0.001$ ), in contrast to what was observed for SW. In addition, our field observations pointed out different behaviors between morphotypes in restorative activity. The study reports division of functions in the nest repair activity for *C. cyphergaster*.

**Keywords:** division of tasks, termites, termitarium



## INTRODUÇÃO

Devido sua capacidade de transformar o ambiente físico e participação na atividade de decomposição, os cupins são caracterizados como engenheiros do ecossistema, auxiliando os processos ecológicos e atuando na manutenção dos ambientes em que estão inseridos (MARTIUS, 1994; HOLT & LAPAGE, 2000).

Esses insetos formam suas colônias em ninhos de diversos tipos, formas e tamanhos, construídos majoritariamente pela casta dos operários que pode ser polimórfica ou não, dependendo da espécie construtora (NOIROT & DARLLINGTON, 2000). Essas estruturas, além de abrigarem os indivíduos da colônia, separam o meio externo do meio interno, podendo ser caracterizada como um elemento complementar no sistema de defesa da colônia, uma vez que pode impedir a entrada de predadores (DELIGNE et al., 1981).

A manutenção da integridade física dos ninhos, que se dá através do crescimento e do reparo, auxilia na proteção da colônia quando aliada às funções das castas de operários e soldados que também participam no sistema de defesa (STUART, 1969; SOBOTNÍK et al., 2008). A eficiência da atividade de reparo dos ninhos pode decorrer através da divisão de funções ou polietismo, exercido pelos operários envolvidos nessa atividade, de modo que eventuais danos sejam reparados o mais rápido possível fazendo com que a colônia fique o menor tempo exposta ao meio externo (THORNE, 1982).

A divisão de tarefas ou o polietismo associado ao polimorfismo inter e intracasta já foi descrito para cupins como *Hospitalitermes medioflavus*, *Nasutitermes corniger* e *Velocitermes heteropterus*, verificando-se que operários polimórficos desempenham diferentes funções em atividades de forrageio, construção de túneis e galerias, além do reparo dos ninhos (MIURA & MATSUMOTO, 1995; HAIFIG et al., 2011; LIMA et al., 2013). Diferentemente ao que ocorre nesses cupins que são da mesma subfamília de *Constrictotermes cyphergaster*, para esse cupim ainda não se conhece a relação entre o dimorfismo de seus operários e a divisão de funções, salvo às observações de Oliveira et al. (*submetido*), em que os autores observaram diferentes proporções de operários dimórficos nas trilhas de forrageio.

Os ninhos de *C. cyphergaster* apresentam duas fases, uma primeira subterrânea e outra arborícola, e sua distribuição se dá pelos países da Argentina, Bolívia, Brasil e Paraguai (BEZERRA-GUSMÃO et al., 2009; TORALES et al., 2005). No Brasil, esse cupim está presente nas regiões de Cerrado e Caatinga, cuja densidade de ninhos alcança uma estimativa de 59 ninhos/ha (MÉLO & BANDEIRA, 2004), verificando-se para a atividade de construções dos ninhos uma remoção de cerca de 581.150 g/ha de partículas do solo (MOURA et al., 2006, 2008; VASCONCELLOS et al., 2007).

Com a presença de operários dimórficos, um maior e outro menor (Oliveira et al. *submetido*), os ninhos de *C. cyphergaster* são construídos com partículas do solo e saliva, variando sua coloração de acordo com o tipo de solo onde as colônias se estabelecem (MATTEWS, 1977; BEZERRA-GUSMÃO et al., 2010). Suas construções abrigam vários coabitantes que variam desde microrganismos como fungos e bactérias, até os diversos tipos de invertebrados e vertebrados, com destaque para os inúmeros coleópteros da família dos estafilínídeos e os cupins inquilinos *Inquilinitermes* spp. (MATTEWS, 1977; BRIGHTSMITH, 2000; CUNHA & BRANDÃO, 2000; COSTA et al., 2009, BARBOSA-SILVA et al., 2016).

A entrada de coabitantes nos ninhos de cupins pode estar associada tanto às condições atrativas no interior dos ninhos quanto a estratégias desenvolvidas por esses invasores em permanecer nesses locais, como também à alguma falha no sistema de defesa da colônia, que a princípio, deveria reconhecer e impedir a entrada desses indivíduos (CRISTALDO et al., 2014; JIROSOVÁ et al., 2016). Cristaldo et al. (2012) verificaram correlação positiva entre o volume dos ninhos de *C. cyphergaster* e a probabilidade de encontrar coabitantes em seu interior, propondo que ninhos de grandes volumes possam apresentar mais falhas no sistema de defesa complementar, devido à idade da colônia ou sua senescência.

A capacidade de reparo das estruturas físicas dos ninhos já é conhecida para os cupins, sabendo-se que a forma como esse reparo é feito difere de acordo com as técnicas utilizadas pelos construtores e também pelo tamanho do dano (BIGNELL, 2010). Para *Nasutitermes* sp., *Macrotermes* sp. e *Odontotermes* sp., Grassé (1986) verificou que após um dano causado ao ninho, os soldados são os primeiros indivíduos a chegarem ao local, seguidos de operários grandes que carregam em suas mandíbulas pequenas bolas de barro para auxiliar na reconstrução, apresentando assim, uma padronização no comportamento de reparo de ninhos. Para *C. cyphergaster*, DeSouza et al. (2016) verificaram influência do volume dos ninhos na taxa de patrulhamento de soldados e operários em um dano feito na parede dessas estruturas, observando correlação negativa entre a taxa de patrulhamento e o gradiente crescente de volume dos ninhos.

Visto que a integridade física dos ninhos, mantida pelo reparo dessas estruturas que é de fundamental importância para a manutenção das populações dos cupins, o presente estudo teve como objetivo verificar a relação entre o dimorfismo encontrado em operários de *C. cyphergaster* e a divisão de funções na atividade de reparo de seus ninhos, testando a hipótese de que operários dimórficos desempenham funções distintas nesta atividade em um gradiente crescente de volume de ninhos, visto que esse último pode influenciar na presença de indivíduos na área danificada.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Área de estudo

O local do estudo foi descrito no item 2 do capítulo anterior.

### Reparo dos ninhos

As atividades de reparo foram observadas em 15 ninhos, selecionados ao acaso, a partir de distúrbios feitos em  $\frac{1}{4}$  de sua superfície superior, parte mais frágil da estrutura (BEZERRA-GUSMÃO et al. 2011) (Fig.1). Os volumes dos ninhos variaram entre 6 e 40 litros, determinados a partir do uso da forma de hemielipsoide, em que  $V = \frac{2}{3} \pi h.D.d$  (onde, h = altura do ninho; D =  $\frac{1}{2}$  do diâmetro maior; d =  $\frac{1}{2}$  do diâmetro menor).

Para registrar se o reparo era feito por operário pequeno (Op) ou operário grande (Og), o dano causado foi observado por um tempo de 1h para cada ninho em estudo. Durante esse tempo, utilizando aspirador entomológico manual (Fig. 2), a cada 5 minutos, foram coletados os cupins que realizavam reparo em uma célula, totalizando 12 unidades amostrais por cada hora/ninho. Todas as amostras coletadas foram colocadas em álcool a 96% e levadas ao Laboratório de Ecologia de Térmitas da UEPB para confirmação dos morfotipos.



Figura 1 – Dano físico feito em  $\frac{1}{4}$  da superfície superior de ninho de *Constrictotermes cyphergaster* para obtenção de dados da atividade de reparo.



Figura 2 – Aspirador entomológico manual utilizado na coleta de cupins durante atividade de reparo em ninho de *Constrictotermes cyphergaster*.

### Identificação e determinação dos morfotipos

Os indivíduos coletados foram identificados a nível de espécie e os operários tiveram seu dimorfismo determinados de acordo com as características descritas por Mathews (1977). Além disso, foram usados caracteres morfológicos incorporados por Oliveira (2019), como comprimento e largura do pronoto, comprimento e largura da cabeça, comprimento do fêmur e da tíbia.

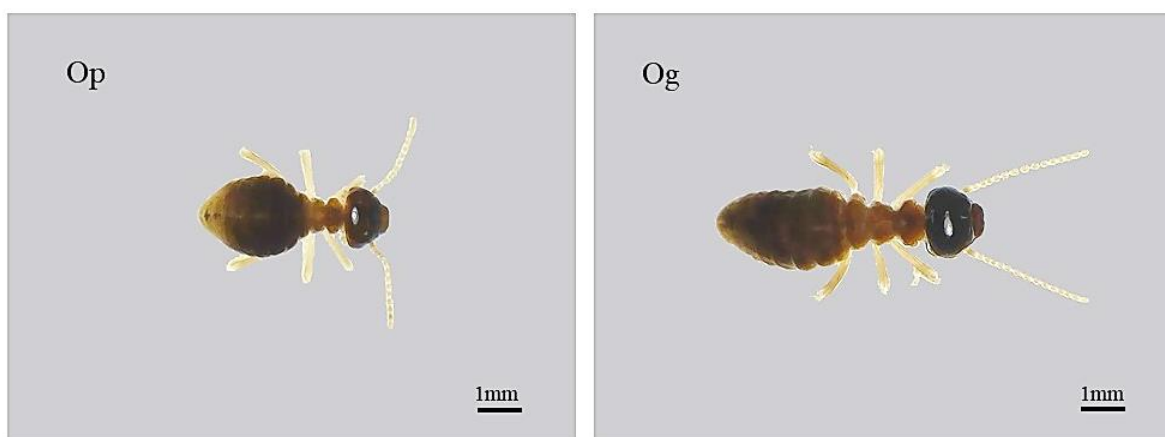


Figura 3 – Diferenças morfológicas para o pronoto de operários dimórficos (Op = operário pequeno, Og = operário grande) de *Constrictotermes cyphergaster*. Os espécimes foram visualizados com estéreomicroscópio com aumento ocular de 1x.

## Análises estatísticas

A média de indivíduos Op e Og coletados por unidade temporal foi usada como variável resposta em um modelo de Regressão Linear para avaliar o efeito do volume dos ninhos sobre o número de indivíduos durante o reparo. Para avaliar a existência de diferenças estatísticas entre os morfotipos coletados e em relação ao tempo de observação foi construído um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM), utilizando o pacote lme4 (BATES & SARKAR 2007), com distribuição de Poisson. O modelo foi submetido a uma ANODEV (*Analysis of Deviance*) usando o teste Qui-Quadrado de Wald. Todas as análises foram feitas no programa estatístico R 3.5.1 (R Development Core Team, 2018).

## Resultados

Verificamos haver diferença estatística significativa na quantidade de indivíduos de cada morfotipo de operários presente na atividade de reparo dos ninhos de *C. cyphergaster* ( $\chi^2=92.1940$ ,  $df=1$ ,  $p<0.001$ ), com maior quantidade de (Op) (Fig.4). Também houve significância na quantidade de indivíduos Op e Og durante o período de 1h, com redução na quantidade de cada morfotipo ( $z= -2.033$ ,  $p<0,001$ ). Indivíduos Og estavam presentes em maior quantidade nos minutos iniciais, até os 20 min da atividade, reduzindo gradualmente sua presença à medida que o tempo passou ( $z= -9.602$ ,  $p<0,001$ ). Comportamento inverso foi notado para Op, que foram mais abundantes a partir dos 25 min até o final da observação.

Embora com diferenças estatísticas significativas na quantidade de cada morfotipo, ninhos de volumes maiores apresentaram quantidades de indivíduos Op e Og mais equivalentes, diferente do observado para ninhos de volumes menores (Tab. 1). Nossos dados também mostraram haver correlação negativa entre o número médio de indivíduos Op e Og com o aumento do volume dos ninhos (Fig. 5).

Tabela1 – Quantidade de operários Op (pequenos) e Og (grandes) de *Constrictotermes cyphergaster* coletados na atividade de reparo em ninhos de diferentes volumes.

Morfotipos	Volume dos ninhos														
	6.4	7	7.2	7.6	8	8.9	10.8	12.1	15.6	25.2	27.6	28	30.4	31.6	40.2
<b>Op</b>	75	75	77	65	63	71	52	68	68	36	33	30	28	32	23
<b>Og</b>	49	30	38	40	48	30	48	34	18	24	24	18	16	20	16
<b>Total</b>	124	105	115	105	111	101	100	102	86	60	57	48	44	52	39

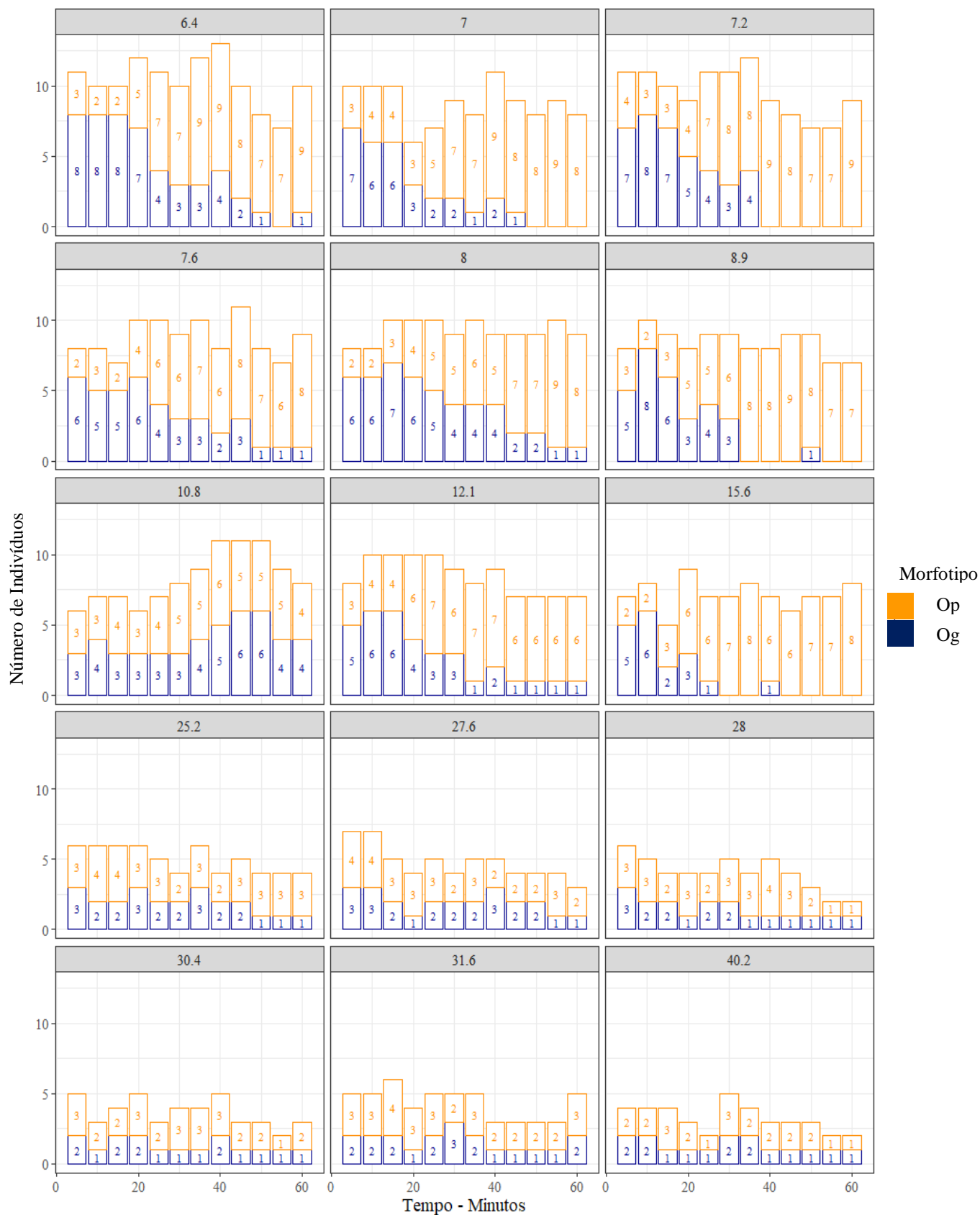


Figura 4 – Número de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* durante atividades de reparo (Op= operário pequeno, Og = operário grande), por unidade amostral, células/ninho. Barra em cinza mostra os volumes dos ninhos em litros.

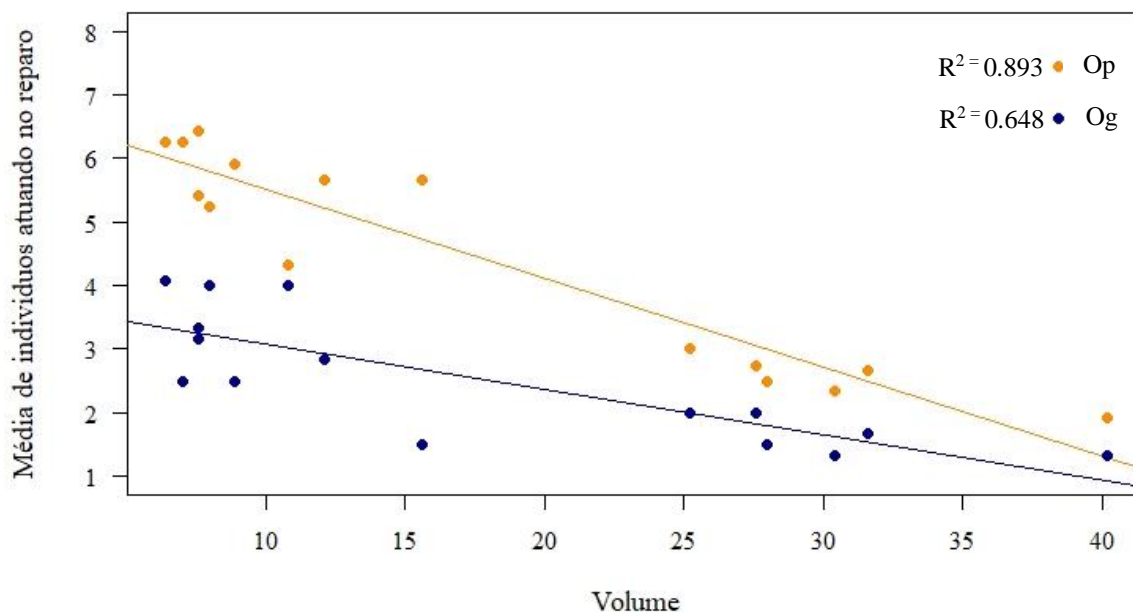


Figura 5 – Número médio de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* durante atividade de reparo em relação ao volume dos ninhos. Para cada morfotipo, cada ponto no gráfico representa um ninho. Op – operário pequeno, Og – operário grande.

Em nossas observações foi possível verificar que logo após o dano, os soldados eram os primeiros a surgir seguidos pelos operários grandes (Og), que simulavam o comportamento de defesa típico dos soldados, principalmente nos ninhos menores, aqui considerados entre 6.4 a 15.6 L. Logo após o patrulhamento inicial, os operários do morfotipo menor surgiram e começaram a reparar as células (Fig.4).

## DISCUSSÃO

O comportamento mimético dos operários grandes (Og) observado em nosso estudo também foi verificado por Oliveira (2019), que observaram Og sendo os primeiros a sair nas trilhas de forrageio junto com os soldados; verificando também que esses indivíduos simulavam o comportamento dos soldados nas bordas das trilhas, enquanto que indivíduos Op concentravam-se no interior das trilhas, participando ativamente do forrageio. Diante disto, a diferença quantitativa e comportamental observada em nosso estudo em relação aos morfotipos de operários que executam o reparo em ninhos de *C. cyphergaster* mostram que esses indivíduos exibem comportamento distinto frente a alguma perturbação causada na estrutura física de seus ninhos, demonstrando haver divisão de funções entre eles nesta atividade.

Crosland et al. (1998) observaram polietismo em operários polimórficos de *Reticulitermes fukienensis*, verificando que operários maiores realizavam a maioria das atividades como construção das trilhas de forrageio, escavação do solo e ingestão de alimentos. Porém, para a atividade de reparo, os autores não encontraram diferenças estatísticas no número total de operários médios e pequenos, verificando que os operários menores estavam presentes em maior abundância.

Diferentemente ao que foi encontrado em nosso estudo e no estudo de Crosland et al. (1998), McMahan (1977) e Watson & McMahan (1978) verificaram que operários maiores de *Drepanotermes rubriceps* e *Nasutitermes exitiosus* apresentavam-se em maior quantidade durante a atividade de reparo de seus ninhos, estando esses indivíduos responsáveis pela execução da maior parte dessa atividade, enquanto os morfotipos menores surgiam apenas para dar um retoque final ou nem participavam da ação. Esses resultados contrariam a regra geral de divisão de trabalho encontrado em insetos sociais, principalmente em himenópteros, onde os estudos estão mais concentrados, em que se discute que a maior parte das atividades da colônia deve ser realizada por operários menores ou mais jovens (HOLLDOLBLER & WILSON, 1990; BOURKE & FRANKS, 1995).

A diminuição na quantidade dos operários grandes com o passar do tempo na atividade de reparo para *C. cyphergaster*, assim como a diminuição da quantidade total dos operários em relação ao aumento no volume dos ninhos pode estar relacionado ao seu nicho compartilhado, conforme o previsto para o funcionamento da casta operária nesses sistemas. Esses resultados também estão relacionados a traços funcionais, estruturais e ecológicos dos indivíduos que podem estar associados com o tamanho do corpo, e no caso dos insetos sociais com o tamanho de suas colônias (DIAL et al., 2008; WIERNASZ et al., 2014). Considerando-se o nível individual e tendo em vista a teoria metabólica da ecologia, esses resultados podem ser sustentados pelo fato de que o metabolismo de sistemas biológicos está intrinsecamente relacionado com a biomassa, logo, o tamanho dos indivíduos pode influenciar em seu comportamento (BROWN et al., 2004), evento que foi verificado em nossas observações em campo no qual os operários maiores se comportavam mais apáticos em relação aos operários menores e pouco participaram da atividade do reparo.

A nível de colônia, a redução na quantidade de operários coletados provavelmente está associada ao fato de que grandes colônias são provavelmente mais maduras ou senis, quando comparadas a colônias de pequenos volumes que estão em fase de expansão e crescimento, e precisam investir mais no reparo e no aumento da estrutura física de seus ninhos (MURADIAN et al., 1999).



Essas observações podem ser apoiadas pelos achados De Souza et al. (2016), os quais verificaram correlação negativa entre a taxa de patrulhamento de soldados e operários em um dano feito na parede externa dos ninhos de *C. cyphergaster* e o seu volume. Tais resultados sugerem que colônias com volumes de ninhos maiores, hipoteticamente bem estabelecidas, adotam ou investem em outras estratégias de defesa quando o ninho sofre uma perturbação, como o próprio abandono da estrutura e a formação de estruturas secundárias, originando colônias policálicas (BEZERRA-GUSMÃO et al., 2009).

Em alguns cupins o dimorfismo pode estar relacionado tanto ao estágio de desenvolvimento e a sexagem, em que operários maiores são considerados mais velhos e fêmeas, e menores mais novos são geralmente machos (MIURA, 2006). Todavia, o dimorfismo morfológico dos operários de *C. cyphergaster* ainda não é estabelecido na linha de desenvolvimento nem no sexo dos indivíduos. Esses dados ajudariam a compreender se o polietismo para os operários dimórficos desse cupim ocorre de forma temporal ou sexual.

Os diferentes resultados encontrados nos estudos supracitados frente aos nossos achados refletem a dinamicidade e complexidade da estrutura e organização dos insetos sociais. Nessas estruturas de vida, as estratégias envolvidas para a realização de determinadas atividades podem variar de acordo com a espécie construtora, estágio da colônia e o estágio dos indivíduos presentes nas atividades. Nossos resultados mostram que a presença de operários dimórficos na atividade de reparo de ninhos de *C. cyphergaster* depende de fatores como o tempo de reparo e do volume das colônias, demonstrando haver divisão de funções e comportamento distintos entre esses operários na atividade reparadora.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, S.B.; ALMEIDA, J.E.M. Novas alternativas para controle microbiológico de cupins. In: BERTI-FILHO, E.; FONTES, L.R. (Eds.). **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. Piracicaba, FEALQ, 183 p. 1995.
- BEZERRA-GUSMÃO, M. A. História natural de *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestre, 1901) (Isoptera; Termitidae) em uma área de caatinga do cariri paraibano, no Nordeste do Brasil. Tese (Doutorado) Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, **Universidade Federal da Paraíba**, João Pessoa, PB. 2008. 130p.
- BEZERRA-GUSMÃO M.A., KOGISO K.A., HONORATO T.O., MELO T.X., BARBOSA J.R.C. AND BANDEIRA A.G. Polycalic nest systems and levels of aggression of *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae) in the Semi-Arid region of Brazil. **Sociobiology**, v.53, p.101-111, 2009.
- BEZERRA-GUSMÃO, M.A., BARBOSA, J.R.C., BARBOSA, M.R.V., BANDEIRA, A.G., SAMPAIO, E.V.S.B. Are nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae) important in the C cycle in the driest area of semiarid caatinga in northeast Brazil? **Applied Soil Ecology**, v.47, p.1-5, 2011.
- BRIGHTSMITH, D. Use of arboreal termitaria by nesting birds in the Peruvian Amazon. **The Condor**, v.102, p.529–538, 2000.
- COSTA, D. A.; CARVALHO, R. A.; LIMA FILHO, G. F.; BRANDÃO, D. Inquilines and invertebrate fauna associated with termite nests of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) in the Emas National Park, Mineiros, Goiás, Brazil. **Sociobiology**, v.53, p.443–453, 2009.
- CUNHA, H. F.; BRANDÃO, D. Invertebrates Associated with the Neotropical Termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae). **Sociobiology** v. 37, p. 593-599, 2000.
- CRISTALDO, P.F.; ROSA, C.S.; FLORENCIO, D.F.; MARINS, A.; DESOUZA, O. Termitarium volume as a determinant of invasion by obligatory termitophiles and inquilines in the nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae: Nasutitermitinae). **Insectes Sociaux**, v.59, p.541-548, 2012.
- CROSLAND, M.W.J.; TRANIELLO, J.F.A. Behavioral flexibility in division of labor in the lower termite *Reticulitermes fukiensis*. **Naturwissenschaften**, v.84, p.208–211, 1998.
- DE SOUZA, O.; ARAÚJO, A.P.A.; FLORENCIO, D. F.; ROSA, C. S.; MARINS, A.; COSTA, D.A.; CRISTALDO, P.F. Allometric Scaling of Patrolling Rate and Nest Volume in *Constrictotermes cyphergaster* Termites: Hints on the Settlement of Inquilines. **PloS one**, v.11, e0147594, 2016.
- DIAL, K.P.; GREENE, E.; IRSCHICK, D.J. Allometry of behavior. **Trends Ecology Evolution**, v. 23, p.394–401,2008.
- GRASSÉ, P. P. Termitologia – Anatomie, physiologie, biologie, systématique des termites. Tome III. **Fondation Singer-Polignac** (Paris: Masson), 1986, 715p.

HAIFIG, I.; JOST, C.; JANEI, V.; COSTA-LEONARDO, A. M. The size of excavators within a polymorphic termite species governs tunnel topology. **Animal Behaviour**, v. 82, p. 1409–1414, 2011.

HOLT, J.A.; LEPAGE, M. Termites and soil properties. In: Abe, T., Bignell, D.E., Higashi, M. (Eds.), **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 389–407, 2000.

JIROŠOVÁ, A.; SILLAM-DUSSÈS, D.; KYJAKOVÁ, P.; KALINOVÁ, K.; JANCARIK, A.; MAJER, P.; CRISTALDO, P.F.; HANUS, R. Smells like home: chemically mediated co-habitation of two termite species in a single nest. **Journal Chemical Ecology**, v.42, p.1070–1081, 2016.

LEE, K.E.; WOOD, T.G. Termites and soils. London: **Academic Press**, 1971, 251p.

LIMA, V.L.D.S.; BAILEZ, O.E.; VIANA-BAILEZ, A.M. Caste polymorphism of apterous line of the Neotropical termite *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera Termitidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 57, p.309–312, 2013.

MARTIUS, C., HÖFER, H., VERHAAGH, M., ADIS, J. & MAHNERT. Terrestrial arthropods colonizing an abandoned termite nest in a floodplain forest of the Amazon River during the flood. **Andrias**, v.13, p.17-22, 1994.

MATHEWS, A. G. A. 1977. Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 267 p.

MCMAHAN, E.A. Mound repair and foraging polyethism in workers of *Nasutitermes exitiosus* (Hill): (Isoptera: Termitidae). **Insectes Sociaux**, v. 24, p.225–232, 1977.

MCMAHAN, E.A. Temporal polyethism in the termites. **Sociobiology**, v. 4, p.153–168 1979.

MIURA, T.; MATSUMOTO, T. Worker Polymorphism and Division of Labor in the Foraging Behavior of the Black Marching Termite *Hospitalitermes medioflavus*, on Borneo Island. **Naturwissenschaften**, v.82, p.564-567, 1995.

MOURA, F. M. S.; VASCONCELLOS, A. V. E. P. ARAÚJO & BANDEIRA, A. G. Seasonality in foraging behavior of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae) in the Caatinga of Northeastern Brazil. **Insect Social**, v. 20, p.1-8, 2006.

MOURA, F. M. S; VASCONCELLOS A., ARAÚJO V.F.P. AND BANDEIRA A.G. Consumption of vegetal organic matter by *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae) in an area of Caatinga, Northeastern Brazil. **Sociobiology**, v.51, p.181–189, 2008.

MURADIAN, R.; ISSA, S.; JAFFE, K. Energy consumption of termite colonies of *Nasutitermes ephratae* (Isoptera: termitidae). **Physiology & Behavior**, v.66, p.731–735, 1999.

NOIROT, C. & DARLINGTON, J. P. E. C. Termites nests: Architecture, regulation and defence. In: **Termites: Evolution, Sociality, Symbiosis, Ecology**. Abe, M. Higashi & D. E. Bignell (eds). Kluwer Academic Publications, p. 121-139, Dordrecht, 2000.

OLIVEIRA, M.H. Estratégias de forrageamento de *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 48p. 2019.

R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

TOFTS, C., FRANKS, N.R. Doing the right thing: ants, honeybees and naked mole-rats. **Trends Ecology Evolution**, v.7, p. 346-349, 1992.

TORALES, G.J.; ARMÚA, A.C. Contribucion al conocimiento de las térmitas de Argentina (proviniente de Corrientes), *Nasutitermes coniger* (Isoptera: Termitidae). Primeira parte. **FACENA**, p. 206-222, 1986.

THORNE, B. Termite-termite interactions: workers as an agnistic cast. **Psych**, v.89, p. 133-150, 1982.

VASCONCELLOS, A., ARAÚJO, V. F.P.; MOURA, F. M. S.; BANDEIRA, A. G. Biomass and population structure of *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae) in the dry forest of Caatinga, Northeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, v. 36, p. 693-698, 2007.

WIERNASZ, D.; COLE, B.; COLE, B. Defending the nest: variation in the alarm aggression response and nest mound damage in the harvester ant *Pogonomyrmex occidentalis*. **Insects Sociaux**, v.61, p.273–279, 2014.

## Capítulo – 2

---

*Manuscrito a ser submetido a Fungal Ecology*

---

**Sobrevivência de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* (ISOPTERA: TERMITIDAE) expostos a fungo entomopatogênico**Marllon Rinaldo de Lima Andrade<sup>1</sup>Maria Avany Bezerra Gusmão<sup>1</sup><sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação – UEPB**RESUMO**

*Constrictotermes cyphergaster* apresenta operários dimórficos que estão em constante interação com colônias fúngicas no interior dos ninhos, assim como durante o forrageio. Além da presença desses fungos no interior das colônias ser vista como benéfica, haja vista as relações nutricionais que se estabelecem entre eles, fungos entomopatogênicos com alta toxicidade no interior dessas estruturas podem acarretar a morte da colônia. Considerando que o dimorfismo para os operários desse cupim apresenta caráter de polietismo, em que nem todos os indivíduos são expostos a agentes patogênicos na mesma proporção, o objetivo desse estudo foi observar se esses operários apresentam diferenças no tempo de sobrevivência quando exposto ao fungo *Aspergillus flavus*. Os bioensaios de sobrevivência foram feitos com operários pequenos (Op) e operários grandes (Og) isolados e em conjunto, em que os indivíduos foram expostos a diferentes suspensões do fungo testado ( $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ). Verificamos haver diferença significativa em relação ao tempo de sobrevivência para Op e Og em pelo menos uma das suspensões testadas, tanto para o bioensaio dos indivíduos tratados isoladamente (Op=  $-2*LL=646.47$ ; Og=  $-2*LL=543.48$ ;  $p<0,001$ ), quanto para o bioensaio dos indivíduos tratados em conjunto (Op=  $-2*LL=335.69$ ; Og=  $-2*LL= -682.85$ ;  $p<0,001$ ). A maior suspensão fúngica, ( $10^{-2}$ ), promoveu o menor tempo médio de sobrevivência para ambos os morfotipos quando comparada a menor concentração ( $10^{-8}$ ). Indivíduos Op apresentaram maior tempo médio de sobrevivência em todas as suspensões testadas nos dois bioensaios, implicando que esses operários são mais resistentes a infecções fúngicas. O morfotipo grande apresentou tempo de sobrevivência maior no bioensaio em que foi tratado em conjunto quando comparado ao bioensaio testado sozinho, pressupondo-se que o contato com operários pequenos possa aumentar seu tempo de sobrevivência através de mecanismos de imunidade social.

**Palavras chave:** Dimorfismo, cupins, patógenos, imunidade social.

**Survival of dimorphic workers of *Constrictotermes cyphergaster* (ISOPTERA: TERMITIDAE) exposed to entomopathogenic fungus**

Marllon Rinaldo de Lima Andrade<sup>1</sup>

Maria Avany Bezerra Gusmão<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate Program in Ecology and Conservation

**ABSTRACT**

*Constrictotermes cyphergaster* features dimorphic workers who are in constant interaction with fungal colonies inside the nests, as well as during foraging. In addition to the presence of these fungi inside the colonies being seen as beneficial, given the nutritional relationships that are established between them, entomopathogenic fungi with high toxicity inside these structures can cause the colony to die. Considering that the dimorphism for workers in this termite has a polyethic character, in which not all individuals are exposed to pathogens in the same proportion, the objective of this study was to observe whether these workers have differences in survival time when exposed to the fungus *Aspergillus flavus*. The survival bioassays were performed with small workers (SW) and large workers (LW) isolated and together, in which individuals were exposed to different suspensions of the tested fungus ( $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$ ). We found a significant difference in the survival time for SW and LW in at least one of the suspensions tested, both for the bioassay of the individuals treated alone (SW = -2 \* LL = 646.47; LW = -2 \* LL = 543.48;  $p < 0.001$ ), and for the bioassay of individuals treated together (SW = -2 \* LL = 335.69; LW = -2 \* LL = -682.85;  $p < 0.001$ ). The highest fungal suspension, ( $10^{-2}$ ), promoted the shortest average survival time for both morphotypes when compared to the lowest concentration ( $10^{-8}$ ). Op individuals had a longer average survival time in all suspensions tested in the two bioassays, implying that these workers are more resistant to fungal infections. The large morphotype showed a longer survival time in the bioassay in which it was treated together when compared to the bioassay tested alone, assuming that contact with small workers can increase their survival time through social immunity mechanisms.

**Keywords:** Dimorphism, termites, pathogens, social immunity.

## INTRODUÇÃO

Os ninhos de cupins são construídos para proteger e garantir a manutenção das populações termíticas em seu interior (HOWARD et al., 2011). Essas estruturas, complexas do ponto de vista arquitetônico, também apresentam condições como luminosidade, temperatura e umidade controladas, o que possibilita tanto a manutenção de populações de cupins como também populações de microrganismos como bactérias e fungos em seu interior. Normalmente, a composição desses microrganismos no interior dos ninhos está relacionada a microbiota do solo adjacente ao local onde as colônias se estabelecem. Isto se dá, entre outros fatores, devido ao uso de partículas do solo pelos operários para a construção dos ninhos, os quais acabam incorporando esporos fúngicos nessas estruturas físicas (HOLT & LAPAGE, 2000).

A associação entre fungos e térmitas pode ser considerada benéfica de acordo com as relações nutricionais construídas, visto que esses microrganismos podem alterar a palatabilidade dos recursos, auxiliando assim na alimentação (SANDS, 1969; BIGNELL, 2010). Entre as diversas associações entre esses organismos, cupins da subfamília Macrotermitinae apresentam o mais alto grau de associação com os fungos. Esses cupins cultivam em seus ninhos fungos do gênero *Termitomyces* que constroem os característicos jardins de fungos, e esses auxiliam no abastecimento de recursos, nascendo assim uma relação de dependência (CORREIA et al., 2008; NI & TOKUDA, 2013).

Todavia, diversos fungos considerados entomopatogênicos podem ser nocivos às colônias de cupins, comprometendo a sua manutenção, a exemplo de *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. e *Trichoderma* sp., que geralmente são encontrados no interior dessas estruturas (JAYASIMHA et al., 2007; BARBOSA-SILVA et al., 2016). Esses fungos são considerados altamente patogênicos, visto sua grande capacidade de penetrar na cutícula dos insetos causando diversos mecanismos fisiológicos de defesa em resposta a infecção fúngica (GRACE, 1990; ROULAND-LEFEVRE, 2000, CREMER et al., 2009). As relações entre os microrganismos e os cupins podem ter evoluído juntamente com a evolução da vida em sociedade dos mesmos, uma vez que a presença desses microrganismos pode influenciar na sobrevivência desses indivíduos e no desenvolvimento de suas castas (BIGNELL et al., 2011).

O modo de vida em sociedade trouxe diversas vantagens evolutivas ao grupo como a divisão de funções na realização de atividades (BOUCIAS, 1996). Em contrapartida, esse modo de vida trouxe também algumas desvantagens, como a maior probabilidade na transmissão de patógenos, haja vista a grande integração dos indivíduos no interior dos ninhos (WILSON, 1971).

Para minimizar esses riscos de contaminação no interior das colônias, os cupins tiveram que adotar diversos tipos de mecanismos de defesa como o desenvolvimento de estratégias de imunidade individual e social, além da divisão de funções entre as castas e intracasta, considerado um mecanismo eficiente na defesa (DUARTE et al., 2014), visto que nem todos os indivíduos ficam expostos a mesma atividade. A influência de fungos entomopatogênicos na sobrevivência de cupins *Zootermopsis angusticollis*, *Nasutitermes corniger*, *N. coxipensis* e *Cornitermes cumulans* foi verificada com ênfase no controle biológico destes, e não levaram em consideração as relações existentes entre fungos presentes dentro dos ninhos e a susceptibilidade dos indivíduos (TRANIELLO et al., 2002; SUN et al., 2002; ALBUQUERQUE et al., 2005).

Diferentemente ao que ocorre em outros cupins, ainda não há relatos de estudos que associem fungos entomopatogênicos e a sobrevivência de operários de *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae: Nasutitermitinae). Os ninhos desse cupim, que são majoritariamente arborícolas (MATHEWS, 1977), apresentam em seu interior diversos tipos de fungos conhecidos como entomopatogênicos, onde os mais abundantes são *Aspergillus flavus* e *Penicillium atramentosum* (BARBOSA-SILVA et al., 2016). Esporos desses fungos podem ser levados aos ninhos através de seus operários dimórficos durante a construção dos mesmos ou durante o retorno da atividade de forrageio, realizado a céu aberto (Moura et al., 2006). Esses fungos podem ocasionar diversas doenças aos insetos como por exemplo a “stone-brood”, causada por *A. flavus* em operárias de abelhas e formigas e, conseqüentemente, a morte dos indivíduos (GLIŃSKI & BUCZEK 2003).

Recentemente foi notificado que durante a atividade de forrageio de *C. cyphergaster*, os operários pequenos são mais abundantes no centro das trilhas, participando ativamente dessa atividade, enquanto que os operários grandes foram vistos mimetizando o comportamento de defesa dos soldados nas bordas das trilhas de forrageio (Oliveira, 2019). Nessa condição, quantitativamente, espera-se que os operários menores se mostrem mais expostos a patógenos e parasitas microbianos, e devem, portanto, melhorar significativamente a resistência fisiológica à infecção, assim como a construção de uma resposta imune adaptativa.

Visto que a manutenção das colônias depende da sobrevivência dos indivíduos, e que a presença de fungos entomopatogênicos no interior dos ninhos pode influenciar nessa sobrevivência, o presente estudo teve como objetivo observar a sobrevivência de operários dimórficos expostos a diferentes suspensões de *A. flavus*, testando a hipótese de que os operários pequenos apresentam tempo de sobrevivência maior quando comparado aos seus irmãos grandes.



## MATERIAIS E MÉTODOS

### Coleta e classificação dos indivíduos

Os indivíduos utilizados nos bioensaios de sobrevivência foram obtidos a partir de três ninhos, coletados na EESJC (Estação experimental de São João do Cariri – ver item 2, área de estudo, sessão introdução geral). Os ninhos coletados foram trazidos para o Laboratório de Ecologia de Térmitas da UEPB, e os operários tiveram suas medidas de tamanho corporal e coloração da cabeça aferidas a fresco, quando recém-chegados do campo. Os operários foram classificados em dois morfotipos (Op = operário pequeno, Og = operário grande) (Fig.1), seguindo MATHEWS (1977).

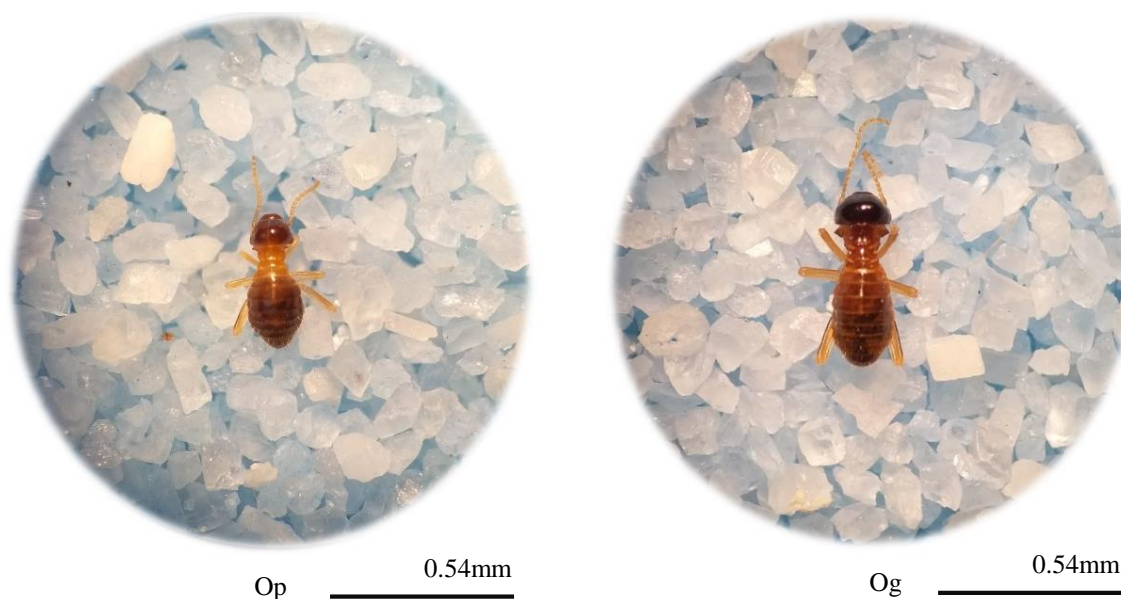


Figura 1– Operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* (Op = operário pequeno, Og = operário grande), classificados visualmente a partir de caracteres morfológicos como tamanho do corpo e coloração da cápsula cefálica. As imagens foram adquiridas a partir do comprimento do tamanho do corpo, utilizando uma ocular milimetrada em estereomicroscópio com aumento de 1x.

### Isolamento e identificação do fungo

A cepa de *A. flavus* foi obtida a partir dos ninhos coletados em campo, seguindo metodologia proposta por BARBOSA-SILVA et al. (2016). Depois do isolamento, as amostras foram reisoladas e cultivadas em meio Sabouraud Dextrose Agar (SDA) durante 7 dias para obtenção das colônias puras e preparação das suspensões fúngicas.

O fungo foi identificado a partir da preparação de esfregaços em lâmina de microscopia, e sua identidade fúngica foi confirmada através da observação de estruturas morfológicas como micélio, esporos e conídios (Fig. 2), seguindo a descrição proposta por Barnett e Hunter (1972). Além disso, as colônias também foram comparadas com colônias do mesmo fungo armazenadas na micoteca própria do Laboratório de Ecologia de Térmitas.

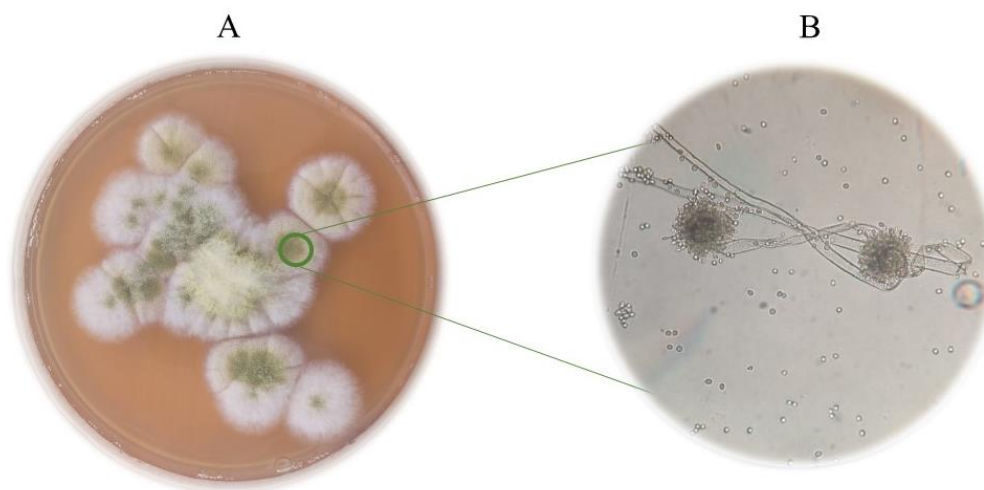


Figura 2 – Colônia pura do fungo *Aspergillus flavus* obtida a partir de ninhos de *Constrictotermes cyphergaster* (A). Destaque para os conidióforos, estruturas produtoras de conídios, típicos de *Aspergillus* (B).

### Preparação das suspensões fúngicas

Na placa contendo a colônia pura, adicionou-se 20 ml de água esterilizada e logo após fez-se a raspagem do material fúngico para obtenção da primeira suspensão, que foi filtrada com gaze esterilizada e colocada em um tubo de ensaio, seguindo a metodologia de Carnaúba et al. (2007). Em seguida, foram realizadas sucessivas diluições para obtenção das suspensões nas concentrações  $10^{-2}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-8}$  (Fig. 3).

### Bioensaios de sobrevivência

Os testes de sobrevivência foram realizados em dois bioensaios. O primeiro consistiu em avaliar a sobrevivência dos operários dimórficos expostos a diferentes suspensões fúngicas, tratados isoladamente. Cada tratamento foi realizado em quatro réplicas, além do grupo controle, também com quatro réplicas. Cada réplica continha cinco operários de cada morfotipo (Fig. 4). No segundo bioensaio, a sobrevivência dos operários dimórficos foi avaliada em conjunto, considerando-se a proporção de 4:1 (04 Op, 01 Og) (OLIVEIRA, 2019) (Fig. 5).

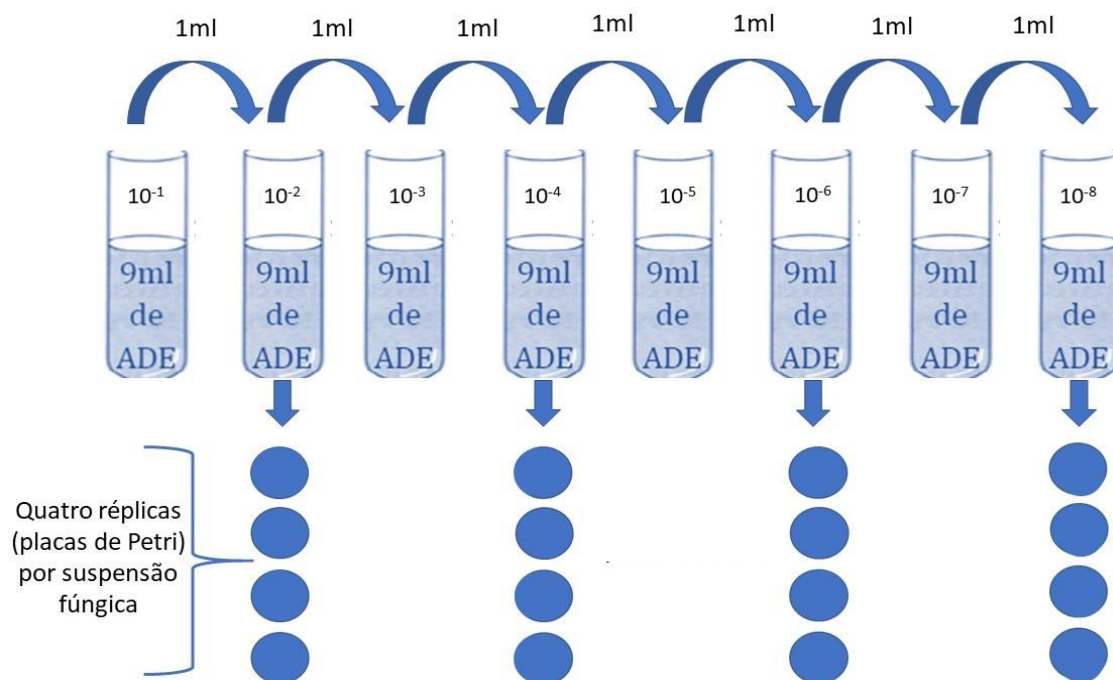


Figura 3 – Metodologia aplicada para obtenção de suspensões fúngicas seriadas do fungo *Aspergillus flavus*. ADE – água destilada esterilizada.

Em cada um dos bioensaios, os operários foram colocados em placas de Petri (60x15mm), forrada com papel filtro esterilizado e impregnado com 300  $\mu$ L das respectivas suspensões. Esse procedimento permitiu que os indivíduos colocados sobre o papel tivessem contato indireto com o fungo. A mortalidade dos operários foi observada diariamente em intervalos de 2 em 2 horas, durante sete dias ou até que o último indivíduo dos tratamentos (suspensões fúngicas) morresse.

Os indivíduos do tratamento controle que passassem desse período eram censurados. Já os operários mortos foram retirados e acondicionados em placas de Petri contendo papel filtro esterilizado e umedecido com água esterilizada, os quais foram mantidos em B.O.D. a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  para confirmação do agente causal (Fig. 6).

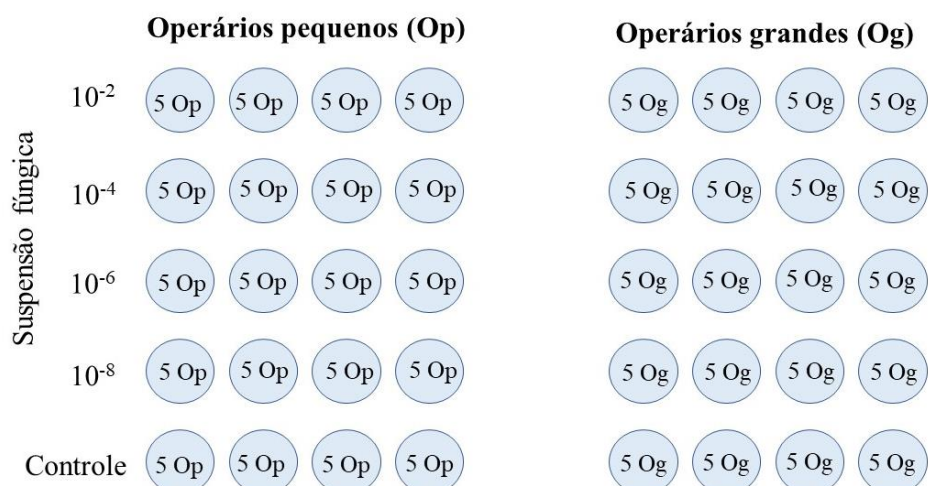


Figura 4 – Modelo de bioensaio utilizado para observar a sobrevivência de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* expostos a *Aspergillus flavus* tratados separadamente.

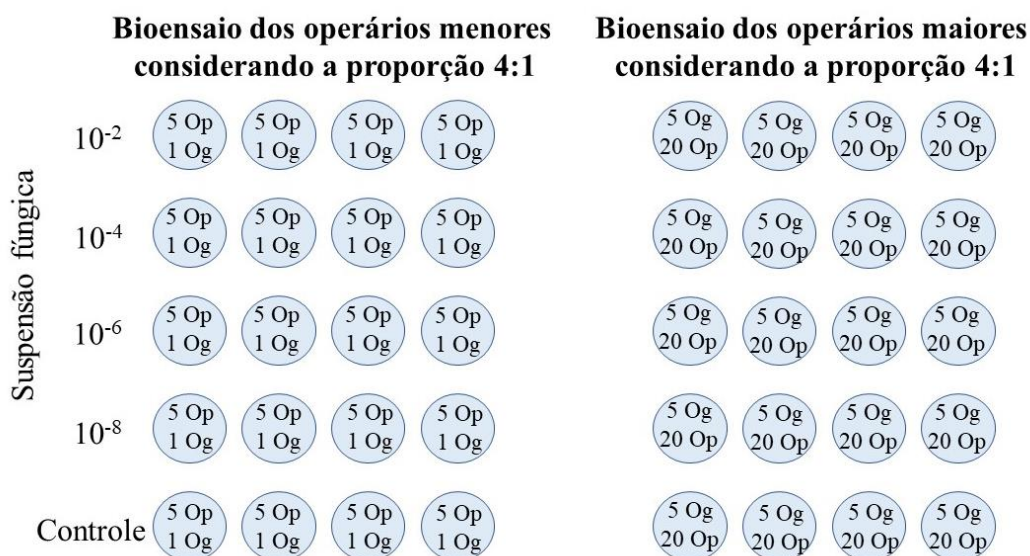


Figura 5 – Modelo de bioensaio utilizado para observar a sobrevivência de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* expostos a *Aspergillus flavus* tratados em conjunto em diferentes proporções. (Op – operário pequeno, Og – operário grande).

### Análises estatísticas

Foram construídos modelos de sobrevivência censurados com distribuição de Weibull, utilizando o tempo de sobrevivência em função das concentrações fúngicas testadas através do pacote Survival. Para detectar diferenças estatísticas entre as concentrações foi utilizado o teste ANODEV, e para testes de comparação *posthoc* utilizou-se o teste de Dunn, com ajuste de Bonferroni. Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa estatístico R 3.5.1 (R Development Core Team, 2018).

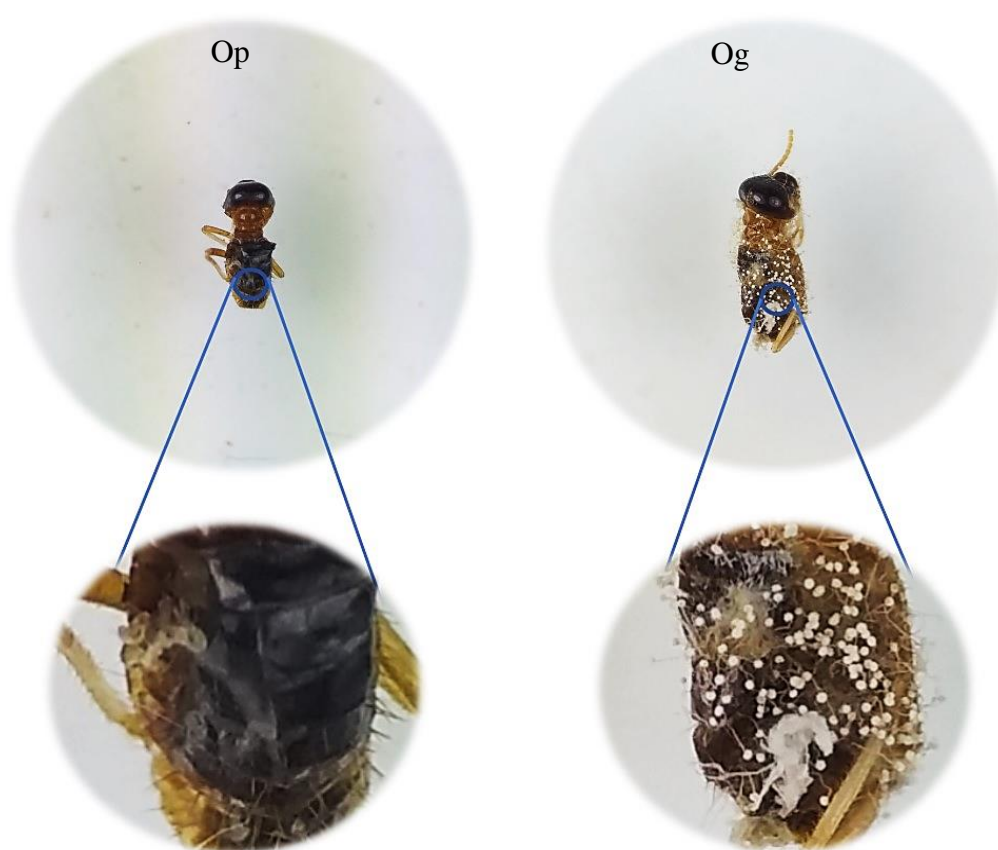


Figura 6 – Mostra de agente causal, *Aspergillus flavus*, em operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* após 72 horas de contato. Detalhe para os diferentes estágios de infecção entre o operário pequeno - Op e operário grande - Og.

## RESULTADOS

De acordo com os modelos de sobrevivência obtidos, os operários Op e Og tratados isoladamente apresentaram diferenças significativas no tempo de sobrevivência em pelo menos uma das suspensões analisadas, verificando-se  $-2*LL=646.47$  para Op e  $-2*LL=543.48$  para Og, ambos com  $p<0,001$  (Figs. 7 e 8). Para os dois morfotipos, a suspensão  $10^{-2}$  diferiu estatisticamente das demais suspensões e do tratamento controle. As suspensões  $10^{-4}$  e  $10^{-6}$  não diferiram estatisticamente entre si para os dois morfotipos analisados. Para os operários pequenos a suspensão  $10^{-8}$  e o grupo controle não apresentaram diferenças estatísticas entre si, porém, para os operários grandes esses dois tratamentos diferiram estatisticamente (Tab.1).

Tabela 1 – Comparações pareadas das suspensões do fungo *Aspergillus flavus* utilizadas para testes de sobrevivência dos operários pequenos (Op) e grandes (Og) de *Constrictotermes cyphergaster* tratados isoladamente

Pareamento Suspensões fúngicas		Morfotipo			
		Op		Og	
		valor (z)	p	valor (z)	p
$10^{-2}$	$10^{-4}$	4.441	<0.001*	4.364	<0.001*
$10^{-2}$	$10^{-6}$	7.033	<0.001*	6.827	<0.001*
$10^{-2}$	$10^{-8}$	12.057	<0.001*	11.501	<0.001*
$10^{-2}$	Controle	14.420	<0,001*	14.961	<0.001*
$10^{-4}$	$10^{-6}$	2.592	0.095	2.462	0.137
$10^{-4}$	$10^{-8}$	7.616	<0.001*	7.137	<0.001*
$10^{-4}$	Controle	9.979	<0.001*	10.596	<0.001*
$10^{-6}$	$10^{-8}$	5.024	<0.001*	5.674	<0.001*
$10^{-6}$	Controle	7.386	<0.001*	8.133	<0.001*
$10^{-8}$	Controle	2.362	0.181	3.459	<0.001*

Os dados mostraram que Op apresentaram tempo médio de sobrevivência superior quando comparado a Og, verificando-se este padrão para todas as concentrações (Tab. 2). A concentração  $10^{-2}$ , com maior percentual fúngico, resultou no menor tempo de sobrevivência para ambos os morfotipos, verificando-se, porém, maior tempo para operários pequenos (Op). A aplicação da menor concentração fúngica,  $10^{-8}$ , resultou no maior tempo de sobrevivência para ambos os indivíduos.

Tabela 2 – Sobrevivência média (horas) de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* tratados separadamente em diferentes suspensões fúngicas de *Aspergillus flavus*. Op- operário pequeno; Og – operário grande; média seguida de erro padrão.

Morfotipo	Suspensão fúngica				
	$10^{-2}$	$10^{-4}$	$10^{-6}$	$10^{-8}$	Controle
Op	82.56±11.89	116.3±5.08	121.83±3.08	143.23±3.60	146.8±7.34
Og	26.0±6.00	45.18±5.22	50.16±3.38	91.8±6.49	114.36±21.69

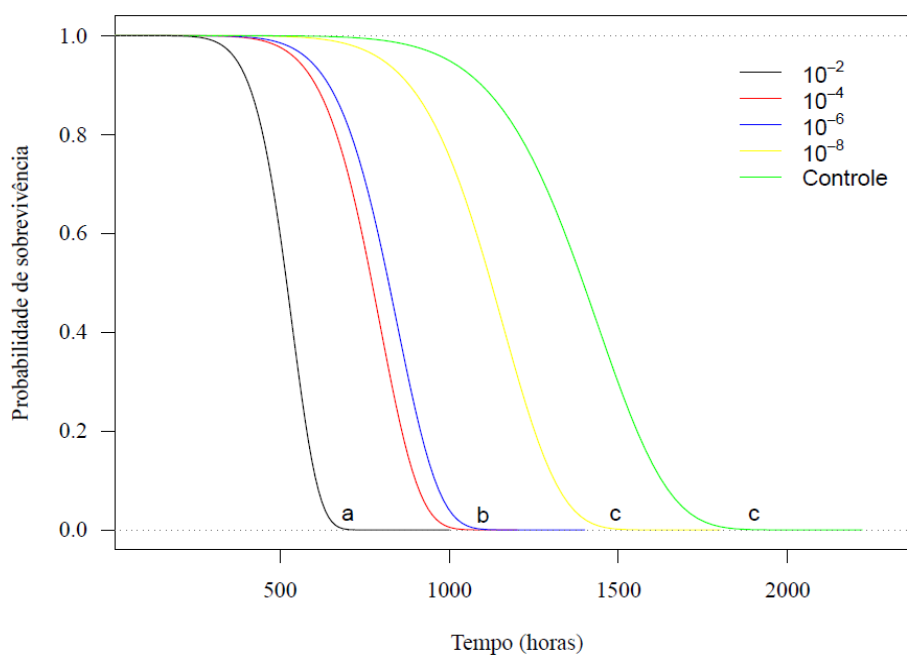


Figura 7 – Probabilidade de sobrevivência de operários pequenos de *Constrictotermes cyphergaster* expostos a diferentes suspensões do fungo *Aspergillus flavus*. Curvas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

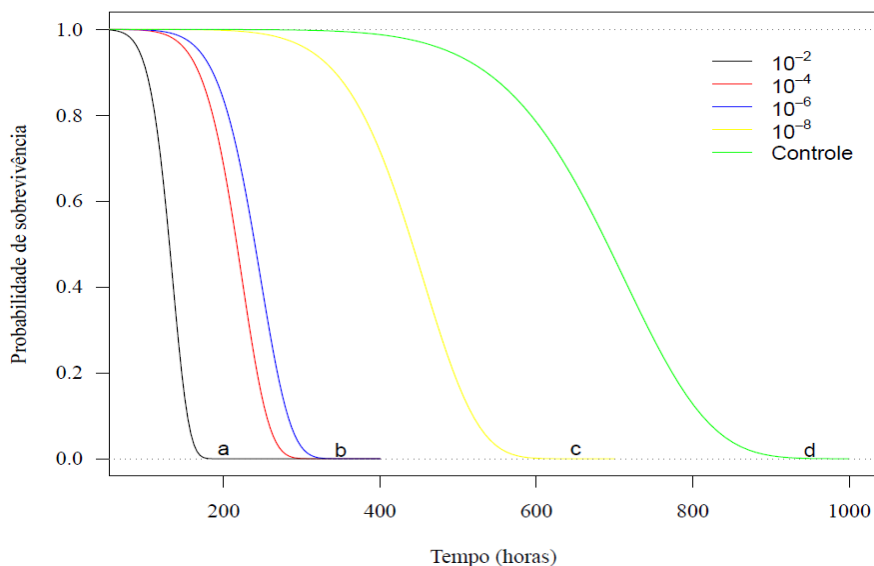


Figura 8 – Probabilidade de sobrevivência de operários grandes de *Constrictotermes cyphergaster* expostos a diferentes suspensões do fungo *Aspergillus flavus*. Curvas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Assim como os operários tratados isoladamente, os morfotipos tratados em conjunto também exibiram diferenças significativas em relação ao tempo de sobrevivência em pelo menos uma das suspensões analisadas ( $Op = -2 * LL = 335.69$ ;  $Og = -2 * LL = -682.85$ ;  $p < 0,001$ ) (Figs. 9 e 10). Salvo as suspensões  $10^{-4}$  e  $10^{-6}$  que não apresentaram diferenças estatísticas entre si, todas as outras diferiram estatisticamente para ambos os morfotipos tratados em conjunto (Tab.3).

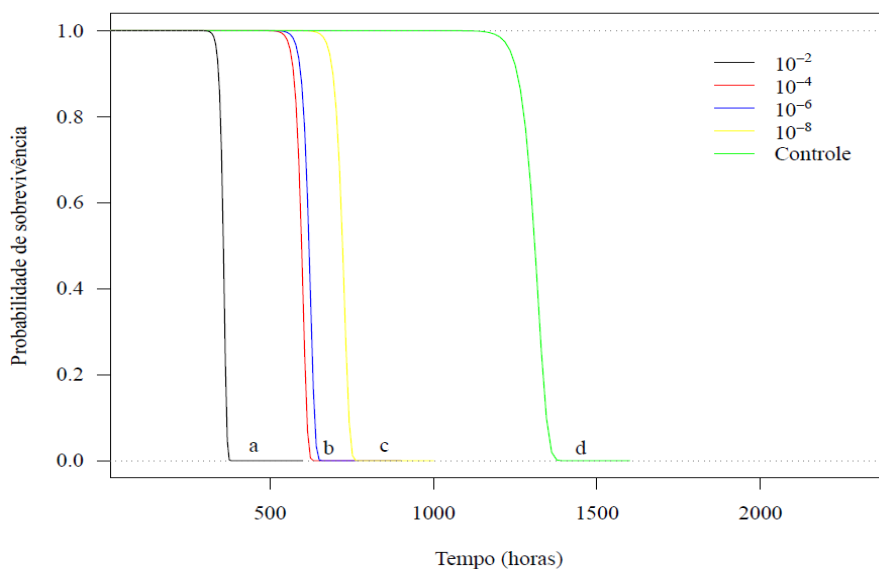


Figura 9 – Probabilidade de sobrevivência para operários pequenos de *Constrictotermes cyphergaster*, tratados em conjunto com operários grandes em diferentes suspensões do fungo *Aspergillus flavus*. Curvas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.



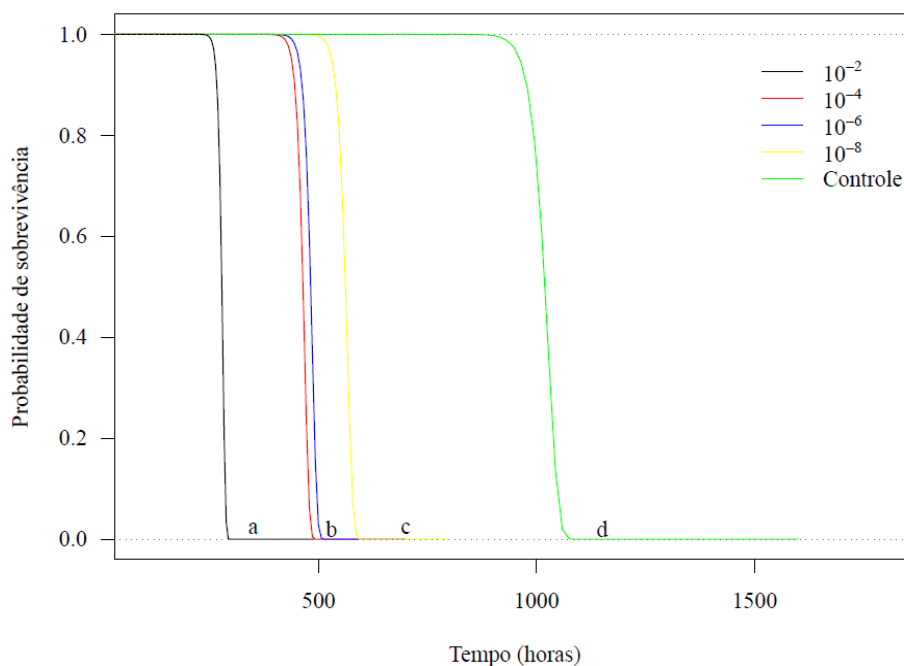


Figura 10 – Probabilidade de sobrevivência de operários grandes de *Constrictotermes cyphergaster*, tratados em conjunto com operários pequenos em diferentes suspensões do fungo *Aspergillus flavus*. Curvas seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si.

Tabela 3 – Comparações pareadas das suspensões do fungo *Aspergillus flavus* utilizadas para testes de sobrevivência de operários pequenos (Op) e grandes (Og) de *Constrictotermes cyphergaster* tratados em conjunto.

Suspensões fúngicas		Morfotipo			
		Op		Og	
		valor (z)	p	valor (z)	p
$10^{-2}$	$10^{-4}$	4.549	<0.001*	4.501	<0.001*
$10^{-2}$	$10^{-6}$	6.874	<0.001*	6.930	<0.001*
$10^{-2}$	$10^{-8}$	11.423	<0.001*	11.432	<0.001*
$10^{-2}$	Controle	15.231	<0,001*	15.242	<0.001*
$10^{-4}$	$10^{-6}$	2.324	0.200	2.429	0.151
$10^{-4}$	$10^{-8}$	6.874	<0.001*	6.930	<0.001*
$10^{-4}$	Controle	10.682	<0.001*	10.741	<0.001*
$10^{-6}$	$10^{-8}$	4.549	<0.001*	4.501	<0.001*
$10^{-6}$	Controle	8.357	<0.001*	8.312	<0.001*
$10^{-8}$	Controle	3.807	<0.001*	3.810	<0.001*

Tabela 4 – Sobrevivência média (horas) de operários dimórficos de *Constrictotermes cyphergaster* tratados em conjunto em diferentes suspensões fúngicas de *Aspergillus flavus*. Op- operário pequeno; Og – operário grande; média seguida de erro padrão.

Morfotipo	Suspensão fúngica				Controle
	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-8</sup>	
Op	72.4±3.28	118.3±3.44	123.3±2.69	144.1±3.31	151.26±1.83
Og	52.2±2.97	93.9±2.64	97.7±2.91	114±1.54	127.33±1.86

## DISCUSSÃO

Maior tempo médio de vida para operários pequenos (Op) de *C. cyphergaster* quando exposto a diferentes suspensões fúngicas de *A. flavus* pode estar associado ao desenvolvimento e/ou elevação da imunidade adquirida desses indivíduos. Esses operários Op são encontrados em maior abundância (maior média de indivíduos) nas suas trilhas de forrageio quando comparado a operários grandes (Og) (OLIVEIRA, 2019). Nesse sentido, são expostos a maior tempo/variedade de agentes patogênicos. Todos os insetos já nascem com sistema imunológico inato e inespecífico que os protegem de microrganismos de forma geral. Porém, ao longo da sua história de vida e de seus hábitos é comum que os mesmos entrem em contato com cargas infectivas subletais de inúmeros microrganismos nas suas diversas atividades, as quais podem desenvolver nos mesmos uma resposta rápida e específica, a imunidade adquirida (SADD et al., 2006; MASRI et al., 2014).

O maior tempo de exposição a uma variedade de cargas infectivas subletais de agentes patogênicos facilita a expressão de uma resposta imune adquirida com maior eficiência. Essa resposta imune adaptativa nos insetos é realizada principalmente pela indução de proteínas pré-sintetizadas, devido a capacidade de memória desse sistema em reconhecer patógenos específicos que em algum momento prévio entraram em contato (LITTLE et al., 2004; PHAM et al., 2009; COOPER et al., 2017). Indivíduos de *Zootermopsis angusticollis* previamente infectados com dose não letal de *Metahizium anisopliae* foram mais resistentes quando expostos novamente ao fungo, havendo alteração da constituição proteica da hemocele quando comparada aos indivíduos que não foram previamente infectados (TRANIELLO et al., 2002).

Segundo Rosengaus et al. (2007), as proteínas induzidas pela pré-exposição a agentes patogênicos apresentam propriedades antifúngicas que afetam a germinação e esporulação do fungo, destruindo sua parede celular.

Aqui, sugerimos que operários grandes provavelmente estão menos expostos a agentes patogênicos no momento do forrageio, afetando o desenvolvimento da resposta imune adquirida, ao menos quando tratado isoladamente em comparação a operários Op. Se as diferenças morfológicas encontradas nos operários de *C.cyphergaster* estiverem relacionadas com a idade dos indivíduos, o menor tempo de sobrevivência de Og pode ser assegurado pelo polimorfismo temporal, em que indivíduos maiores são mais velhos na linha de desenvolvimento, exibindo menos tempo de contribuição à colônia quando comparado a indivíduos menores e, conseqüentemente, mais novos (PORTER & JORGENSEN, 1981). Segundo Hillyer (2016), a idade do indivíduo influencia na resposta imune que pode ser diminuída com o avanço da idade, em um processo denominado de imunosenescência, que interfere negativamente nos processos imunológicos dos insetos como o encapsulamento, nodulação e melanização (DAUKUSTE et al., 2012; PRASSAI et al., 2012).

O menor tempo de sobrevivência de Og e a rápida esporulação do fungo nesses indivíduos pode ser apoiado pela teoria metabólica, a qual preconiza que a fisiologia ecológica dos indivíduos pode ser influenciada pelo tamanho do seu corpo, alterando suas funções, taxas metabólicas e sobrevivência (BROWN et al., 2004). Apesar de não se ter quantificado o número de hemócitos e as alterações histopatológicas e bioquímicas da hemolinfa de *C. cyphergaster*, hipotetiza-se aqui que operários pequenos têm taxas metabólicas superiores aos seus irmãos operários grandes, permitindo que seu sistema imunológico responda mais eficientemente contra patógenos (RIVEROS et al., 2011).

Para um fungo entomopatogênico alcançar sucesso no processo de infecção de um inseto social é preciso que ele vença todas as barreiras de imunidade, tanto individuais quanto sociais, sendo a cutícula a primeira delas. Ao entrar em contato com a cutícula dos insetos, os agentes patogênicos se deparam com uma gama de proteínas como lipases, catalases e proteases que tentam impedir a penetração desses microrganismos (ORTIZ-URKIZA et al., 2013). Além disso, o contato dos esporos fúngicos com a cutícula permite a produção de hormônios que, no caso dos insetos sociais, desencadeiam alguns mecanismos de imunidade social, a exemplo da febre coletiva verificada em abelhas contra bactérias e o comportamento de *grooming* em cupins (STARKS et al., 2000; CREMER et al., 2007).

O comportamento de *grooming* exibido pelos cupins é um dos principais mecanismos de defesa social, uma vez que, ao realizá-lo, os indivíduos reduzem a carga de microrganismos patogênicos da cutícula dos seus irmãos (YANAGAWA et al., 2007). Esse comportamento pode explicar o maior tempo de sobrevivência de Og tratados em conjunto com Op no nosso estudo. Rosengaus et al. (1998) verificaram que o tamanho do grupo, assim como a composição heterogênea de grupo, aumentou significativamente o tempo de sobrevivência de *Z. angusticollis* tratados com diferentes concentrações de *M. anisopliae*. Yanagawa et al. (2008) também verificaram menor susceptibilidade de *Coptotermes formosanus* tratados em grupos, sendo o *self-grooming* menos eficaz do que o *grooming* realizado por outros indivíduos da colônia.

A redução da carga de agentes patogênicos da cutícula desses insetos garante isenção de sobrecarga do processo imunológico celular que é a última barreira encontrada pelos patógenos antes de sua propagação no corpo do inseto. A fisiologia da imunidade celular ou inata é ativada quando o agente patogênico consegue penetrar na cutícula, chegando até a hemocele, ocasionando um aumento na quantidade de hemócitos e a formação de nódulos a partir do encapsulamento dos microrganismos (CHOUVENC et al., 2009). Esse processo demanda alto custo energético e fisiológico, não se permitindo encapsular ou neutralizar todos os agentes infecciosos que possam estar presentes no corpo do hospedeiro. Por isso os mecanismos de imunidade social que reduzem a carga de microrganismos da cutícula dos insetos é tão importante para que o processo de imunidade celular ocorra com sucesso (CHOUVENC et al., 2010).

Menor tempo de sobrevivência de ambos os morfotipos de operários para *C. cyphergaster* tratados com a maior concentração fúngica ( $10^{-2}$ ) permite-nos admitir que estes agentes patogênicos com maior abundância de colônias fúngicas no interior dos ninhos seja um dos principais fatores que causam a morte e o abandono dos ninhos (ROULAND-LÉFEVRE, 2000; BARBOSA-SILVA et al., 2016). Diferente para o observado quando os mesmos foram expostos a menor concentração fúngica ( $10^{-8}$ ), sugerindo que *A. flavus*, ainda que um agente entomopatogênico para diversos insetos, e esteja presente no interior dos ninhos, não oferece riscos à colônia quando presentes em baixas concentrações.

Chouvenc et al. (2013), ao testarem fezes de *C. formosanus* contra *M. anisopliae* e *Beauveria bassiana*, sugeriram que o controle desses e de outros entomopatógenos no interior das colônias pode ser feito através de alguns mecanismos de defesa que vão além do individual e do social. É possível haver um mutualismo não nutricional com actinobactérias presentes nas

fezes dos indivíduos, e estas, atuarem contra patógenos fúngicos que podem pôr a manutenção da colônia em risco.

Resultados similares já haviam sido compartilhados anteriormente por Rosengaus et al. (1998), quando verificaram ação antifúngica do material fecal de *Z. angusticollis* contra diferentes concentrações de *M. anisopliae*, sugerindo que as fezes desses insetos podem ser consideradas um mecanismo de defesa contra patógenos.

O cupim *Constrictotermes cyphergaster* armazena suas fezes no interior de suas colônias, assim, considera-se que esse cupim ao depositar esse material dentro do ninho organiza uma estratégia no controle de microrganismos no interior de suas colônias. O material excretado por *C. cyphergaster* forma um material escuro comumente chamado de “massa preta”, que se acumula no interior das células do ninho. Além de servir como abrigo para inquilinos obrigatórios dessa espécie como *Inquilinitermes fur* e *I. microcerus* (CUNHA & BRANDÃO, 2000; CUNHA et al., 2003), que consomem este material acumulado, a partir do momento que constroem galerias com este material, essa massa preta também abriga uma diversidade de fungos (BARBOSA et al., 2016) e actinobactérias que, em ensaios prévios, se mostraram eficientes no controle de fungos entomopatogênicos (BEZERRA-GUSMÃO et al., dados não publicados).

Nossos resultados mostram a importância da imunidade social dos operários dimórficos de *C. Cyphergaster*, cujas diferenças entre Op e Og podem refletir em sua sobrevivência quando expostos a agentes patogênicos. É importante ressaltar que esse estudo é pioneiro no que diz respeito a sobrevivência de operários de *C. cyphergaster* expostos a patógenos e que esses resultados aliados a experimentos cuticulares e de caracterização hemocitária podem nos fornecer ferramentas para o entendimento da imunidade e resistência desses indivíduos, especialmente pelo seu modo de forrageio, a céu aberto.

## REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A.C.; PEREIRA, K.C.A.; CUNHA, F.M.; VEIGA, A.F.S.L.; ATHAYDE, A.C.R.; LIMA, E. A.L.A. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *Metarhizium anisopliae* var. *acridium* sobre *Nasutitermes coxipoens* (Holmgren) (Isoptera: Termitidae). **Neotropical Entomology**, v.34, p.585-592, 2005.

BARBOSA-SILVA, A.M., FARIAS M.A.A., MELLO A.P., SOUZA A.E.F, GARCIA H.H.M. & BEZERRA-GUSMÃO M.A. Lignocellulosic fungi in nests and food content of *Constrictotermes cyphergaster* and *Inquilinitermes fur* (Isoptera, Termitidae) from the semiarid region of Brazil. **Fungal Ecology**, v.20, p.75–78, 2016.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B. Illustrated genera of imperfect fungi. Minnesota: **Burges Publishing Company**. 128p, 1972.

BOUCIAS, D.C.; PENDLAND, J.C. Principles of insect pathology. **Klewer Academic Publishers Group**. Boston. p. 537, 1998.

CARNAÚBA, J.P.; SOBRAL, M.F.; AMORIM, E.P.R.; SILVA, J.C.; SANTOS, V.B.; FELIX, K.C.S. Avaliação de diferentes meios de cultura na esporulação de *Scytalidium lignicola*. **Summa phytopatol**. Botucatu, v.33, p.199-200, 2007.

CHOUVENC, T.; NY, SU; A, ROBERT. Cellular encapsulation in the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera), against infection by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Journal invertebrate pathology**, v.101, p.234-241, 2009.

CHOUVENC, T.; SU, N-Y. Apparent synergy among defense mechanisms in subterranean térmites (Rhinotermitidae) against epizootic events: Limits and potential for biological control. **Journal economy entomology**, v.103, p.1327–1337, 2010.

CHOUVENC, T.; EFSTATHION, C. A.; ELLIOTT, M. L.; SU, N. Y. Extended disease resistance emerging from the faecal nest of a subterranean termite. **Proceeding bioical science**, v.280, 20131885, 2013.

COOPER, D.; ELEFThERIANOS, I. Memory and specificity in the insect immune system: Current perspectives and future challenges. **Frontier in Immunology**, v.8, p.539, 2017.

CREMER, S.; ARMITAGE, S.A.O.; SCHMID-HEMPEL, P. Social immunity. **Current Biology**, v.17, p.693–702, 2007.

CREMER, S.; SIXT, M. Analogies in the evolution of individual and social immunity. **Philos. Transaction of the Royal Society**, v.364, p.129–42, 2009.

CUNHA H.F.; BRANDÃO, D. Invertebrates associated with the neotropical termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitinae, Nasutitermitinae). **Sociobiology**, v.37, p.593-599.

CUNHA, H.F.; COSTA, D.A.; ESPÍRITO-SANTO, F.K.; SILVA, L.O.; BRANDÃO, D. Relationship between *Constrictotermes cyphergaster* and inquiline termites in the Cerrado (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**, v.42, p.761-770, 2003.

DUARTE, A., WEISSING, F.J., PEN, I., KELLER, L. An Evolutionary Perspective on Self-Organized Division of Labor in Social Insects. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 42, p. 91-110, 2011.

DAUKSTE, J.; KIVLENIECE, I.; KRAMA, T.; RANTALA, M.J.; KRAMS, I. Senescence in immune priming and attractiveness in a beetle. **Journal Evolution Biology**, v.25, p.1298-1304, 2012.

HILLYER, J.F. Insect immunology and hematopoiesis. **Developmental Comparative Immunology**, v.58, p.102–118, 2016.

HOLT, J.A.; LEPAGE, M. Termites and soil properties. In: Abe, T., Bignell, D.E., Higashi, M. (Eds.), **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 389–407, 2000.

HOWARD, K. J.; THORNE, B. L. Eusocial Evolution in Termites and Hymenoptera. In: BIGNELL, E.; ROINSIN, E.; LO, N. (eds.) **Biology of Termites: A Modern Synthesis**. Vancouver: Springer, v.2, p.1-24, 2011.

JAYASIMHA, P.; HENDERSON, G. Effect of *Aspergillus flavus* and *Trichoderma harzianum* on survival of *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v.49, p.135–141, 2007.

KING, H.; OCKO, S.; MAHADEVAN, L. Termite mounds harness diurnal temperature oscillations for ventilation. **Proceedings National Academic of Science**, v.112, p.11589–11593, 2015.

LITTLE, T.J.; KRAAIJEVELD, A.R. Ecological and evolutionary implications of immunological priming in invertebrates. **Trends Ecology Evolution**, v.19, p.58–60, 2004.

MASRI, L.; CREMER, S. Individual and social immunisation in insects. **Trends Immunology**, v.35, p.471-482, 2014.

MATHEWS, A. G. A. Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil. **Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, 267 p, 1977.

MOURA, F. M. S.; VASCONCELLOS, A. V. E. P. ARAÚJO & BANDEIRA, A. G. Seasonality in foraging behavior of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae) in the Caatinga of Northeastern Brazil. **Insect Social**, v. 20, p.1-8, 2006.

NI, J.; TOKUDA, G. Lignocellulose-degrading enzymes from termites and their symbiotic microbiota. **Biological Technology**. Adv, v.31, p.838-850, 2013.

OLIVEIRA, M.H. Estratégias de forrageamento de *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande – PB, 48p. 2019.

ORTIZ-URQUIZA, A.; KEYHANI, N.O. Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. **Insects**, v.4, p.357–374, 2013.

PASSOS, E. M.; ALBUQUERQUE, A. C.; MARQUES, E. J.; TEIXEIRA, V. W.; SILVA, C. C.; OLIVEIRA, M. A. P. Effects of *Isaria* (Persoon) isolates on the subterranean termite *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v.81, p.232–237, 2014.

PHAM, L.N.; SCHNEIDER, D.S. Evidence for specificity and memory in the insect innate immune response. **In: Insect Immunology**. New York: Oxford University Press. p. 49–68, 2009.

PRASAI, K.; KARLSSON, B. Variation in immune defence in relation to age in the greenveined white butterfly (*Pieris napi* L.). **Journal Invertebrate Pathology**, v.111, p.252–254, 2012.

RIVEROS, A. J.; ENQUIST, B. J. Metabolic scaling in insects supports the predictions of the WBE model. **Journal Insect Physiology**, v.57, p. 688–693, 2011.

ROSENGAUS, R.B.; GULDIN, M.R.; TRANIELLO, J.F.A. Inhibitory effect of termite fecal pellets on fungal spore germination. **Journal of Chemical Ecology**, p.1697–1708, 1998.

ROSENGAUS, R. B.; MAXMEN, A. B.; COATES, L. E.; TRANIELLO, J. F. A. Disease resistance: a benefit of sociality in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera: Termitidae). **Behavior Ecology Sociobiology**, v.44, p.125–134, 1998.

ROSENGAUS, R. B.; CORNELISSE, T.; GUSCHANSKI, K.; TRANIELLO, J.F.A. Inducible immune proteins in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis*. **Naturwissenschaften**, v.94, p.25–33, 2007.

SADD, B.M.; SCHMID-HEMPEL, P. Insect immunity shows specificity in protection upon secondary pathogen exposure. **Current Biology**, v.16, p.1206–1210, 2006.

SANDS WA. The association of termites and fungi. In: Krishna K, Weesner FM, eds. *Biology of termites*. New York: **Academic Press**. p.495–524, 1969.

SINGH, K.; MULJADI, B.P.; RAEINI, A.Q.; JOST, C.; VANDEGINSTE, V.; BLUNT, M.J.; THERAULAZ, G.; DEGOND, P. The architectural design of smart ventilation and drainage systems in termite nests. **Science Advances**, v.5, 2019.

STARKS, P.T.; BLACKIE, C.A.; SEELEY, T.D. Fever in honey bee colonies. **Naturwissenschaften**, v.87, p.229–231, 2000.

SUN, J.; FUXA, J.R.; HENDERSON, G. Sporulation of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* on *Coptotermes formosanus* in vivo and in vitro. **Journal Invertebrate Pathology**, v.81 p.78–85, 2002.

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. *Proceeding Academic Science*, p.6838–6842, 2002.



YANAGAWA, A.; SHIMIZU, S. Resistance of the termite, *Coptotermes formosanus Shiraki* to *Metarhizium anisopliae* due to grooming. **BioControl**, v.52, p.75–85, 2007.

YANAGAWA, A.; YOKOHARI, F.; SHIMIZU, S. Defense mechanism of the termite, *Coptotermes formosanus Shiraki*, to entomopathogenic fungi. **Journal Invertebrate Pathology**, v.97, p.165-170, 2008.

WILSON, E. O. The insect societies. Cambridge: **Harvard University Press**. 548p,1971.