



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE SISTEMÁTICA E ECOLOGIA

**PADRÃO DE CASTAS E OCORRÊNCIA DE UM FUNGO
ECTOPARASITA EM RHINOTERMITIDAE (INSECTA:
ISOPTERA)**

José Renato Chagas Barbosa

TESE DE DOUTORADO

João Pessoa,
2015

JOSÉ RENATO CHAGAS BARBOSA

**PADRÃO DE CASTAS E OCORRÊNCIA DE UM FUNGO
ECTOPARASITA EM RHINOTERMITIDAE (INSECTA:
ISOPTERA)**

Tese de doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Biológicas – Zoologia, da Universidade
Federal da Paraíba.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Vasconcellos

João Pessoa,
2015

B238p Barbosa, José Renato Chagas.
 Padrão de castas e ocorrência de um fungo ectoparasita
 em Rhinotermitidae (Insecta:Isoptera) / José Renato Chagas
 Barbosa.- João Pessoa, 2015.
 94f. : il.
 Orientador: Alexandre Vasconcellos
 Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN
 1. Zoologia. 2. Cupim subterrâneo. 3. Ontogenia.
 4. Polimorfismo. 5. Heterotermitinae. 6. Rhinotermitinae.

UFPB/BC

CDU: 59(043)

JOSÉ RENATO CHAGAS BARBOSA

**PADRÃO DE CASTAS E OCORRÊNCIA DE UM FUNGO
ECTOPARASITA EM RHINOTERMITIDAE (INSECTA:
ISOPTERA)**

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alexandre Vasconcellos (Orientador)
Departamento de Sistemática e Ecologia – Universidade Federal da Paraíba

Prof.^a Dr.^a Ana Maria Costa Leonardo
Departamento de Biologia - Universidade Estadual Paulista (UNESP – Rio Claro)

Prof. Dr. Ives Haifig
Instituto de Ciências Agrárias - Universidade Federal de Uberlândia

Prof.^a Dr.^a Flávia Maria da Silva Moura
Centro de Saúde e Tecnologia Rural - Universidade Federal de Campina Grande

Prof. Dr. Antônio José Creão-Duarte
Departamento de Sistemática e Ecologia – Universidade Federal da Paraíba

Aos meus pais

Luzia e Barbosa

e aos meus irmãos

Luciano, Alberto, Eduardo e Rayssa

AGRADECIMENTOS

À minha família. Aos meus pais por terem dedicado as suas vidas para os meus estudos. Aos meus irmãos e a minha irmãzinha Rayssa.

Ao Dr. Alexandre Vasconcellos por toda a orientação, dedicação e ensinamentos durante esses três anos e oito meses de convivência no doutorado e por ter sido um guia no início dos estudos de cupins, ainda na minha graduação.

À Debora Maia Rodovalho que me acompanha nessa caminhada da vida.

À minha prima Ana Maria de Lima Barbosa que foi uma mãe para mim aqui em João Pessoa.

À todos os amigos do Laboratório de Termitologia da UFPB.

À todos do PPGCB UFPB, amigos, colegas, funcionários, professores e coordenadores.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado e à coordenação do PPBCB/Zoologia-UFPB pelo financiamento das coletas.

À todos que contribuíram com esse trabalho.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Mapa das localidades onde foram coletadas as espécies *Heterotermes longiceps* (João Pessoa – Paraíba) e *Rhinotermes marginalis* (Ubajara – Ceará), na região Nordeste do Brasil..... 12
- Figura 2.** Tronco antes (A) e depois (B) do processo de busca de colônias de *Rhinotermes marginalis* em Ubajara – Ceará..... 13
- Figura 3.** Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 343 indivíduos ápteros de *Heterotermes longiceps* coletados em João Pessoa, PB. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1 e L2), operários (OP1 e OP2), pré-soldados (PS), soldados (S1 e S2)..... 20
- Figura 4.** Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Heterotermes longiceps* coletados em João Pessoa, PB. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das ninfas (N1-N4), alados macho (AM) e alados fêmea (AF)..... 22
- Figura 5.** Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 391 indivíduos de *Heterotermes longiceps* coletados em João Pessoa, PB. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1 e L2), operários (OP1 e OP2), pré-soldados (PS), soldados (S1 e S2), ninfas (N1-N4), alados macho (AM) e alados fêmea (AF)..... 24
- Figura 6.** Castas e ínstares de *Heterotermes longiceps* encontrados em seis colônias analisadas. Larva 1 (A), larva 2 (B), operário 1 (C), operário 2 (D), ninfa 1 (E), ninfa 2 (F), ninfa 3 (G), ninfa 4 (H), alado (I), pré-soldado (J), soldado menor (K) e soldado maior (L). Escala = 1 mm..... 25
- Figura 7.** Região final do esternito de soldado maior fêmea (A) e soldado menor macho (B) de *Heterotermes longiceps* corados com carmin clorídrico. Na fêmea, é possível observar os rudimentos dos ovidutos no esternito 7 (1), da espermateca no esternito 8 (2) e das glândulas coleteriais no esternito 9 (3). Já no macho está destacado o rudimento da vesícula seminal no esternito 9 (4)..... 26
- Figura 8.** Esquema da diferenciação de castas em *Heterotermes longiceps*. O: ovo, L1-L2: ínstares larvais, OP1: operário menor, OP2: operário maior, PS: pré-soldado, S1: soldado menor, S2: soldado maior, N1-N4: ínstares ninfais. M = machos e F = fêmeas. Possibilidade de ocorrência de ínstares ninfais iniciais não detectados nesse trabalho (?). Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação..... 27

- Figura 9.** Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 334 indivíduos ápteros de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1-L5), pré-soldados (PS1 e PS2), soldados (S1 e S2), operários (OP1 e OP2) e ergatoide (E)..... 31
- Figura 10.** Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas de três ínstares ninfais (N1-N3)..... 33
- Figura 11.** Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 385 indivíduos de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1-L5), pré-soldados (PS1 e PS2), soldados (S1 e S2), operários (OP1 e OP2), ergatóides (E) e ninfas (N1-N3)..... 35
- Figura 12.** Larvas de segundo ínstar de *Rhinotermes marginalis*. A seta indica o início da modificação do labro para a formação do labro “nasutóide” do soldado menor..... 35
- Figura 13.** Castas e ínstares de *Rhinotermes marginalis* encontrados em quatro colônias analisadas. Larva 1 (A), larva 2 (B), larva 3 (C), larva 4 (D), larva 5 (E), operário 1 (F), operário 2 (G), ergatóide (H), ninfa 1 (I), ninfa 2 (J), ninfa 3 (K), pré-soldado menor (L), soldado menor (M), pré-soldado maior (N), e soldado maior (O). Escala = 1 mm..... 36
- Figura 14.** Região final do esternito de operário maior (A) e de ergatóide (B) de *Rhinotermes marginalis* corados com carmin clorídrico. É possível observar os rudimentos dos ovidutos no esternito 7 (1), da espermateca no esternito 8 (2) e das glândulas coleteriais no esternito 9 (3). Os cupins com morfologia de ergatóides também aparentam possuir rudimentos..... 37
- Figura 15.** Esquema da diferenciação de castas em *Rhinotermes marginalis*. O: ovo, L1-L5: ínstares larvais, OP1: operário menor, OP2: operário maior, E: ergatóide, PS1: pré-soldado menor, S1: soldado menor, PS2: pré-soldado maior, S2: soldado maior, N1-N3: ínstares ninfais. M = machos e F = fêmeas. Possibilidade de ocorrência de ínstares ninfais finais não detectados nesse trabalho (?). Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação..... 38
- Figura 16.** Filogenia dos cupins baseada no genoma mitocondrial adaptado de Bourguignon *et al.* (2015). Famílias destacadas em negrito e gêneros da família Rhinotermitidae destacados em itálico..... 45
- Figura 17.** Esquema geral de diferenciação de castas na subfamília Rhinotermitinae. Ínstares na cor cinza não estão presentes em todas as espécies. O: ovo, L1-Ln: ínstares larvais, OP1-OPn: ínstares de operários, PE: pré-ergatóide, E: ergatóide, PS1-PS2: pré-soldados, S1-S2: soldados, N1-N5: ínstares ninfais, A: alado. M = machos e F = fêmeas. Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação..... 48

Figura 18. Esquema geral de diferenciação de castas na família Serritermitidae + *Termitogeton*, *Prorhinotermes* e *Psammotermes*. Ínstares na cor cinza não estão presentes em todas as espécies. O: ovo, L1-Ln: ínstares larvais, P1-Pn: ínstares de *pseudergates*, PS: pré-soldado, S: soldados, N: ninfa, A: alado. M = machos e F = fêmeas. Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação..... 51

Figura 19. Esquema geral de diferenciação de castas nas subfamílias Heterotermitinae + Coptotermitinae. O: ovo, L1-L2: ínstares larvais, OP1-OPn: ínstares de operários, PS: pré-soldado, S: soldado, N1-N6: ínstares ninfais, A: alado. M = machos e F = fêmeas. Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação..... 53

Figura 20. *Mattirolella silvestrii* encontrada aderida na cabeça (A, B e C), pronoto (D), perna (E) e abdome (F) da espécie de cupim *Rhinotermes marginalis*..... 72

Figura 21. Análise de componentes principais realizada a partir dos scores dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 61 soldados menores de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos scores com base em 11 variáveis morfométricas de soldados da colônia com o fungo *Mattirolella silvestrii* aderido em seu tegumento (S1a), sem fungo aderido (S1b) e de colônias sem a presença do fungo ectoparasita (S1c)..... 74

Figura 22. Análise de componentes principais realizada a partir dos scores dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 90 operários de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos scores com base em 11 variáveis morfométricas de operários da colônia com o fungo *Mattirolella silvestrii* aderido em seu tegumento (OPa), sem fungo aderido (OPb) e de operários de primeiro ínstar (OP1c) e de segundo ínstar (OP2c) de colônias sem a presença do fungo ectoparasita..... 76

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Castas, ínstaes e mês de coleta de colônias de *Heterotermes longiceps*, coletados em João Pessoa, Paraíba..... 18
- Tabela 2.** Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 343 indivíduos ápteros de *Heterotermes longiceps*..... 19
- Tabela 3.** Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Heterotermes longiceps*..... 21
- Tabela 4.** Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 391 indivíduos de *Heterotermes longiceps*..... 23
- Tabela 5.** Determinação do sexo de operários, pré-soldados e soldados de *H. longiceps*. Abdômens corados com carmin clorídrico para visualização dos rudimentos sexuais.. 26
- Tabela 6.** Castas, ínstaes e mês de coleta de colônias de *Rhinotermes marginalis*, coletados em Ubajara, Ceará..... 28
- Tabela 7.** Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 334 indivíduos ápteros de *Rhinotermes marginalis*..... 30
- Tabela 8.** Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Rhinotermes marginalis*..... 32
- Tabela 9.** Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 382 indivíduos da linhagem ninfal de *Rhinotermes marginalis*..... 34
- Tabela 10.** Prevalência de *Mattirolella silvestrii* em uma colônia de *Rhinotermes marginalis* coletada no Parque Nacional de Ubajara..... 71
- Tabela 11.** Média \pm desvio padrão das medidas de 61 soldados menores de *Rhinotermes marginalis* analisados. Valores em milímetros..... 74
- Tabela 12.** Média \pm desvio padrão das medidas de 90 operários de *Rhinotermes marginalis* analisados. Valores em milímetros..... 76

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	1
CAPÍTULO 1	3
RESUMO	3
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	6
OBJETIVOS	10
MATERIAL E MÉTODOS	11
<i>Descrição das áreas de coleta das duas espécies analisadas</i>	11
<i>Coleta das amostras</i>	12
<i>Análise Morfométrica</i>	14
<i>Determinação do sexo</i>	15
<i>Revisão dos padrões de castas conhecidos para Rhinotermitidae</i>	16
RESULTADOS	18
<i>Análise da espécie Heterotermes longiceps</i>	18
<i>Morfometria</i>	19
<i>Determinação do sexo</i>	26
<i>Análise da espécie Rhinotermes marginalis</i>	28
<i>Morfometria</i>	29
<i>Determinação do sexo</i>	37
DISCUSSÃO	39
<i>Análise do padrão de castas de Heterotermes longiceps</i>	39
<i>Análise do padrão de castas de Rhinotermes marginalis</i>	42

Revisão dos padrões de castas em Rhinotermitidae.....	45
REFERÊNCIAS.....	54
CAPÍTULO 2.....	62
RESUMO.....	62
ABSTRACT.....	64
INTRODUÇÃO.....	65
OBJETIVOS.....	67
MATERIAL E MÉTODOS.....	68
<i>Área de coleta.....</i>	68
<i>Descrição da população do parasita.....</i>	68
<i>Diferença da infecção entre castas.....</i>	69
<i>Diferença de tamanho entre os indivíduos.....</i>	70
RESULTADOS.....	71
DISCUSSÃO.....	77
REFERÊNCIAS.....	80
APÊNDICE.....	82

APRESENTAÇÃO

Os cupins apresentam indivíduos morfológicamente distintos, conhecidos como castas, que possuem tarefas específicas dentro da sua colônia. O estudo da ontogenia dessas castas gera padrões de desenvolvimento que são particulares para cada espécie. Esse tipo de estudo envolvendo cupins começou em 1883-84, quando os autores Grassi e Sandias ficaram bastante confusos ao tentar entender os caminhos do desenvolvimento das espécies *Kaloterme flavicollis* e *Reticulitermes lucifugus*. A partir disso, vários estudos foram feitos, principalmente para as famílias Kalotermitidae e Termitidae, que hoje possuem um padrão claro de desenvolvimento.

Trabalho de diferenciação de castas com espécies de Rhinotermitidae é um desafio dentro dos Isoptera. Primeiro por apresentar espécies de cupins subterrâneos, que possuem colônias difusas. É necessário coletar uma grande quantidade de indivíduos para que se tenha a maior quantidade possível de ínstaes/castas da espécie. O segundo desafio se refere à filogenia dessa família que ainda não está bem resolvida. O último trabalho de filogenia dos cupins sugere que essa família seja polifilética (Bourguignon *et al.*, 2015). Se essa hipótese for verdadeira, é possível que seja comum nessa família mais de um padrão de desenvolvimento de castas.

Diante disso, esse trabalho visa esclarecer os padrões de desenvolvimento de castas de duas espécies da família Rhinotermitidae, *Heterotermes longiceps* e *Rhinotermes marginalis*. Vários autores discutem sobre a relação próxima entre o padrão de castas de uma espécie e a sua posição filogenética. Será que para a família Rhinotermitidae os padrões das castas irão corroborar as posições filogenéticas dos indivíduos?

Para se elucidar o padrão de castas de *Rhinotermes marginalis* foram coletadas diversas colônias e uma delas apresentou o fungo ectoparasita *Mattirolella silvestrii*. Os

cupins apresentam uma variedade de fungos ectoparasitas especialistas que se aderem ou penetram seus exoesqueletos. Dessa forma, o segundo capítulo dessa tese irá mostrar como se dá o padrão de infestação de *M. silvestrii* em *R. marginalis*.

CAPÍTULO 1

Diferenciação de castas em *Heterotermes longiceps* (Snyder, 1924) e *Rhinotermes marginales* (Linnaeus, 1758) (Rhinotermitidae) e revisão dos padrões de castas em Rhinotermitidae

RESUMO

A família Rhinotermitidae possui um padrão de castas diverso, com espécies apresentando padrão semelhante ao encontrado nas famílias Kalotermitidae e Termitidae. Essa grande variação pode ocorrer por esse grupo ser polifilético. As espécies *Heterotermes longiceps* e *Rhinotermes marginalis* se encontram em subfamílias diferentes dentro de Rhinotermitidae. Portanto, será que os padrões dessas espécies corroboram o encontrado até aqui para as suas subfamílias? Para entender isso, os padrões de diferenciação de castas das espécies *H. longiceps* e *R. marginalis* foram investigados. Seis colônias de *H. longiceps* e quatro de *R. marginalis* foram coletadas, fixadas em FAA por 24 h e depois transferidas para álcool 80%. Os cupins foram separados por castas e ínstaes e mensurados. As 11 variáveis morfométricas foram submetidas a uma análise dos componentes principais (PCA) para inspecionar os dados na tentativa de agrupar os ínstaes em nuvens de indivíduos. A diferenciação do sexo das castas ápteras foi feita através do uso do corante carmin em espécimes dissecados. A PCA realizada para *H. longiceps* agrupou dois ínstaes de larvas, dois ínstaes de operários, pré-soldado, soldado menor, soldado maior, quatro ínstaes de ninfas e alado. A análise do sexo dos indivíduos de *H. longiceps* mostrou dimorfismo sexual apenas nos soldados. Já o PCA realizado para *R. marginalis* agrupou cinco ínstaes de larvas, dois ínstaes de pré-soldado, dois ínstaes de soldados, dois ínstaes de operários,

ergatóide e três instares de ninfas. Todos os indivíduos ápteros eram fêmeas. As duas espécies analisadas apresentaram apenas operários verdadeiros. O padrão de castas de *H. loniceps* é semelhante ao já descrito para Heterotermitinae e Coptotermitinae. Já a espécie *R. marginalis* apresentou um padrão já conhecido para Rhinotermitinae, que é um grupo monofilético. Não foram encontradas gônadas desenvolvidas nos indivíduos com morfologia de ergatóides.

Palavras-chave: Cupim subterrâneo, Ontogenia, Polimorfismo, Heterotermitinae, Rhinotermitinae.

ABSTRACT

Rhinotermitidae exhibits a diverse pattern of castes. Such variation may occur due to the polyphyletic aspect of this group. *Heterotermes longiceps* and *Rhinotermes marginalis* belong to different subfamilies within Rhinotermitidae. Considering the presented so far in literature, could be the castes patterns of these species similar to observed in their subfamilies? To address this question, caste differentiation patterns of *H. longiceps* and *R. marginalis* were investigated by morphometric data. Specimens from six colonies of *H. longiceps* and four *R. marginalis* were collected, fixed in FAA for 24 h and then transferred to 80% alcohol. Termites were separated by caste and instars and measured. Eleven morphometric variables were inspected by means of a principal components analysis (PCA). Sex differentiation of the apterous caste was carried using carmine dye in dissected specimens. PCA inspection of *H. longiceps* grouped two larvae instars, two worker instars, pre-soldier, minor soldier, major soldier, four instars of nymphs and alate. Sexual dimorphism in *H. longiceps* was achieved only by soldiers. PCA inspection for *R. marginalis* data grouped five larvae instar, two pre-soldier instars, two soldier instars, two worker instars, ergatoid and three instar of nymphs. All apterous were females. Only true workers were observed in each species analysed. *H. longiceps* caste pattern is similar to already described for Heterotermitinae and Coptotermitinae. *R. marginalis* showed a pattern already known to Rhinotermitinae, which is a monophyletic group. Developed gonads were not observed in specimens described as morphological ergatoids.

Key words: Subterranean termite, Ontogeny, Polymorphism, Heterotermitinae, Rhinotermitinae.

INTRODUÇÃO

Os térmitas apresentam vários tipos de indivíduos morfológicamente distintos, agrupados em castas, que apresentam divisão de tarefas e exercem diferentes funções biológicas constituindo, assim, sociedades altamente organizadas (Noirot, 1969). Os padrões de desenvolvimento de castas dos térmitas são diversos, variando entre famílias, gêneros e espécies (Miller, 1969; Noirot, 1969; Noirot & Pasteels, 1987; Roisin, 2000). Um dos principais motivos para essa variação é o desenvolvimento hemimetábolo, que permite muito mais plasticidade quando comparados com os holometábolos (Noirot & Pasteels, 1987). Segundo Oster & Wilson (1979), a diferenciação de castas é um fator-chave para o sucesso da organização colonial dos insetos eussociais.

Os padrões de formação de castas em térmitas podem ser divididos em dois tipos principais: linear e bifurcado (Noirot, 1969; Watson & Sewell, 1981). O tipo linear é mais primitivo e está presente em espécies que não possuem operários verdadeiros, encontrados nas famílias Kalotermitidae, Archotermopsidae e em alguns Rhinotermitidae (Roisin, 2000). Nesse caso, existe apenas uma linha de desenvolvimento com muita flexibilidade, a partir da qual surgem todos os tipos de indivíduos. No tipo bifurcado ocorre uma diferenciação clara entre a linha imaginal, que dá origem aos reprodutores, e a linha estéril, que dá origem aos operários e soldados (Roisin, 2000). As famílias mais bem estudadas com relação à formação de castas são Kalotermitidae (tipo linear) e Termitidae (tipo bifurcado).

A família Rhinotermitidae, caracterizada por agrupar a maioria dos térmitas subterrâneos, possui grandes colônias, com grande quantidade de indivíduos (Haifig *et al.*, 2008). O sistema de castas nessa família é notadamente diverso (Roisin & Lens,

1999). Em *Prorhinotermes simplex* (Miller, 1942) e em *P. inopnatus* o esquema encontrado se assemelha ao encontrado para a família Kalotermitidae (Roisin, 1988a; Roisin, 2000), sem a presença de operário verdadeiro, sendo esse um padrão conhecidamente primitivo (Roisin & Lens, 1999). Já as outras espécies de Rhinotermitidae estudadas apresentam uma divergência entre as linhagens ápteras e ninfal, o que caracteriza o padrão bifurcado. A família Rhinotermitidae é considerada um grupo chave para o entendimento da evolução da organização da sociedade dos cupins, já que inclui gêneros com padrões de castas notadamente distintos (Parmentier e Roisin, 2003).

As relações filogenéticas dentro de Rhinotermitidae não estão bem resolvidas. Baseado nas características das mandíbulas e de outras estruturas associadas, Emerson (1971) sugeriu que essa família fosse monofilética. Os resultados de Lo *et al.* (2004), que estudaram a filogenia da família baseado em três genes mitocondriais, entraram em conflito com muitas hipóteses intuitivas dentro de Rhinotermitidae, incluindo a de monofiletismo, sugerindo que essa família seria parafilética dentro de Isoptera. O parafiletismo de Rhinotermitidae foi corroborado posteriormente por outros trabalhos de filogenia de cupins (Inward *et al.*, 2007; Legendre *et al.*, 2008). Bourguignon *et al.* (2015) analisaram o genoma mitocondrial de 66 espécies de cupins, sendo doze incluídos em Rhinotermitidae (correspondendo a oito gêneros analisados, incluindo Serritermitidae) e verificou que essa família é polifilética.

Dessa forma, foi sugerida uma separação da família Rhinotermitidae em três clados (Bourguignon *et al.*, 2015): 1) **Rhinotermitidae**, que inclui apenas a subfamília Rhinotermitinae; 2) **Serritermitidae**, que além de ter os gêneros *Serritermes* e *Glossotermes* incluiria também os gêneros *Prorhinotermes*, *Termitogeton* e

Psammotermes e 3) **Heterotermitidae**, que inclui duas subfamílias de Rhinotermitidae: Heterotermitinae e Coptotermitinae.

Será, então, que os sistemas de diferenciação de castas das espécies corroboram as relações filogenéticas dentro de Rhinotermitidae? Para isso, os padrões já estudados para essa família irão ser analisados e serão incluídos dois novos padrões ainda não conhecidos das espécies *Heterotermes longiceps* e *Rhinotermes marginalis*.

O gênero *Heterotermes* possui 50 espécies, encontradas em regiões tropicais e sub-tropicais (Constantino, 2001), faz parte da subfamília Heterotermitinae e é bastante importante economicamente, possuindo várias espécies com *status* de praga (Constantino, 1998). São encontrados em ninhos difusos no solo, no inteiro de troncos, embaixo de pedras ou em ninhos de outras espécies de térmitas (Mathews, 1977). A espécie *Heterotermes longiceps* é encontrada no Brasil e na Argentina (Constantino, 1998), sendo comum na região Nordeste do Brasil (Bandeira *et al.*, 2003; Vasconcellos & Bandeira, 2005; Vasconcellos *et al.*, 2010; Vasconcellos, 2010). É conhecida por ser praga para a cultura de cana-de-açúcar (Pizano & Fontes, 1986). Possui uma posição mais derivada dentro da família Rhinotermitidae (Inward *et al.*, 2007).

Rhinotermes é um gênero menor com apenas quatro espécies conhecidas na região neotropical (Constantino, 1998), normalmente encontradas dentro de madeira úmida mais decomposta (Mathews, 1977). Esse gênero está incluído na subfamília Rhinotermitinae, conhecida por possuir a linhagem áptera constituída quase que exclusivamente por fêmeas e por essa linhagem ser reconhecível logo após a primeira muda (Renoux, 1976; Roisin 1988a; Roisin & Lens, 1999). *Rhinotermes marginalis* é encontrada no Brasil central (Mathews, 1977; Constantino, 1998), região amazônica (Constantino, 1991) e na região Nordeste do Brasil (Bandeira *et al.*, 2003). Essa espécie

é considerada praga estrutural secundária (Constantino, 2002), podendo causar dano em madeira de edificações.

OBJETIVOS

Geral

Descrever o padrão de castas das espécies de cupins neotropicais *Heterotermes longiceps* e *Rhinotermes marginalis* (Isoptera: Rhinotermitidae), verificando se os sistemas de diferenciação da família Rhinotermitidae corroboram os padrões filogenéticos descritos para essa família.

Específicos

- Diferenciar morfometricamente as castas e os ínstares das duas espécies;
- Determinar o sexo das castas ápteras (operários e soldados), buscando detectar ou não a existência de polimorfismo sexual;
- Verificar se as espécies apresentam operários verdadeiros ou *pseudergates*.
- Comparar os padrões de desenvolvimento das espécies estudadas com outras da família Rhinotermitidae.

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição das áreas de coleta das duas espécies analisadas

As colônias da espécie *Heterotemes longiceps* foram coletadas em um fragmento de Mata Atlântica, com cerca de 5,64 ha de área, vinculado ao Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba. Esse fragmento está localizado no município de João Pessoa (06°7'S, 34°45'W), a 43 m de altitude (Bezerra & Martins, 2001) (Figura 1). Originalmente, esse local fazia parte da Mata do Buraquinho, uma floresta com cerca de 600 ha (Alonso & Langguth, 1989; Carvalho, 1978), sendo considerada uma floresta megatérmica pluvial costeira do Nordeste do Brasil (Andrade-Lima & Rocha, 1971). O clima é quente e úmido, com temperatura média de 25°C, pluviosidade entre 1500 a 1700mm e umidade em torno de 80% (Santana *et al.*, 2008).

Já as colônias de *Rhinotermes marginalis* foram coletadas no Parque Nacional de Ubajara, localizado na Chapada de Ibiapina, na região noroeste do estado do Ceará (3°50'S, /40°55'W) (Figura 1). O Parque apresenta três formações distintas de vegetação: Floresta Subperenifólia Tropical Plúvio Nebular (mata úmida), Floresta Caducifólia Espinhosa (caatinga hipoxerófila) e uma vegetação de transição entre a mata úmida e a caatinga nas encostas e penhascos, denominada de Floresta Subcaducifólia Tropical Pluvial (mata seca) (Nascimento *et al.*, 2005; Iplance, 1989; Souza, 1989). A mata úmida apresenta um estrato herbáceo e arbustivo pouco representativos, ressaltando por sua vez o estrato arbóreo que pode chegar aos 20 m de altura. A temperatura em Ubajara varia entre 24 e 26°C, a pluviosidade 1483,5mm e a umidade acima dos 70% (Sousa Filho & Sales, 2009)

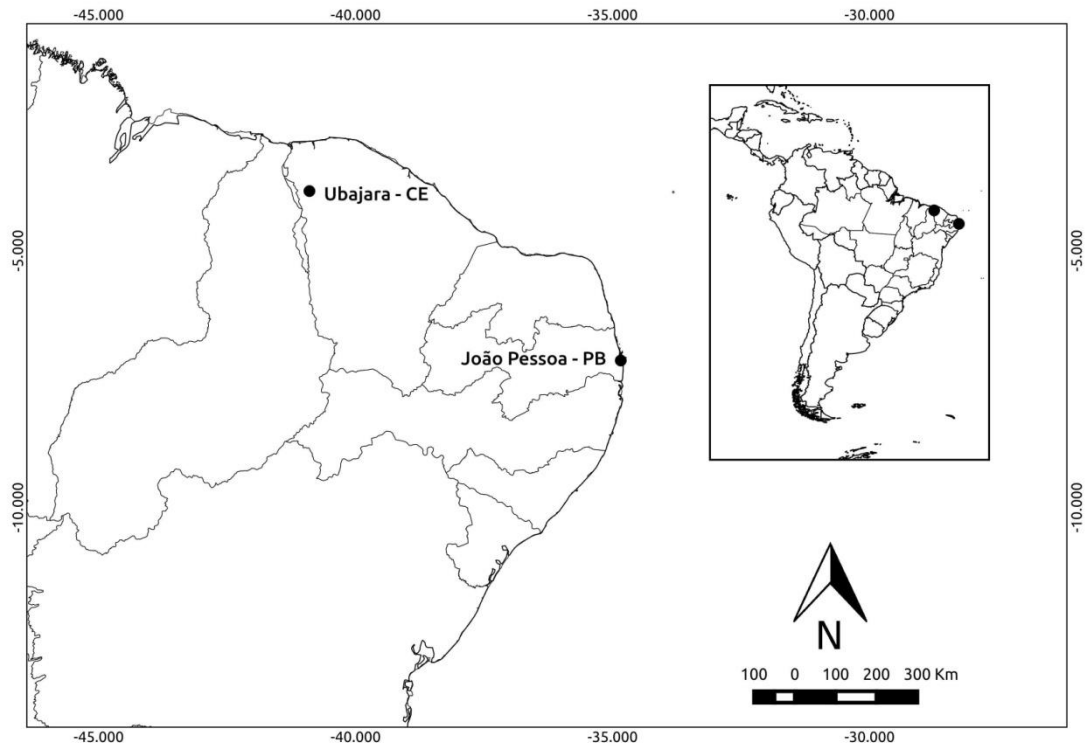


Figura 1. Mapa das localidades onde foram coletadas as espécies *Heterotermes longiceps* (João Pessoa – Paraíba) e *Rhinotermes marginalis* (Ubajara – Ceará), na região Nordeste do Brasil.

Coleta das amostras

A obtenção de cupins subterrâneos pode ser dar através da utilização de armadilhas (Costa-Leonardo, 2002), porém o uso dessa metodologia não resultou em colônias com grande quantidade de indivíduos. As coletas foram feitas através de busca ativa, principalmente em troncos caídos no chão (Figura 2). Foram coletadas seis colônias de *H. longiceps* entre 2012 e 2014 e oito de *R. marginalis* entre 2013 e 2014.



Figura 2. Tronco antes (A) e depois (B) do processo de busca de colônias de *Rhinotermes marginalis* em Ubajara – Ceará.

Após a coleta, os térmitas foram fixados em FAA (formol, álcool e ácido acético) e, posteriormente, transferidos para álcool 70%, onde estão preservados (Koshikawa *et al.*, 2002; Katoh *et al.*, 2007). Após esse processo, os térmitas são separados por castas, através da observação sob o estereomicroscópio. Subamostras de cada categoria foram aleatoriamente selecionadas para a realização dos estudos morfológicos, anatômicos e morfométricos. Todas as amostras foram armazenadas na coleção de cupins da Universidade Federal da Paraíba.

Análise Morfométrica

A análise morfométrica visa mensurar partes do corpo de várias castas, como realizado por Roisin & Pasteels (1986) e Koshikawa *et al.* (2002), avaliando os padrões de diferenciação das castas das espécies *H. longiceps* e *R. marginalis*.

Foram utilizadas 11 medidas, que podem discriminar morfologicamente as castas: 1) CC - comprimento da cabeça; 2) LC1 – largura máxima da cabeça; 3) LC2 – largura da cabeça à base das mandíbulas; 5) LL – largura do labro; 6) CP – comprimento do pronoto; 7) LP – largura do pronoto; 8) LMs – largura do mesonoto; 9) LMt – largura do metanoto; 10) CT – comprimento da tíbia; 11) CF – comprimento do fêmur e 12) LF – largura do fêmur. Todas essas medidas foram padronizadas de acordo com Roonwal (1970).

Os indivíduos foram inicialmente separados em morfotipos: larvas, operários, pré-soldados, ninfas, alados (quando encontrados). De cada casta ou ínstar foram mensurados 15 indivíduos por colônia analisada. Nos ínstars mais raros, o total de indivíduos mensurados ficou condicionado à disponibilidade desses indivíduos na colônia. As medidas foram realizadas sob estereomicroscópio, com a utilização de retículo micrométrico.

Para avaliar as mudanças dos parâmetros morfológicos durante a diferenciação das castas, foi realizada uma análise dos componentes principais (PCA), como utilizado em vários estudos realizados sobre o desenvolvimento das castas de térmitas (Roisin & Pasteels, 1986; Lelis & Everaerts, 1993; Koshikawa *et al.*, 2002). As análises foram feitas no software Statistica 10.0 (StatSoft, 2010). A diferença entre os grupos foi avaliada através de uma ANOVA (*one-way*), utilizando os *scores* dos primeiro componente principais da PCA. Além disso, foi realizado um Tukey *a posteriori* para se

entender quais grupos se diferenciavam entre si, sendo uma importante ferramenta para perceber diferenças em grupos sobrepostos na PCA.

Determinação do sexo

A determinação do sexo dos operários e dos soldados foi realizada através de técnica semelhante a descrita por Noirot (1955) e por Miura *et al.*, (1998). Os abdomens foram cortados no plano frontal e a metade dorsal do abdômen, o intestino e o cordão nervoso ventral (caso necessário) foram removidos.

Após dissecadas, as peças da região ventral do abdome foram desidratadas em álcool PA 95% durante cerca de 5 min, clarificadas em Xilol por mais 5 min e colocadas novamente em álcool por mais 5 min, como já utilizado por Moura *et al.* (2010). Foi utilizado o corante Carmin clorídrico, que tem apresentado bons resultados na visualização das gônadas de cupins. As peças foram mantidas no corante por 60 min e posteriormente colocados em álcool clorídrico (0,5% HCl em 80% de etanol) até o aparato genital ficar distinguível, permitindo a determinação de sexo. O tempo de permanência no álcool clorídrico era variável (1 a 3 minutos, dependendo da peça).

Nas castas ápteras, a diferenciação de macho e fêmea se deu através da observação dos rudimentos sexuais. Nas fêmeas, foi observado o rudimento dos ovidutos no esternito 7, da espermateca no esternito 8 e das glândulas coleteriais no esternito 9. Já nos machos, foram observados rudimentos da vesícula seminal no esternito 9. A verificação do sexo das ninfas e dos alados foi realizada através da observação do sétimo esternito abdominal, que é expandido apenas na fêmea (Weesner, 1969).

Revisão dos padrões de castas conhecidos para Rhinotermitidae

Para realizar a revisão dos padrões de castas de Rhinotermitidae, foram encontrados os seguintes trabalhos separados por gêneros:

1. Subfamília Rhinotermitinae:

- *Schedorhinotermes*: Renoux (1976).

- *Parrhinotermes*: Roisin (1988b).

- *Rhinotermes*: Incluído nessa tese.

Nada foi encontrado para o gênero *Acorhinotermes*. Apesar de não ter o padrão de castas estudado, foi analisado um estudo com reprodutores secundários ergatóides do gênero *Dolichorhinotermes* (Darlington *et al.*, 1992).

2) *Prorhinotermes*, *Termitogeton* e *Psammotermes* + família Serritermitidae

- *Prorhinotermes*: Miller (1942), Roisin (1988a).

- *Termitogeton*: Parmentier & Roisin (2003).

- *Glossotermes*: Bourguignon *et al.* (2009).

- *Psammotermes*: Bourguignon *et al.* (2012).

- *Serritermes*: Barbosa (2012).

3) Subfamílias Heterotermitinae e Coptotermitinae

- *Reticulitermes*: Hare (1934), Takematsu (1992), Lainé & Wright (2003)

- *Coptotermes*: Roy-Noël (1968), Pajni & Arora (1990), Roisin & Lenz (1999).

- *Heterotermes*: Incluído nessa tese.

Não foram encontrados trabalhos com castas para espécies do gênero *Tsaitermes*.

Foram utilizados trabalhos de revisão que incluíram a família Rhinotermitidae, como Miller (1969) e Roisin (2000). Os padrões de castas encontrados em todos os trabalhos analisados serão comparados com a análise filogenética realizada por Bourguignon *et al.* (2015). Será que os padrões de castas corroboram os padrões filogenéticos em Rhinotermitidae? Por se tratar de um trabalho de revisão, a análise dos artigos estará incluída na discussão desse trabalho.

RESULTADOS

Análise da espécie *Heterotermes longiceps*

Todas as colônias de *H. longiceps* foram encontradas em troncos de árvores caídos no chão, em um estágio de decomposição inicial, sendo os cupins mais abundantes na região periférica do tronco. As colônias 2 e 5 não apresentaram ínstares ninfais (Tabela 1). Não foram encontrados reprodutores primários de *H. longiceps*.

Tabela 1. Castas, ínstares e mês de coleta de colônias de *Heterotermes longiceps*, coletados em João Pessoa, Paraíba.

Castas/ Ínstares	Colônias					
	1	2	3	4	5	6
Larva 1	X	X	X			
Larva 2	X	X	X	X	X	
Pré-soldado	X		X	X	X	X
Soldado maior	X	X	X	X	X	X
Soldado menor	X	X	X	X	X	X
Operário maior	X	X	X	X	X	
Operário menor	X	X	X	X	X	X
Ninfa 1	X					X
Ninfa 2						X
Ninfa 3				X		X
Ninfa 4	X		X			X
Alados			X			
Mês de coleta	nov/12	jan/13	fev/13	fev/13	mai/14	ago/14

Morfometria

Foi realizada uma análise dos componentes principais (PCA) com as medidas de 343 indivíduos da linhagem áptera de *H. longiceps*. Os dois primeiros componentes principais apresentaram 95,85% de explicação da variância dos dados, sendo 79,71% no primeiro e 16,14% no segundo componente (Tabela 2). As variáveis mais importantes para a variância dos indivíduos no primeiro componente principal (CP1) foram largura do pronoto (LP) e comprimento do fêmur (CF) e para o segundo componente principal (CP2) foram largura do labro (LL) e comprimento da cabeça (CC).

Tabela 2. Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 343 indivíduos ápteros de *Heterotermes longiceps*.

	Componentes Principais	
	1	2
Autovalor	8,76	1,77
Variância total %	79,71	16,14
Variância cumulativa %	79,71	95,85
Largura Máxima da Cabeça (LM1)	-0,920	0,305
Comprimento da Cabeça (CC)	-0,841	-0,512
Largura Máxima na Base das Mandíbulas (LC2)	-0,946	0,092
Largura do Labro (LL)	-0,296	0,930
Comprimento do Pronoto (CP)	-0,959	-0,253
Largura do Pronoto (LP)	-0,986	-0,107
Largura do Mesonoto (LMs)	-0,929	0,313
Largura do Metanoto (LMt)	-0,865	0,465
Comprimento da Tíbia (CT)	-0,969	-0,090
Comprimento do Fêmur (CF)	-0,972	-0,146
Largura do Fêmur (LF)	-0,918	-0,357

A partir da projeção dos *scores* dos dois primeiros componentes principais, verificou-se a separação de dois ínstares de larvais (L1 e L2), operário menor (OP1) e operário maior (OP2), pré-soldado (PS), soldado menor (S1) e soldado maior (S2) (Figura 3).

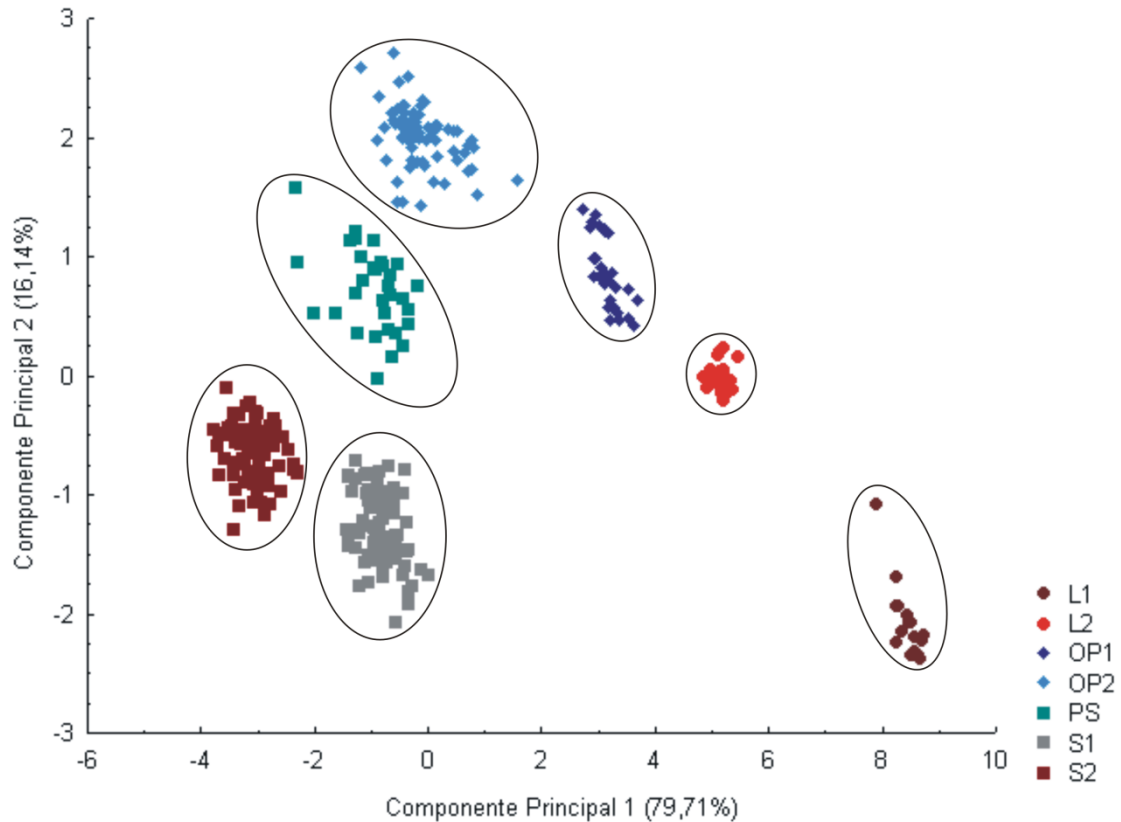


Figura 3. Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 343 indivíduos ápteros de *Heterotermes longiceps* coletados em João Pessoa, PB. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1 e L2), operários (OP1 e OP2), pré-soldados (PS), soldados (S1 e S2).

A ANOVA mostrou diferença morfométrica significativa entre as castas da linhagem áptera ($F_{(6,336)} = 3692,6$; $p < 0,05$). A realização do Tukey não encontrou diferença significativa entre pré-soldado (PS) e soldado menor (OP1) (Tukey, $p = 0,48$). Todas os outros ínstares diferiram entre si (Tukey, $p < 0,05$).

Com relação à linhagem ninfal foram encontrados 48 indivíduos e todos foram submetidos ao PCA, que apresentou um total de 89,04% de explicação da variância, sendo 74,80% na CP1 e 14,24% na CP2 (Tabela 3). Na CP1 as variáveis mais importantes foram largura do pronoto (LP) e largura máxima da cabeça (LM1) enquanto que na CP2 largura do mesanoto (LMs) e largura do metanoto (LMt) apresentaram as maiores cargas sobre os fatores.

Tabela 3. Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Heterotermes longiceps*.

	Componentes Principais	
	1	2
Autovalor	8,22	1,56
Variância total %	74,80	14,24
Variância cumulativa %	74,80	89,04
Largura Máxima da Cabeça (LM1)	-0,981	0,006
Comprimento da Cabeça (CC)	-0,971	-0,136
Largura Máxima na Base das Mandíbulas (LC2)	-0,732	-0,517
Largura do Labro (LL)	-0,618	-0,116
Comprimento do Pronoto (CP)	-0,980	-0,060
Largura do Pronoto (LP)	-0,989	0,090
Largura do Mesonoto (LMs)	-0,667	0,738
Largura do Metanoto (LMt)	-0,574	0,800
Comprimento da Tíbia (CT)	-0,946	-0,175
Comprimento do Fêmur (CF)	-0,962	-0,192
Largura do Fêmur (LF)	-0,935	-0,059

A partir da projeção dos *scores* dos dois primeiros componentes principais, verificou-se a separação das ninfas em quatro instares (N1-N4), alado macho (AM) e fêmea (AF) (Figura 4). A ANOVA mostrou diferença significativa entre os instares da linhagem ninfal ($F_{(5,42)} = 360,55$; $p < 0,05$). O instar N4 se mostrou bastante espalhado no PCA, o que poderia sugerir que fosse formado por mais de um instar ninfal. Foi realizada separadamente uma análise dividindo esses indivíduos em dois grupos (N4 e N5), porém o Tukey não mostrou diferença significativa entre eles (Tukey, $p = 0,19$). Dessa forma, todos os indivíduos dessa faixa de tamanho foram considerados ninfa 4 (N4). O teste de Tukey mostrou diferenças significativas entre todos os grupos da linhagem ninfal de *H. longiceps* (Tukey, $p < 0,05$), exceto a ninfa 4 (N4) e alado fêmea (AF) (Tukey, $p = 0,55$). Os instares ninfais foram classificados de N1 a N4 por terem sido encontrados quatro instares no total. Porém, os instares iniciais não foram

encontrados, o que significa que N1, N2, N3 e N4 não representam, respectivamente, o primeiro, segundo, terceiro e quarto ínstaes ninfais.

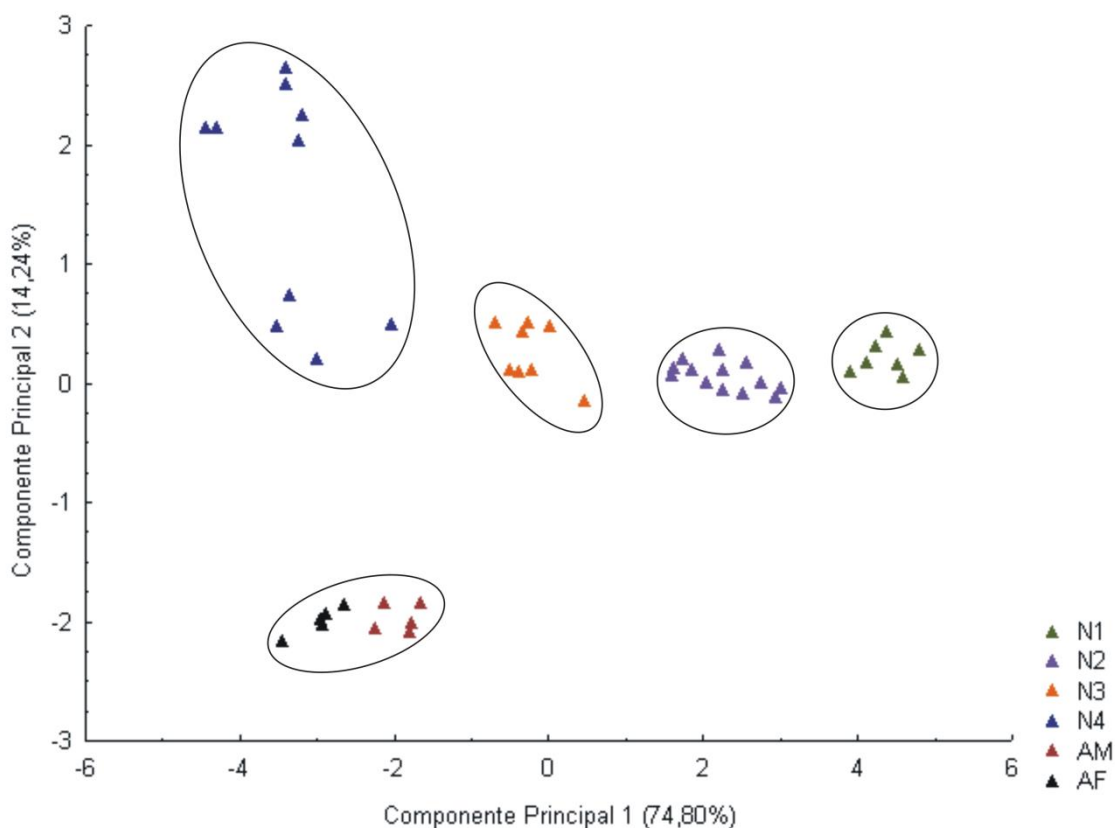


Figura 4. Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Heterotermes longiceps* coletados em João Pessoa, PB. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das ninfas (N1-N4), alados macho (AM) e alados fêmea (AF).

Foi realizado um PCA incluindo todos os indivíduos de *H. longiceps* mensurados. Foram incluídos nessa análise 391 indivíduos das linhagens áptera e ninfal. A PCA incluindo todos os indivíduos apresentou 72,16% de variância para o CP1 e 18,33% de variância para o CP2, totalizando 90,49% de explicação da variância dos indivíduos (Tabela 4). As variáveis mais importantes para a variância dos indivíduos no (CP1) foram largura do pronoto (LP) e comprimento do fêmur (CF) e para o segundo componente principal (CP2) foram largura do labro (LL) e largura do metanoto (LMt).

Tabela 4. Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 391 indivíduos de *Heterotermes longiceps*.

	Componentes Principais	
	1	2
Autovalor	7,93	2,01
Variância total %	72,16	18,33
Variância cumulativa %	72,16	90,49
Largura Máxima da Cabeça (LM1)	-0,897	-0,165
Comprimento da Cabeça (CC)	-0,776	0,592
Largura Máxima na Base das Mandíbulas (LC2)	-0,919	0,010
Largura do Labro (LL)	-0,280	-0,851
Comprimento do Pronoto (CP)	-0,966	0,163
Largura do Pronoto (LP)	-0,988	0,042
Largura do Mesonoto (LMs)	-0,691	-0,576
Largura do Metanoto (LMt)	-0,716	-0,626
Comprimento da Tíbia (CT)	-0,965	0,085
Comprimento do Fêmur (CF)	-0,969	0,157
Largura do Fêmur (LF)	-0,914	0,361

A partir da projeção dos *scores* do primeiro e segundo componente principal foi possível a separação de todos os indivíduos medidos em 12 instares: larva 1, larva 2, operário 1, operário 2, pré-soldado, soldado menor, soldado maior, ninfa 1, ninfa 2, ninfa 3, ninfa 4 e alado (Figura 5). Todos os indivíduos de *H. longiceps* foram fotografados e podem ser observados na figura 6.

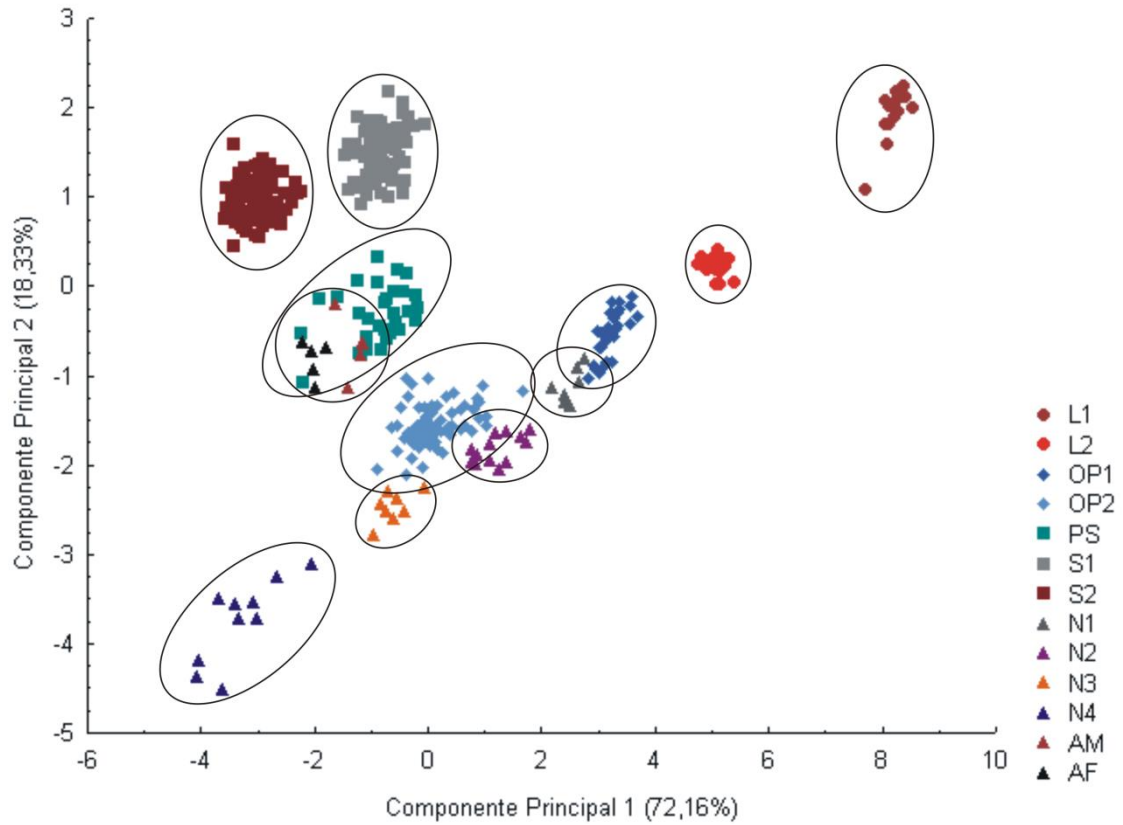


Figura 5. Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 391 indivíduos de *Heterotermes longiceps* coletados em João Pessoa, PB. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1 e L2), operários (OP1 e OP2), pré-soldados (PS), soldados (S1 e S2), ninfas (N1-N4), alados macho (AM) e alados fêmea (AF).

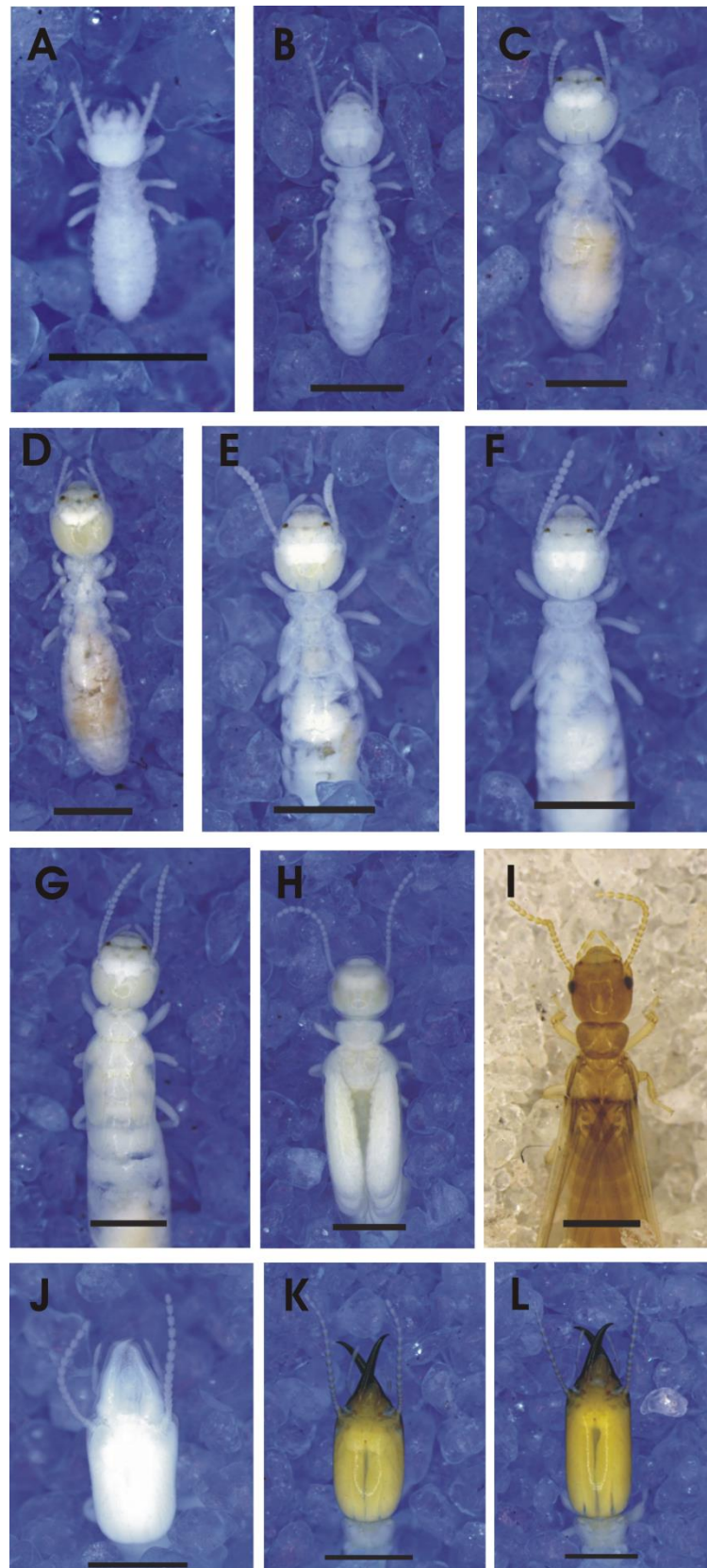


Figura 6. Castas e ínstares de *Heterotermes longiceps* encontrados em seis colônias analisadas. Larva 1 (A), larva 2 (B), operário 1 (C), operário 2 (D), ninfa 1 (E), ninfa 2 (F), ninfa 3 (G), ninfa 4 (H), alado (I), pré-soldado (J), soldado menor (K) e soldado maior (L). Escala = 1 mm.

Determinação do sexo

Foram corados 90 abdomens de cupins da espécie *H. longiceps*, todos da linhagem áptera: soldado menor (n=30), soldado maior (n=30), pré-soldado (n=7), operário menor (n=10) e operário maior (n=13) (Tabela 5). Os resultados apontam para um claro dimorfismo sexual dos soldados (Figura 7), apesar de apresentar apenas um ínstar de pré-soldado.

Tabela 5. Determinação do sexo de operários, pré-soldados e soldados de *H. longiceps*. Abdomens corados com carmin clorídrico para visualização dos rudimentos sexuais.

Casta	Sexo	
	Macho	Fêmea
Operário menor (OP1)	4	6
Operário maior (OP2)	6	7
Pré-soldado (PS)	4	3
Soldado menor (S1)	30	0
Soldado maior (S2)	0	30
Total	44	46
	90	

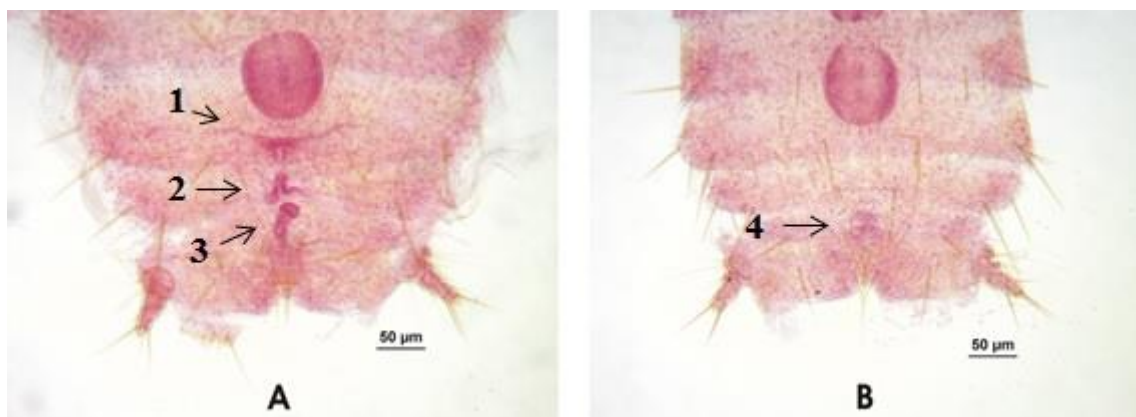


Figura 7. Região final do esternito de soldado maior fêmea (A) e soldado menor macho (B) de *Heterotermes longiceps* corados com carmin clorídrico. Na fêmea, é possível observar os rudimentos dos ovidutos no esternito 7 (1), da espermateca no esternito 8 (2) e das glândulas coleteriais no esternito 9 (3). Já no macho está destacado o rudimento da vesícula seminal no esternito 9 (4).

Diante das análises morfométricas e da determinação sexual das castas ápteras, foi possível estabelecer o possível padrão de desenvolvimento da espécie *H. longiceps* (Figura 8):

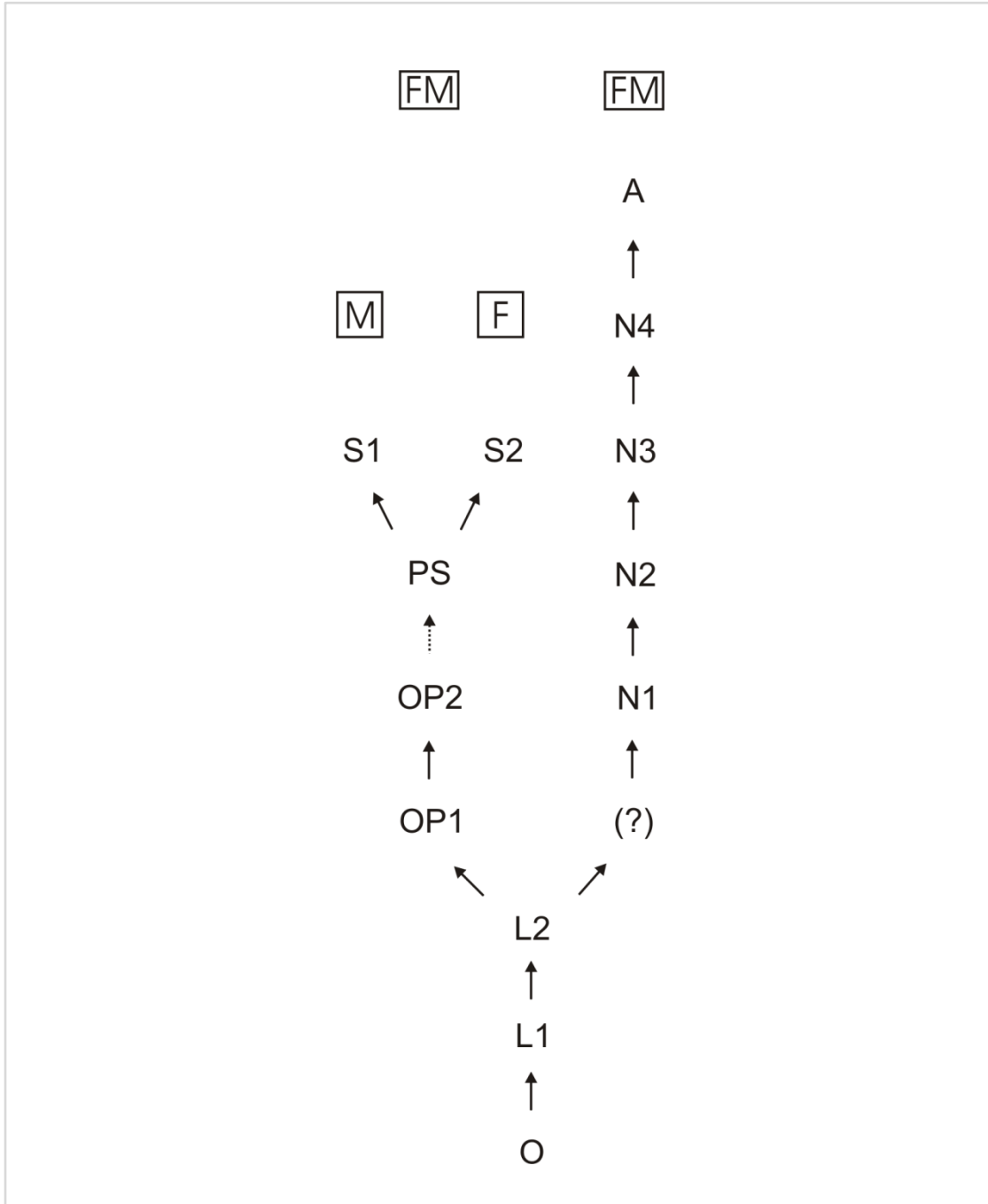


Figura 8. Esquema da diferenciação de castas em *Heterotermes longiceps*. O: ovo, L1-L2: ínstaes larvais, OP1: operário menor, OP2: operário maior, PS: pré-soldado, S1: soldado menor, S2: soldado maior, N1-N4: ínstaes ninfais. M = machos e F = fêmeas. Possibilidade de ocorrência de ínstaes ninfais iniciais não detectados nesse trabalho (?). Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação.

Análise da espécie *Rhinotermes marginalis*

As colônias de *R. marginalis* também foram encontradas em troncos em contato com o solo, porém em madeira mais decomposta. Em apenas duas dessas colônias foram encontrados ínstares larvais e ninfais, o que sugere que as outras seis colônias coletadas eram de forrageiros (estavam no tronco realizando coleta de recursos alimentares) (Tabela 6). As colônias de forrageiros se encontravam espalhadas no tronco, porém eram mais abundantes na região periférica, assim como a espécie *H. longiceps*. Já as colônias 4 e 5 apresentaram um grande número de indivíduos e se encontravam principalmente na região interna do tronco.

Tabela 6. Castas, ínstares e mês de coleta de colônias de *Rhinotermes marginalis*, coletados em Ubajara, Ceará.

Castas/ Ínstares	Colônias			
	1	2	4	5
Larva 1			X	X
Larva 2			X	X
Larva 3			X	X
Larva 4			X	X
Larva 5			X	X
Pré-soldado maior			X	X
Pré-soldado menor			X	X
Soldado maior	X		X	X
Soldado menor	X		X	X
Operário	X		X	X
Ninfa 1			X	X
Ninfa 2			X	
Ninfa 3			X	X
Ergatóide	X	X		X
Mês de coleta	dez/13	dez/13	abr/14	out/14

Apesar de terem sido realizadas campanhas em meses diferente, apenas três ínstares ninfais foram encontrados. Não foram encontrados alados em nenhuma das

colônias analisadas. As coletas realizadas em abril e em outubro de 2014 apresentaram os mesmos ínstares de ninfas, aparentemente ínstares iniciais de desenvolvimento.

Das oito colônias coletadas, apenas cinco foram analisadas nesse trabalho. As três colônias não analisadas eram de forrageiros e não apresentavam quantidades significativas de larvas ou ninfas. Não foram encontrados reprodutores primários de *R. marginalis*.

Os cupins da colônia 3 estavam infectados com o fungo ectoparasita *Mattirolella silvestrii* e a investigação da ação do fungo na colônia de *R. marginalis* faz parte do capítulo 2 dessa tese. A colônia 2 foi utilizada para reforçar o número de ergatóides encontrados, já que eles foram mais raros nas outras colônias.

Morfometria

Para a realização da análise dos componentes principais (PCA) das castas ápteras da espécie *Rhinotermes marginalis* foram mensurados 334 indivíduos. Os dois primeiros componentes principais apresentaram 98,16% de explicação da variância dos indivíduos, sendo 91,95% no CP1 e 6,21% no CP2 (Tabela 7). As variáveis largura do mesonoto (LMs) e largura do pronoto (LP) foram as que mais influenciaram o CP1, enquanto que largura do labro (LL) e largura máxima na base das mandíbulas (LC2) foram mais importantes para a CP2.

Tabela 7. Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 334 indivíduos ápteros de *Rhinotermes marginalis*.

	Componentes Principais	
	1	2
Autovalor	10,11	0,68
Variância total %	91,95	6,21
Variância cumulativa %	91,93	98,16
Largura Máxima da Cabeça (LM1)	-0,961	0,239
Comprimento da Cabeça (CC)	-0,955	-0,227
Largura Máxima na Base das Mandíbulas (LC2)	-0,934	0,342
Largura do Labro (LL)	-0,845	0,517
Comprimento do Pronoto (CP)	-0,945	-0,317
Largura do Pronoto (LP)	-0,990	-0,078
Largura do Mesonoto (LMs)	-0,992	-0,062
Largura do Metanoto (LMt)	-0,983	0,109
Comprimento da Tíbia (CT)	-0,977	-0,126
Comprimento do Fêmur (CF)	-0,981	-0,160
Largura do Fêmur (LF)	-0,975	-0,163

A projeção dos *scores* do primeiro e segundo componente principal demonstrou a separação dos ápteros em vários ínstares larvais (L1-L5), além de pré-soldados (PS1-PS2), soldados (S1-S2), operários (OP1-OP2) e ergatóide (E) (Figura 9).

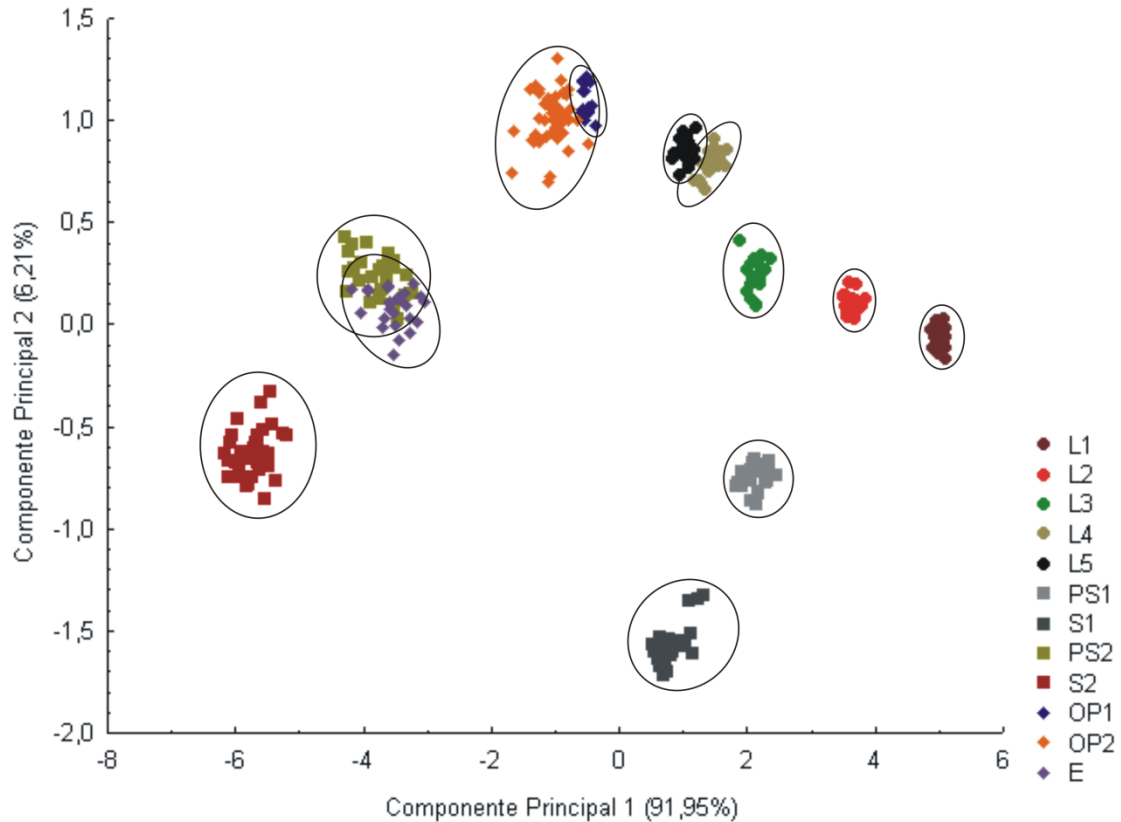


Figura 9. Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 334 indivíduos ápteros de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1-L5), pré-soldados (PS1 e PS2), soldados (S1 e S2), operários (OP1 e OP2) e ergatoide (E).

Foi observada uma diferença morfométrica significativa entre as castas da linhagem áptera ($F_{(11,322)} = 7963,2$; $p < 0,05$). O Tukey realizado *a posteriori* não separou todos os instares larvais entre si (Tukey, $p < 0,05$). Os outros indivíduos da linhagem áptera também se diferenciaram entre si, exceto larva 3 (L3) e pré-soldado menor (PS1) (Tukey, $p = 1$).

Foram encontrados 48 indivíduos incluídos na linhagem ninfal da espécie *R. marginalis*. O PCA das ninfas dessa espécie apresentou uma alta explicação na primeira componente principal (CP1), chegando a 98,22%, enquanto que a CP2 explicou apenas 0,56% da variação dos dados, totalizando 98,78% da variância acumulada (Tabela 8). As variáveis mais importantes para a variância dos indivíduos no CP1 foram

comprimento da tibia (CT) e largura do mesonoto (LMs) e para o CP2 foram largura do labro (LL) e largura do fêmur (LF).

Tabela 8. Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Rhinotermes marginalis*.

	Componentes Principais	
	1	2
Autovalor	10,80	0,06
Variância total %	98,22	0,56
Variância cumulativa %	98,22	98,78
Largura Máxima da Cabeça (LM1)	-0,993	-0,016
Comprimento da Cabeça (CC)	-0,989	0,007
Largura Máxima na Base das Mandíbulas (LC2)	-0,989	-0,034
Largura do Labro (LL)	-0,979	-0,162
Comprimento do Pronoto (CP)	-0,986	0,138
Largura do Pronoto (LP)	-0,996	0,001
Largura do Mesonoto (LMs)	-0,997	0,048
Largura do Metanoto (LMt)	-0,996	0,050
Comprimento da Tibia (CT)	-0,998	0,024
Comprimento do Fêmur (CF)	-0,996	0,035
Largura do Fêmur (LF)	-0,982	-0,094

A projeção dos *scores* do primeiro e segundo componente principal demonstrou a separação dos ápteros em três instares ninfais (N1-N3) (Figura 10). Foi verificada diferença morfométrica significativa entre todos os instares ninfais ($F_{(2,45)} = 1879,8$; $p < 0,05$) e todos os instares se diferiram entre si (Tukey, $p < 0,05$).

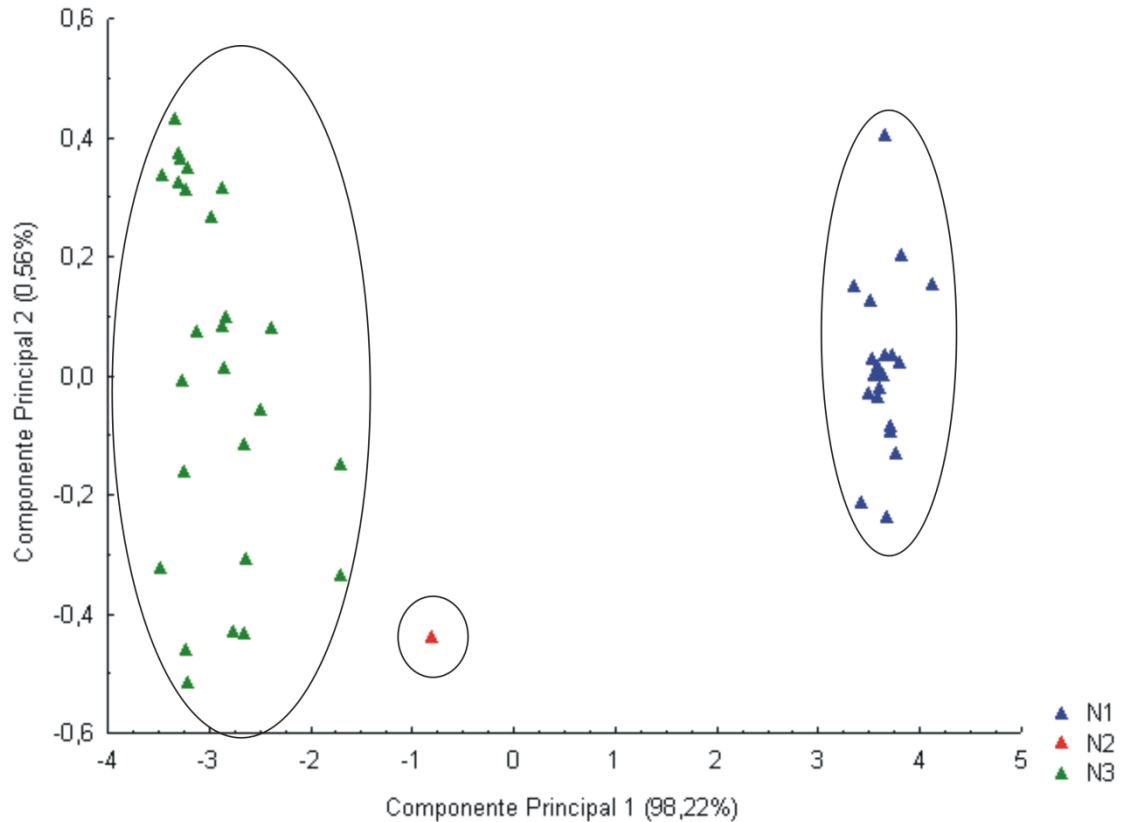


Figura 10. Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 48 indivíduos da linhagem ninfal de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas de três ínstares ninfais (N1-N3).

Foi realizada uma PCA incluindo todos os indivíduos mensurados de *R. marginalis* (n = 382). Os dois primeiros componentes principais apresentaram 96,33% de explicação da variância dos dados, sendo 90,51% no primeiro e 5,81% no segundo componente (Tabela 9). As variáveis mais importantes para a variância dos indivíduos no CP1 foram largura do pronoto (LP) e comprimento do fêmur (CF) e para o CP2 foram largura do labro (LL) e largura máxima na base das mandíbulas (LC2).

Tabela 9. Autovalores, variância (total e cumulativa) e pontuação dos fatores de cada variável dos dois primeiros componentes principais (PCA), a partir de 382 indivíduos da linhagem ninfal de *Rhinotermes marginalis*.

	Componentes Principais	
	1	2
Autovalor	9,95	0,64
Variância total %	90,52	5,81
Variância cumulativa %	90,52	96,33
Largura Máxima da Cabeça (LM1)	-0,958	-0,246
Comprimento da Cabeça (CC)	-0,942	0,150
Largura Máxima na Base das Mandíbulas (LC2)	-0,934	-0,342
Largura do Labro (LL)	-0,852	-0,508
Comprimento do Pronoto (CP)	-0,945	0,318
Largura do Pronoto (LP)	-0,987	0,094
Largura do Mesonoto (LMs)	-0,949	0,130
Largura do Metanoto (LMt)	-0,961	-0,048
Comprimento da Tíbia (CT)	-0,975	0,093
Comprimento do Fêmur (CF)	-0,980	0,129
Largura do Fêmur (LF)	-0,975	0,164

A partir da projeção dos *scores* do primeiro e segundo componente principal foi possível a separação de todos os indivíduos medidos em 15 instares: larva 1, larva 2, larva 3, larva 4, larva 5, pré-soldado menor, pré-soldado maior, soldado menor, soldado maior, operário menor, operário maior, ergatóide, ninfa 1, ninfa 2 e ninfa 3 (Figura 11).

Foram observados indivíduos se diferenciando de larva para pré-soldado menor. Nesses indivíduos, percebe-se claramente a mudança do labro da larva de segundo instar (L2) para a formação do labro “nasutóide” do soldado menor de *R. marginalis* (Figura 12). Todos os indivíduos de *H. longiceps* foram fotografados e podem ser observados na figura 13.

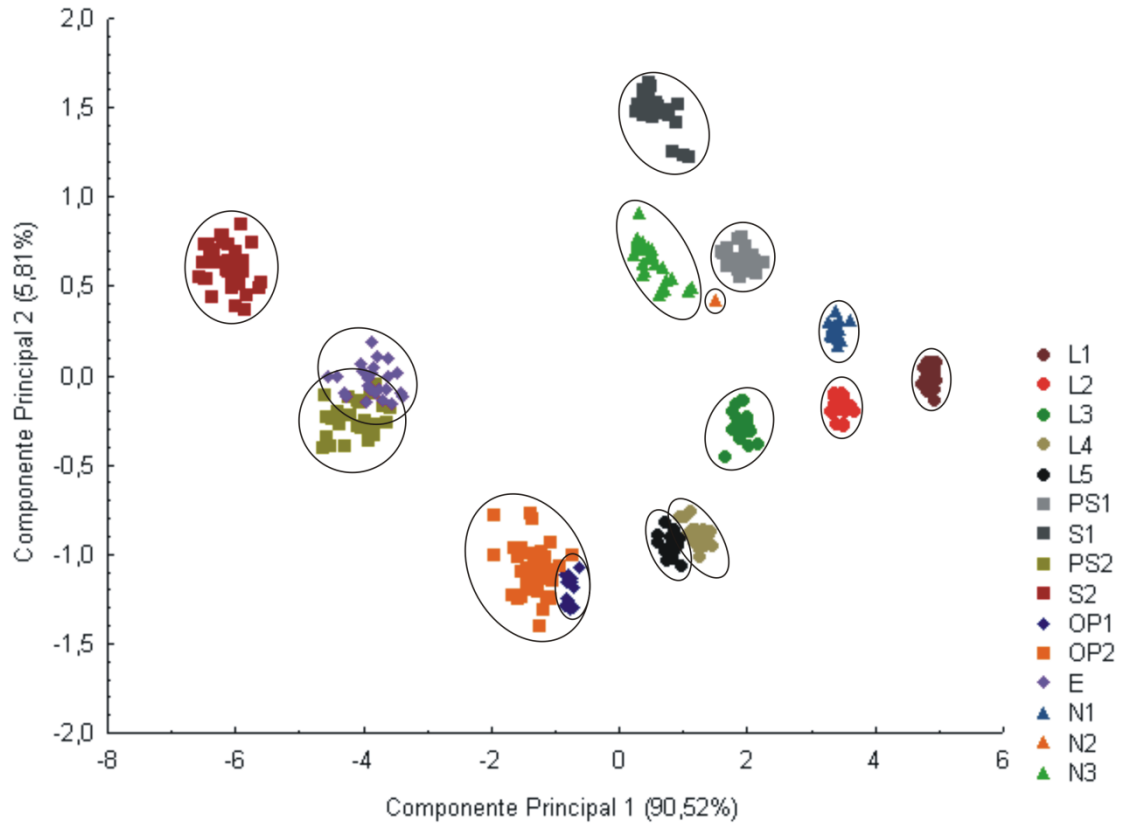


Figura 11. Análise de componentes principais realizada a partir dos *scores* dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 385 indivíduos de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos *scores* com base em 11 variáveis morfométricas das larvas (L1-L5), pré-soldados (PS1 e PS2), soldados (S1 e S2), operários (OP1 e OP2), ergatóides (E) e ninfas (N1-N3).

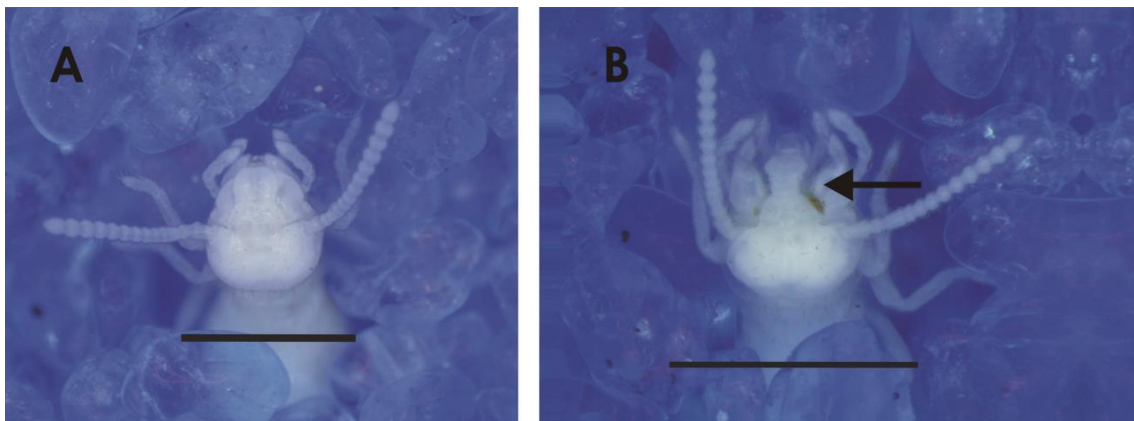


Figura 12. Larvas de segundo ínstar de *Rhinotermes marginalis*. A seta indica o início da modificação do labro para a formação do labro “nasutóide” do soldado menor.

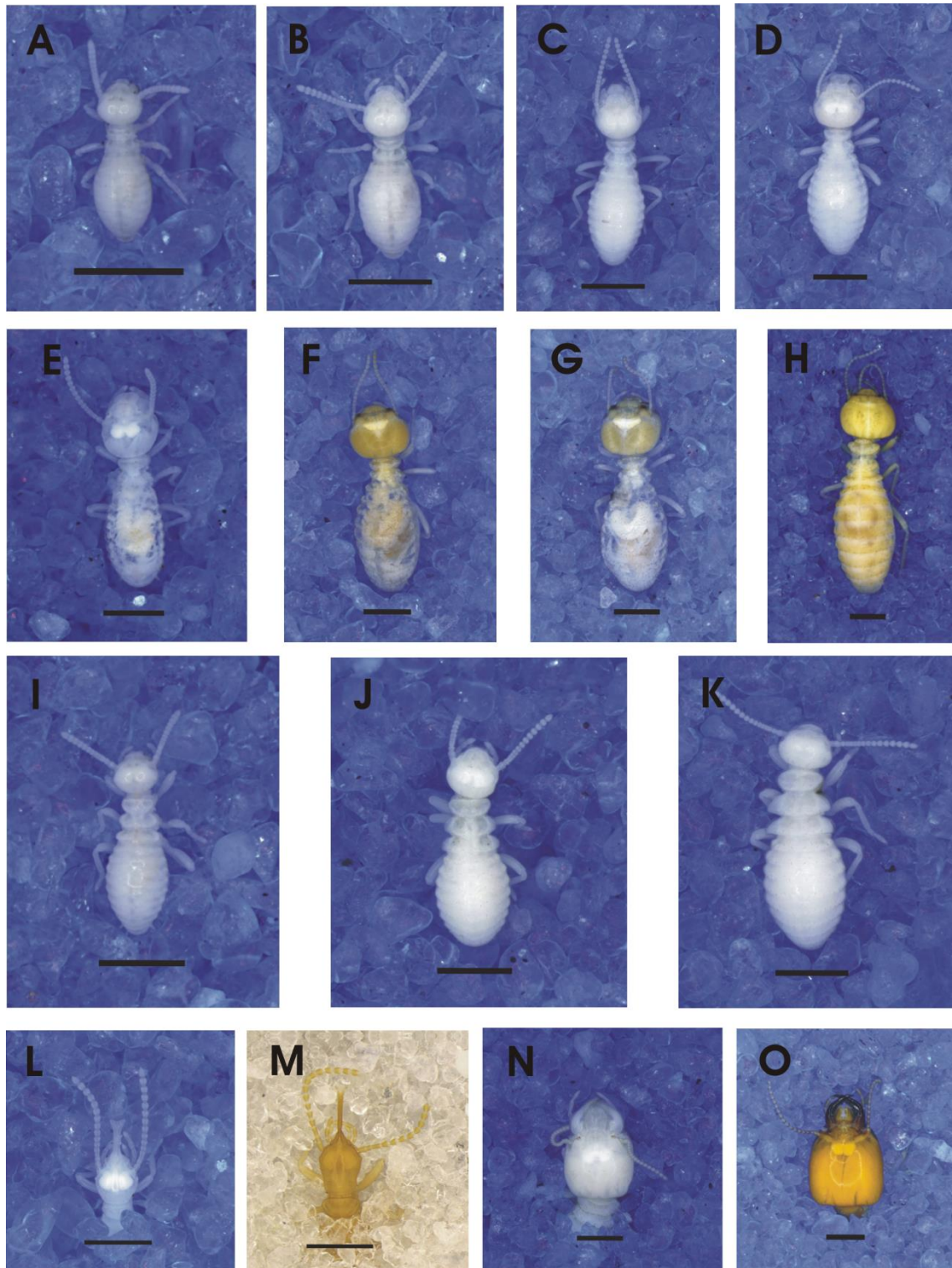


Figura 13. Castas e ínstares de *Rhinotermes marginalis* encontrados em quatro colônias analisadas. Larva 1 (A), larva 2 (B), larva 3 (C), larva 4 (D), larva 5 (E), operário 1 (F), operário 2 (G), ergatóide (H), ninfa 1 (I), ninfa 2 (J), ninfa 3 (K), pré-soldado menor (L), soldado menor (M), pré-soldado maior (N), e soldado maior (O). Escala = 1 mm.

Determinação do sexo

Foram corados 115 abdomens de cupins da espécie *R. marginalis*: soldado menor (n=30), soldado maior (n=30), operário menor (n=20) e operário maior (n=20) e ergatóide (n=15). Todos os indivíduos analisados são fêmeas. Não foram encontradas gônadas desenvolvidas nos ergatóides (Figura 14). Esses indivíduos apresentaram uma grande quantidade de um duro tecido, semelhante a tecido adiposo (corpo gorduroso), que atrapalhou o processo de dissecação. O processo de retirada desse tecido pode ter arrancado as gônadas dos ergatóides.



Figura 14. Região final do esternito de operário maior (A) e de ergatóide (B) de *Rhinotermes marginalis* corados com carmin clorídrico. É possível observar os rudimentos dos ovidutos no esternito 7 (1), da espermateca no esternito 8 (2) e das glândulas coleteriais no esternito 9 (3). Os cupins com morfologia de ergatóides também aparentam possuir rudimentos.

A partir das análises morfométricas e da determinação sexual das castas ápteras, foi possível estabelecer o possível padrão de desenvolvimento da espécie *R. marginalis* (Figura 15):

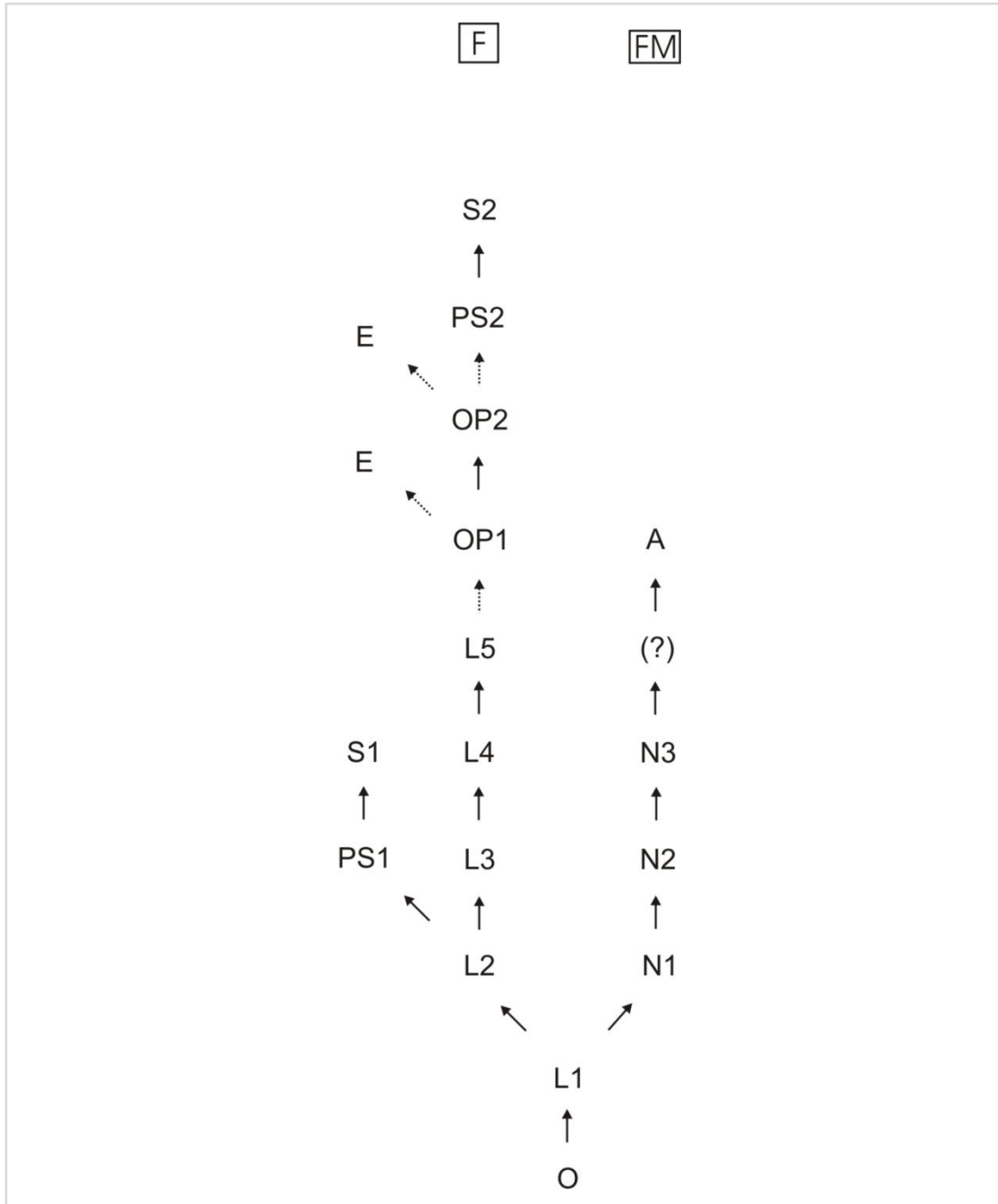


Figura 15. Esquema da diferenciação de castas em *Rhinotermes marginalis*. O: ovo, L1-L5: ínstars larvais, OP1: operário menor, OP2: operário maior, E: ergatóide, PS1: pré-soldado menor, S1: soldado menor, PS2: pré-soldado maior, S2: soldado maior, N1-N3: ínstars ninfais. M = machos e F = fêmeas. Possibilidade de ocorrência de ínstars ninfais finais não detectados nesse trabalho (?). Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação.

DISCUSSÃO

Análise do padrão de castas de *Heterotermes longiceps*

O sistema de castas da espécie *Heterotermes longiceps* é semelhante ao padrão já descrito para as subfamílias Heterotermitinae e Coptotermitinae, em estudos realizados com espécies dos gêneros *Reticulitermes* e *Coptotermes*. Heterotermitinae é parafilética com relação a Coptotermitinae e essas subfamílias juntas são consideradas grupo-irmão Termitidae (Lo *et al.*, 2004; Inward *et al.*, 2007; Bourguignon *et al.*, 2015). A espécie apresentou um padrão bifurcado de desenvolvimento, ocorrendo uma separação da linhagem áptera e ninfal após o segundo ínstar larval.

A linhagem áptera apresentou dois ínstares larvais indiferenciados. Esse mesmo resultado foi encontrado em *Reticulitermes arenicola*, *R. flavipes* e *R. tibialis* (Hare, 1934), *R. speratus* (Takematsu, 1992), *Coptotermes lacteus* (Roisin & Lenz, 1999) e *C. heimi* (Pajni & Arora, 1990). Esse padrão também é encontrado em *Termitogeton* (Parmentier & Roisin, 2003) e nos cupins da família Serritermitidae, *Glossotermes* (Bourguignon *et al.*, 2009) e *Serritermes* (Barbosa, 2012), porém esses últimos gêneros parecem possuir um padrão de desenvolvimento linear.

A partir do segundo ínstar larval ocorre a divisão no desenvolvimento em *H. longiceps*. De um lado, ocorre a formação dos operários, pré-soldados e soldados. Do outro, se desenvolvem os ínstares ninfais e os alados. Fica então caracterizado um desenvolvimento bifurcado nessa espécie. Esse resultado corrobora os padrões já investigados nas subfamílias Heterotermitinae e Coptotermitinae. Em *Reticulitermes* e em *Coptotermes* as larvas de segundo ínstar formam os operários e as ninfas de primeiro ínstar.

Os 103 operários mensurados foram incluídos em apenas dois ínstares distintos. Resultado semelhante foi encontrado para a espécie *Coptotermes heimi* que também apresentou operários maiores e menores (Pajni & Arora, 1990). Em *Reticulitermes* e em *Coptotermes lacteus* foram encontrados diversos ínstares de operários (Hare, 1934; Roisin & Lenz, 1999). Costa-Leonardo (2002) relata que a espécie *Heterotermes tenuis* também apresenta vários ínstares de operários. Os operários maiores de *H. longiceps* se apresentaram bastante espalhados no PCA, porém não foram discriminados em nuvens distintas.

A análise do sexo dos operários mostrou que *H. longiceps* possui apenas operários verdadeiros. Em *Reticulitermes*, os operários verdadeiros aparecem a partir das larvas, porém indivíduos da linhagem ninfal podem se desenvolver em *pseudergates* (Harris & Sands, 1965; Noirot & Pasteus, 1988; Lainé & Wright, 2003). Já em *Coptotermes* foram observados apenas operários verdadeiros, assim como nesse trabalho.

Os pré-soldados de *H. longiceps* se concentraram em uma única nuvem no PCA, sugerindo que exista apenas um ínstar nessa espécie. Não foi possível determinar qual casta dá origem ao pré-soldado, já que não foram observados indivíduos em diferenciação. A investigação da ontogenia dos soldados *Heterotermes tenuis* mostrou que os ínstares de pré-soldado possuía dois tamanhos diferentes (n=45) e revelou que eles se formam a partir de operários forrageiros (Laranjo, 2011), o que fortifica a hipótese da formação dos soldados a partir dos operários em *H. longiceps*.

Todos os soldados menores analisados nesse trabalho eram machos e os maiores eram fêmeas, revelando um dimorfismo sexual nessa casta. Um resultado semelhante foi encontrado para a espécie *H. tenuis*, onde todos os soldados menores eram também machos, porém os maiores eram machos e fêmeas, em uma proporção de

aproximadamente 1:1 (n=30) (Laranjo, 2011). Para espécies de outros gêneros, foi verificada uma proporção de 1:1 em soldados e operários de *Reticulitermes flavipes* (Zimet & Stuart, 1982). Em *Coptotermes lacteus* os operários são dos dois sexos, porém os soldados são fêmeas (Roisin & Lenz, 1999) e em *C. heimi* os soldados e os operários maiores são fêmeas e os operários menores são machos (Pajni & Arora, 1990).

Com relação à linhagem ninfal, a análise de morfometria separou quatro instares. Em *Coptotermes* foram encontradas espécies com cinco instares ninfais em *C. intermedius* (Roy-Noël, 1968) e seis em *C. lacteus* (Watson & Sewell, 1981; Roisin & Lenz, 1999). O PCA realizado com todos os indivíduos mostra um relativo espaçamento entre o segundo instar larval e o primeiro instar ninfal, o que pode sugerir que esse trabalho não conseguiu analisar os instares iniciais de *H. longiceps*. Em *C. lacteus*, o primeiro instar ninfal é similar em tamanho ao primeiro instar de operário (Roisin & Lenz, 1999).

Trabalhos com filogenia de cupins tem mostrado o monofiletismo das famílias Kalotermitidae e Termitidae, enquanto que Rhinotermitidae tem sido considerada parafilética ou polifilética (Inward *et al.*, 2007; Legendre *et al.*, 2008; Bourguignon *et al.*, 2015). Isso se reflete no que tem sido observado na ontogenia dos indivíduos. As famílias Kalotermitidae e Termitidae possuem padrões de castas bem definidos, enquanto que Rhinotermitidae apresenta vários padrões diferentes (Roisin, 2000). A espécie *H. longiceps* apresentou um padrão que se assemelha com o observado para a sua subfamília e fortifica a sua relação próxima com indivíduos dos gêneros *Reticulitermes* e *Coptotermes*.

Análise do padrão de castas de *Rhinotermes marginalis*

O sistema de castas da espécie *Rhinotermes marginalis* é semelhante ao padrão já descrito para outros cupins incluídos na subfamília Rhinotermitinae. Esse grupo inclui os gêneros *Acorhinotermes*, *Rhinotermes*, *Dolichorhinotermes*, *Parrhinotermes* e *Schedorhinotermes* e é considerado monofilético (Bourguignon *et al.*, 2015). Apenas os padrões de diferenciação de castas dos gêneros *Parrhinotermes* (Roisin, 1988b) e *Schedorhinotermes* (Renoux, 1976) foram anteriormente estudados. A espécie *R. marginalis* apresentou um padrão bifurcado de desenvolvimento, ocorrendo uma separação da linhagem áptera e ninfal logo após o primeiro ínstar larval.

A linhagem áptera apresentou três ínstares (L1-L3) bem discriminados em nuvens na análise dos componentes principais. Além desses, foram encontrados mais dois outros ínstares (L4 e L5), que se sobrepuseram na análise, porém o teste de Tukey encontrou diferenças significativas entre eles. Estudos anteriores em Rhinotermitinae encontraram apenas 3 ínstares larvais nas espécies estudadas. Em *Schedorhinotermes* a larva 3 (L3) é fortemente dimórfica: as larvas 3 menores dão origem aos pré-soldados menores e as larvas 3 maiores aos operários (Renoux, 1976). Não foi encontrado polimorfismo nas larvas de *Parrhinotermes* (Roisin, 1988b).

Foram encontrados dois ínstares de operários que não se discriminaram totalmente na PCA, porém foi verificada diferença significativa entre eles. Não existe um padrão para os operários de Rhinotermitinae. Em *Parrhinotermes browni*, largura da cabeça e comprimento da base do flagelo não conseguiram detectar polimorfismo, sendo definido apenas um ínstar de operário para essa espécie (Roisin, 1988b). Já em *Schedorhinotermes lamanianus*, os operários parecem manter a capacidade de sofrer muda, podendo ter até cinco ínstares de operários antes da formação dos soldados

maiores (Renoux, 1976). A quantidade de ínstaes de operários parece variar muito dentro da família Rhinotermitidae.

Foram encontrados possíveis reprodutores secundários que não apresentaram teca alar, o que indica que sejam derivados da linhagem áptera. É possível que esses indivíduos sejam ergatóides. Esse tipo de reprodutor é bastante comum em Rhinotermitinae (Roisin, 2000). Ergatóides são reprodutores neotênicos que se derivam dos operários (Thorne, 1996), normalmente sem adquirir nenhuma característica de reprodutor, exceto um ligeiro aumento na esclerotização (Darlington *et al.*, 1992). Roisin (1988b) se referiu aos ergatóides como possuindo cor amarela (“buff color”). São comuns em cupins das famílias Kalotermitidae, Mastotermitidae e Rhinotermitidae, e raros em Termitidae (Luykx, 1986; Roisin & Pasteels, 1990; Darlington *et al.*, 1992). Os indivíduos semelhantes aos ergatóides encontrados nesse trabalho foram dissecados em busca de encontrar possíveis gônadas. Esses indivíduos apresentaram uma grossa camada de corpo gorduroso bastante resistente, que estava espalhada por toda a região abdominal. Foram realizadas diversas tentativas de dissecação, inclusive sem a retirada total do corpo gorduroso dos indivíduos. Nenhuma delas encontrou nada que pudesse parecer com gônada desenvolvida. Ergatóides não-fisiogástricos podem não realizar funções reprodutivas na colônia e parecem se comportar como um operário (Darlington, 1992).

Foram encontrados dois ínstaes de pré-soldados que originam dois diferentes tipos de soldado. Os soldados também são dimórficos em *Schedorhinotermes* (Renoux, 1976), mas são monomórficos em *Parrhinotermes* (Roisin, 1988b). *Acorhinotermes* apresenta apenas o soldado “nasutóide”, tendo perdido o soldado maior (Quennedeu & Deligne, 1975). O soldado maior de *R. marginalis* possui grandes mandíbulas e o menor apresenta uma projeção do labro, chamado de labro “nasutóide” (semelhante ao nasuto

dos Termitidae). A presença do labro alongado com um pincel em sua terminação, usado para aplicar secreções defensivas produzidas na glândula frontal parece ser uma sinapomorfia da subfamília Rhinotermitinae (Quennedey & Deligne, 1975).

A análise do sexo dos indivíduos ápteros de *R. marginalis* mostrou que os operários e soldados são fêmeas. Não foram encontrados *pseudergates*, apenas operários verdadeiros. A subfamília Rhinotermitinae é reconhecida por possuir operários e soldados fêmeas e essa parece ser uma característica compartilhada pelos indivíduos dessa subfamília (Renoux, 1976; Roisin, 1988b). Uma pequena proporção de operários e soldados machos (menos de 1%) foi encontrado em *Schedorhinotermes lamanianus* (Renoux, 1976).

Nas colônias coletadas de *R. marginalis* foram encontrados três ínstares ninfais. Desses, só foi encontrado um (1) indivíduo considerado ninfa 2 (N2). Estudos anteriores na subfamília Rhinotermitinae mostraram que a linhagem ninfal apresenta cinco ínstares de ninfas que precedem o alado. Não foi possível encontrar todos os ínstares de ninfais para *R. marginalis*. As campanhas foram direcionadas para o período que precede a chuva na região de coleta, porém foi muito difícil encontrar colônias completas dessa espécie. A maioria das colônias coletadas parecia ser de forrageiros e não apresentavam ínstares da linhagem ninfal.

O padrão de castas da espécie *R. marginalis* possui muitas semelhanças com o encontrado para *Parrhinotermes browni* e *Schedorhinotermes lamanianus*, todos incluídos na subfamília Rhinotermitinae: separação das linhagens ápteras e ninfal logo após a primeira muda e ocorrência de soldados e operários fêmeas. Essas parecem ser características bem definidas para essa subfamília.

Revisão dos padrões de castas em *Rhinotermitidae*

O trabalho mais recente sobre a filogenia dos cupins foi realizado a partir do genoma mitocondrial e tentou explicar as relações dentro de *Rhinotermitidae*. Para Bourguignon *et al.* (2015), essa família é polifilética e pode ser dividida em três grupos monofiléticos: o primeiro inclui a subfamília *Rhinotermitinae*, o segundo inclui a família *Serritermitidae* e os gêneros *Prorhinotermes*, *Termitogeton* e *Psammotermes* da família *Rhinotermitidae* e o terceiro inclui as subfamílias *Heterotermitinae* e *Coptotermitinae*. Essa divisão pode ser melhor observada na Figura 12:

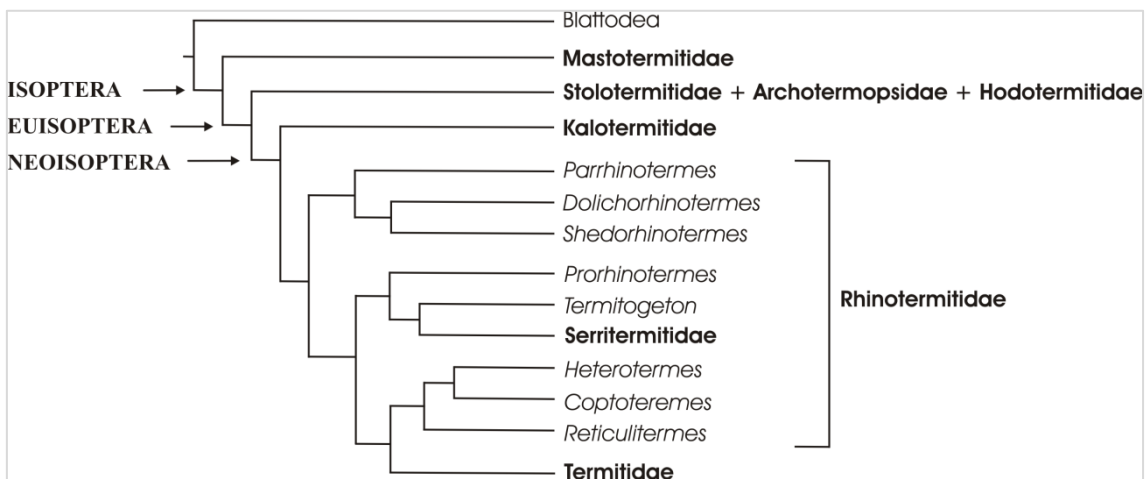


Figura 16. Filogenia dos cupins baseada no genoma mitocondrial adaptado de Bourguignon *et al.* (2015). Famílias destacadas em negrito e gêneros da família *Rhinotermitidae* destacados em itálico.

Os trabalhos de castas da família *Rhinotermitidae* foram analisados com o objetivo de verificar se os sistemas de diferenciação de castas dos gêneros dessa família corroboram os resultados encontrados por Bourguignon *et al.* (2015).

1. Rhinotermitidae: Rhinotermitinae

Essa subfamília forma uma árvore monofilética e é a mais basal com relação aos outros Neoisoptera, como demonstrado em estudos anteriores (Lo *et al.*, 2004; Inward *et al.*, 2007; Cameron *et al.*, 2012). É formada pelos gêneros *Acorhinotermes*, *Rhinotermes*, *Dolichorhinotermes*, *Parrhinotermes*, *Schedorhinotermes* que compartilham várias sinapomorfias como a presença de apenas operários e soldados em sua grande maioria todos fêmeas (Renoux, 1976; Roisin, 1988b) ou soldados com o labro alongado com um pincel em sua terminação, usado para aplicar secreções defensivas produzidas na glândula frontal (Quennedey & Deligne, 1975).

Os padrões de diferenciação de castas de *Parrhinotermes browni* (Roisin, 1988b) e de *Schedorhinotermes lamanianus* (Renoux, 1976) foram investigados e apresentaram várias semelhanças. Nessas espécies as linhagens áptera e ninfal diferem já na primeira muda. Dessa forma, a o primeiro ínstar larval dará origem ao segundo ínstar larval ou ao primeiro ínstar ninfal. Em *Parrhinotermes* as larvas, operários e soldados são monomórficos enquanto que em *Schedorhinotermes* as larvas de segundo e terceiro ínstar são dimórficas. A linhagem ninfal possui cinco ínstars (N1-N5) que antecedem a formação do alado. Soldados e operários são quase que exclusivamente fêmeas (machos ocorrem de forma bastante rara). Os operários podem sofrer uma série de mudas para dar origem aos pré-soldados maiores.

Os gêneros *Dolichorhinotermes* e *Acorhinotermes* não possuem padrão de castas conhecidos. Em *Dolichorhinotermes* existe registro de reprodutores ergatóides fêmeas, inclusive com fisogastria, coletados em Trinidad e no Brasil (Darlington *et al.*, 1992). Uma análise dos soldados dimórficos revelou que todos são fêmeas, assim como já

encontrado para *Parrhinotermes* e *Schedorhinotermes*. Esse parece ser um claro padrão para Rhinotermitinae.

O gênero *Rhinotermes*, estudado no primeiro capítulo dessa tese, também apresenta diferenciação dos ápteros e das ninfas já na primeira muda, soldados e operários fêmeas e mais de um ínstar de operários. A principal novidade é a presença de mais do que três ínstars de larvas precedendo os operários. Dessa forma, foi desenvolvido um padrão geral de castas para a subfamília Rhinotermitinae (Figura 17):

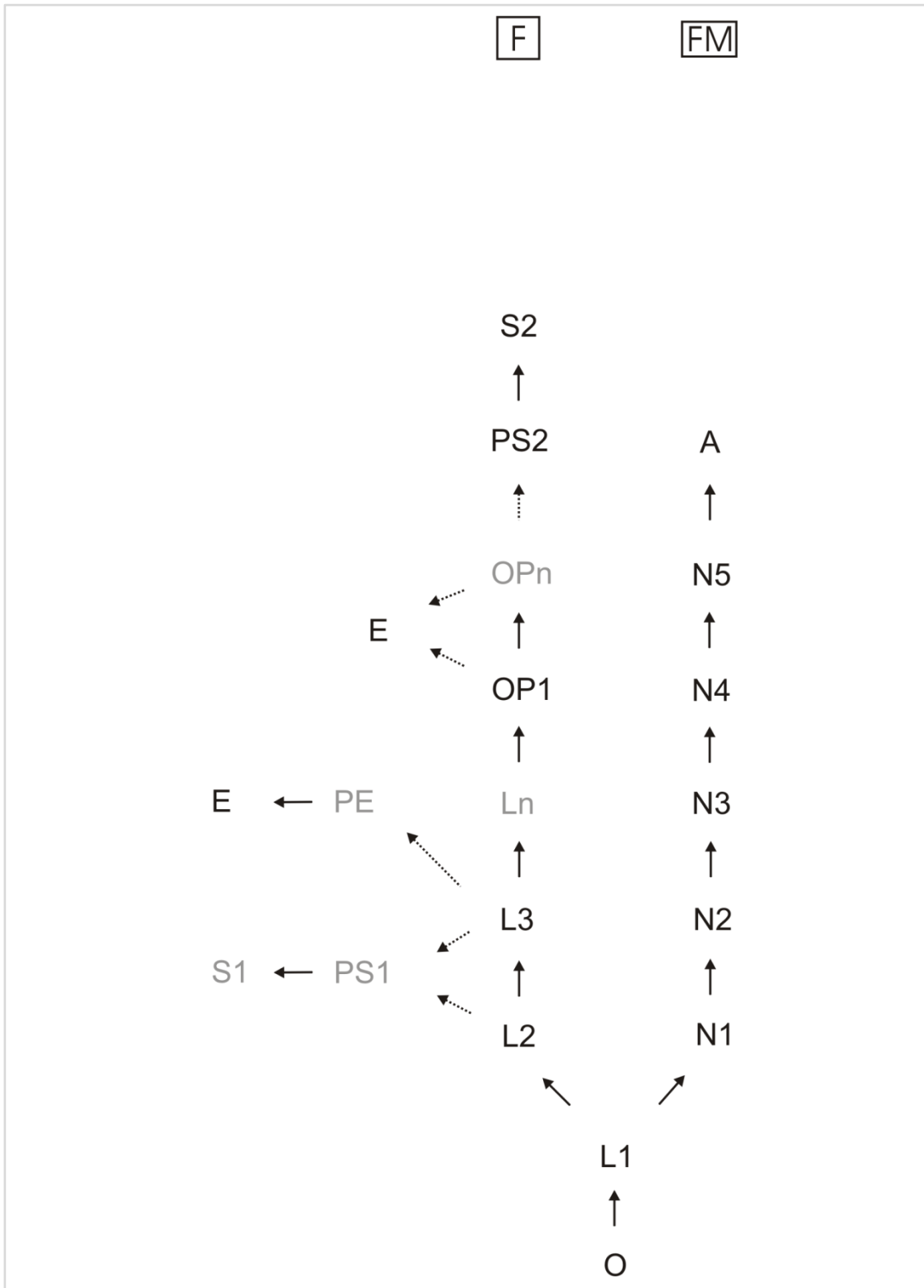


Figura 17. Esquema geral de diferenciação de castas na subfamília Rhinotermitinae. Ínstares na cor cinza não estão presentes em todas as espécies. O: ovo, L1-Ln: ínstares larvais, OP1-OPn: ínstares de operários, PE: pré-ergatóide, E: ergatóide, PS1-PS2: pré-soldados, S1-S2: soldados, N1-N5: ínstares ninfais, A: alado. M = machos e F = fêmeas. Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação.

2. Serritermitidae + *Prorhinotermes*, *Termitogeton* e *Psammotermes*

Dentro de Rhinotermitidae, alguns cupins apresentam ninho do tipo “peça única” e os indivíduos possuem um desenvolvimento flexível, correspondente aos *pseudergates* presentes na família Kalotermitidae (Roisin, 1988a; Parmentier & Roisin, 2003; Bourguignon *et al.*, 2009; Barbosa, 2012). Esses cupins foram incluídos em um só clado (Bourguignon *et al.* 2015), que reúne *Serritermes*, *Glossotermes*, *Termitogeton*, *Prorhinotermes* e *Psammotermes*. Os gêneros *Serritermes* e *Glossotermes* fazem parte da família Serritermitidae que, segundo as mais recentes filogenias dos cupins, está incluída em Rhinotermitidae (Inward *et al.*, 2007; Bourguignon *et al.*, 2015).

O padrão de castas de *Prorhinotermes inopinatus* (Roisin, 1988a), *Prorhinotermes simplex* (Miller, 1942), *Termitogeton planus* (Parmentier & Roisin, 2003) e *Psammotermes hybostoma* (Bourguignon *et al.*, 2012) são conhecidos. Além deles, *Glossotermes oculatus* (Bourguignon *et al.*, 2009) e *Serritermes serrifer* (Barbosa, 2012) também já foram estudados.

A principal característica dos sistemas de castas dos gêneros *Psammotermes* e *Prorhinotermes* é a presença de vários ínstares de imaturos ápteros. Os autores dos trabalhos interpretaram e sugeriram a separação dos imaturos ápteros diferentemente. Em *P. hybostoma*, foram separados três ínstares larvais, cinco ínstares de *pseudergates* e cinco ou mais ínstares de *pseudergates* senis (Bourguignon *et al.*, 2012). Já em *P. inopinatus*, foi verificado apenas um ínstar de larva, seguidos de, pelo menos, mais oito ínstares de *pseudergates* (Roisin, 1988a). As duas espécies apresentam apenas um ínstar de ninfa, antes dos alados.

Já *Termitogeton* apresenta dois ínstares de larvas, quatro ínstares de *pseudergates*, soldado e apenas um ínstar de ninfa precedendo o alado (Parmentier &

Roisin, 2003). O padrão de *Serritermes serrifer* e de *Glossotermes oculatus* é semelhante (Bourguignon *et al*, 2009).

Nenhuma das espécies analisadas apresentou operários verdadeiros. Alguns autores optaram pelo termo imaturo áptero para se referir as larvas e aos *pseudergates*, já que os indivíduos passam da fase de larva para a fase de *pseudergates* sem grandes mudanças morfológicas. De toda forma, todas as espécies apresentaram pelo menos dois instares larvais. Os *pseudergates* parecem possuir vários instares e dão origem aos soldados e aos alados. Todas as espécies analisadas possuem apenas um instar de ninfa, sendo essa uma característica clara desse grupo. Essas características fazem com que o padrão de Serritermitidae + *Prorhinotermes*, *Termitogeton* e *Psammotermes* seja muito semelhante ao padrão observado em Kalotermitidae (Figura 18).

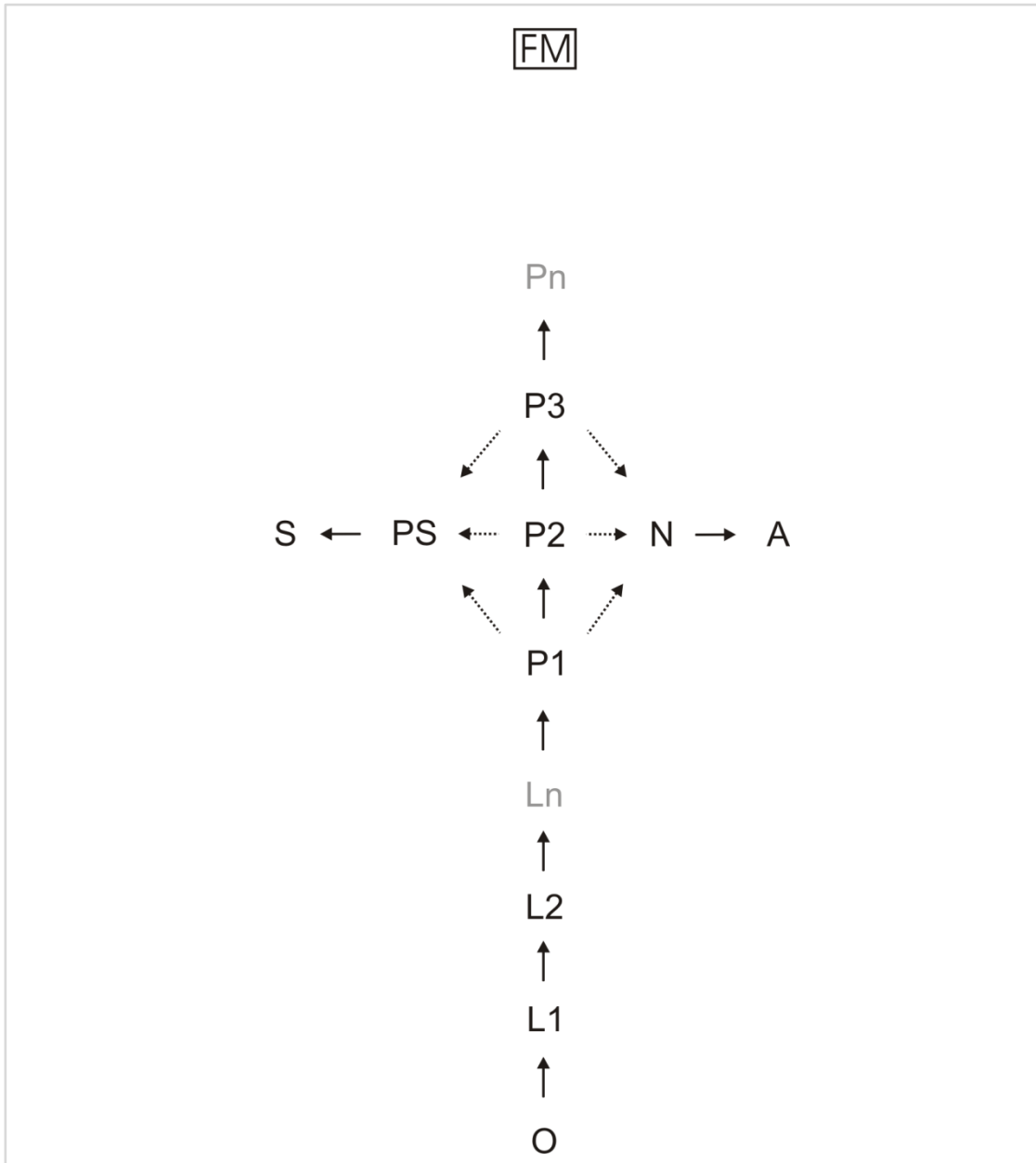


Figura 18. Esquema geral de diferenciação de castas na família Serritermitidae + *Termitogeton*, *Prorhinotermes* e *Psammotermes*. Ínstares na cor cinza não estão presentes em todas as espécies. O: ovo, L1-Ln: ínstares larvais, P1-Pn: ínstares de *pseudergates*, PS: pré-soldado, S: soldados, N: ninfa, A: alado. M = machos e F = fêmeas. Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação.

3. Heterotermitidae: Heterotermitinae + Coptotermitinae

Para concluir, será analisado o ramo que inclui os gêneros *Tsaitermes*, *Reticulitermes*, *Coptotermes* e *Heterotermes*. As subfamílias Heterotermitinae e Coptotermitinae formam um ramo considerado grupo-irmão dos Termitidae (Lo *et al.*, 2004; Inward *et al.*, 2007; Bourguignon *et al.*, 2015).

Os primeiros trabalhos com diferenciação de castas em Isoptera envolveram a espécie *Reticulitermes lucifugus*, observando uma divergência entre a linhagem áptera e a imaginal apresentando, assim, um padrão bifurcado (Roisin, 2000).

As espécies de *Reticulitermes*, no geral, apresentam dois ínstares larvais, número variável de ínstares de operários verdadeiros e seis ínstares ninfais (Roisin, 2000). O gênero *Coptotermes* apresentou um padrão muito semelhante ao encontrado para a família Termitidae: padrão bifurcado, com dois ínstares larvais, vários ínstares de operários verdadeiros, seis ínstares ninfais precedendo o alado, pré-soldado e soldado (Roisin & Lenz, 1999).

O gênero *Heterotermes* foi investigado e o seu padrão corrobora o já visto em Heterotermitinae + Coptotermitinae. A grande novidade é o dimorfismo sexual dos soldados. A partir disso, foi montado um padrão geral para esse grupo (Figura 19).

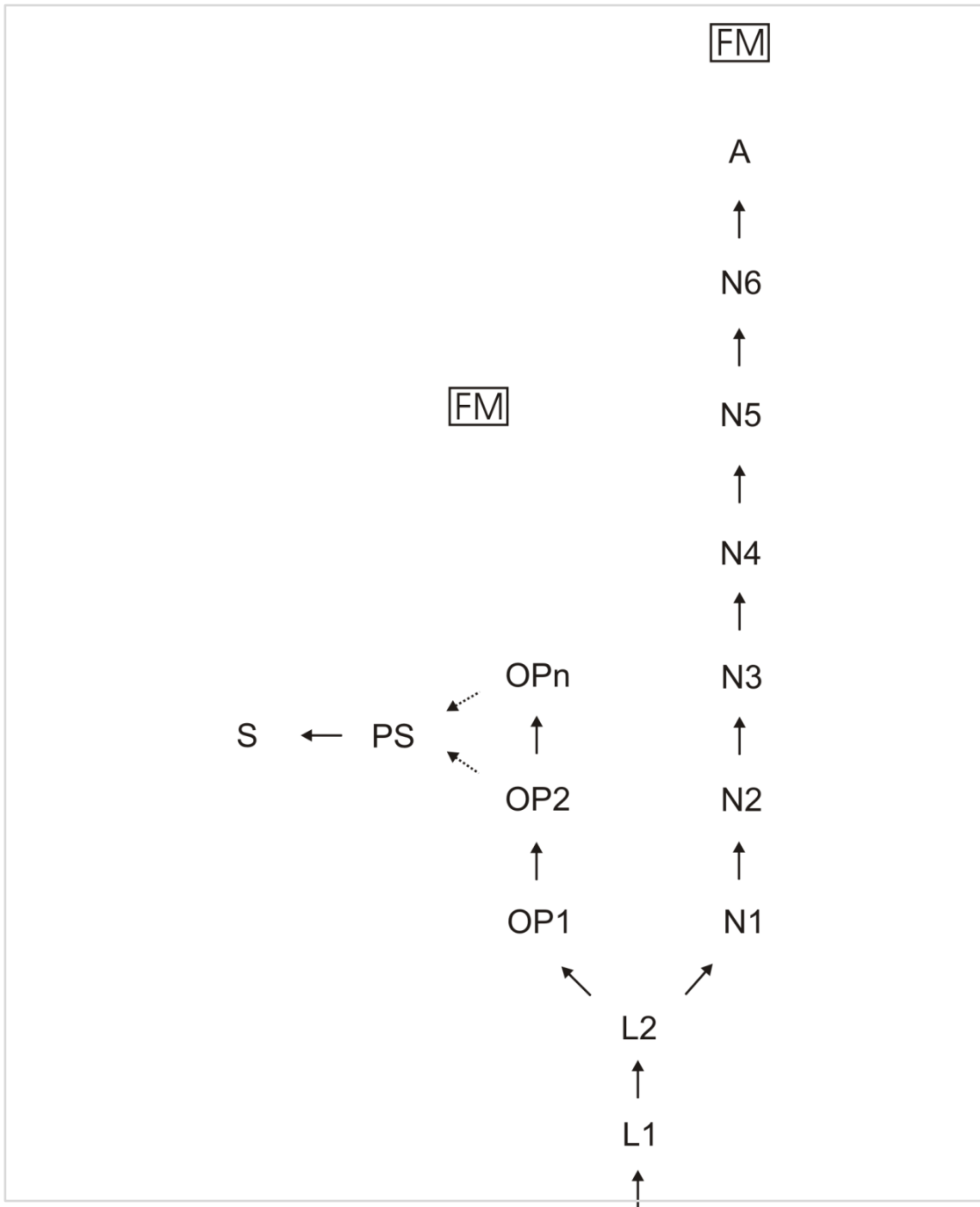


Figura 19. Esquema geral de diferenciação de castas nas subfamílias Heterotermitinae + Coptotermitinae. O: ovo, L1-L2: ínstaes larvais, OP1-OPn: ínstaes de operários, PS: pré-soldado, S: soldado, N1-N6: ínstaes ninfais, A: alado. M = machos e F = fêmeas. Cada seta simboliza uma muda e as setas pontilhadas significam o provável caminho de diferenciação.

REFERÊNCIAS

- Alonso, C. & A. Langguth. 1989. Ecologia e comportamento de *Callithrix jacchus* (Primates: Callitrichidae) numa ilha de floresta atlântica. *Revista Nordestina de Biologia*, 6 (2): 105-137.
- Andrade-Lima, D. & M. G. Rocha. 1971. Observações preliminares sobre a Mata do Buraquinho, João Pessoa, Paraíba. *Anais do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco*, 1(1): 47-61.
- Bandeira, A. G.; A. Vasconcellos; M. P. Silva & R. Constantino. 2003. Effects of habitat disturbance on the termite fauna in a highland humid forest in the Caatinga domain, Brazil. *Sociobiology* 42(1): 117-127.
- Barbosa, J. R. C. 2012. Sistema de castas de *Serritermes serrifer*: (Isoptera: Serritermitidae). Universidade de Brasília, Dissertação
- Bezerra, C. P. & C. F. Martins. 2001. Diversidade de Euglossinae (Hymenoptera, Apidae) em dois fragmentos de Mata Atlântica localizados na região urbana de João Pessoa, Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 18 (3): 823 – 835.
- Bourguignon T., J. Šobotník, R. Hanus & Y. Roisin. 2009. Developmental pathways of *Glossotermes oculatus* (Isoptera, Serritermitidae): at the cross-roads of worker caste evolution in termites. *Evolution & Development*, 11: 659–668
- Bourguignon T., Šobotník J., Sillam-Dussès D., Jiroš P., Hanus R., Roisin Y. & Miura T. 2012. Developmental pathways of *Psammotermes hybostoma* (Isoptera: Rhinotermitidae): old *pseudergates* make up a new sterile caste. *Plos One* 7: e44527.

- Bourguignon T., N. Lo, S. L. Cameron, J. Šobotník, Y. Hayashi, S. Shigenobu, D. Watanabe, Y. Roisin, T. Miura & T. A. Evans. 2015. The evolutionary history of termites as inferred from 66 mitochondrial genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 32(2): 406-421
- Cameron S. L., N. Lo, T. Bourguignon, G. J. Svenson, T. A. Evans. 2012. A mitochondrial genome phylogeny of termites (Blattodea: Termitoidae): robust support for interfamilial relationships and molecular synapomorphies define major clades. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 65: 163-173.
- Carvalho, F. S. A. 1978. Aspectos gerais da vegetação na Paraíba. *Boletim do Departamento de Geociências da Universidade Federal da Paraíba*, 2: 35-45.
- Constantino, R. 1991. Termites (Insecta, Isoptera) from the lower Japurá River, Amazonas State, Brazil. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi Série Zoologia* 7(2): 189-224.
- Constantino, R. 1998. Catalog of the living termites of the New World (Insecta: Isoptera). *Arquivos de Zoologia* 35: 135-231.
- Constantino, R. 2001. Key to the soldiers of South American *Heterotermes* with a new species from Brazil (Isoptera: Rhinotermitidae). *Insect Systematics and Evolution* 31: 463-472.
- Constantino, 2002. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. *Journal of Applied Entomology* 126(7-8): 355-365.
- Costa-Leonardo. 2002. *Cupins-praga: Morfologia, biologia e controle*. Rio Claro, Divisa, 128p.

- Darlington, J. P. E. C., E. M. Canello & O. DeSouza. 1992. Ergatoid reproductives in termites of the genus *Dolichorhinotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* 20: 41-47
- Emerson A. E. 1971. Tertiary fossil species of the Rhinotermitidae (Isoptera), phylogeny of genera, and reciprocal phylogeny of associated Flagellata (Protozoa) and the Staphylinidae (Coleoptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 146: 243-304.
- Grassi B & A. Sandias. 1883. The constitution and development of the society of termites: observations on their habits; with appendices on the parasitic protozoa of Termitidae, and on the Embiidae. *Quarterly Journal of Microscopical Science* 39: 245-322.
- Haifig, I.; A. M. Costa-Leonardo & F. F. Marchetti. 2008. Effects of nutrients on feeding activities of the pest termite *Heterotermes tenuis* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Applied Entomology* 132: 497–501
- Hare, L. 1934. Caste determination and differentiation with special reference to the genus *Reticulitermes* (Isoptera). *Journal of Morphology* 56, 267-293.
- Inward, D. J. G., A. P. Vogler & P. Eggleton. 2007. A comprehensive phylogenetic analysis of termites (Isoptera) illuminates key aspects of their evolutionary biology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 953-967.
- Iplance. 1989. Atlas do Ceará. SEPLAN. Fortaleza
- Katoh, H., T. Matsumoto & T. Miura. 2007. Alate differentiation and compound-eye development in the dry-wood termite *Neotermes koshunensis* (Isoptera, Kalotermitidae). *Insectes Sociaux* 54: 11-19.

- Koshikawa, S., T. Matsumoto & T. Miura. 2002. Morphometric changes during soldier differentiation of the damp-wood termite *Hodotermopsis japonica* (Isoptera, Termopsidae). *Insectes Sociaux* 49: 245-250.
- Lainé, L. V. & D. J. Wright. 2003. The life cycle of *Reticulitermes* spp. (Isoptera: Rhinotermitidae): what do we know? *Bulletin of entomological research* 93: 267-278
- Laranjo, 2011. Ontogenia da casta de soldados no cupim praga *Heterotermes tenuis* (Isoptera, Rhinotermitidae). Universidade Estadual Paulista, dissertação.
- Lelis, A. T. & C. Everaerts. 1993. Effects of juvenile hormone analogues upon soldier differentiation in the termite *Reticulitermes santonensis* (Rhinotermitidae, Heterotermitinae). *Journal of Morphology* 217: 239–261.
- Legendre F., M. F. Whiting, C. Bordereau, E. M. Canello, T. A. Evans & P. Grandcolas. 2008. The phylogeny of termites (Dictyoptera: Isoptera) based on mitochondrial and nuclear markers: implications for the evolution of the worker and pseudergate castes, and foraging behaviors. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48: 615-627.
- Lo, N., O. Kitade, T. Miura, R. Constantino & T. Matsumoto. 2004. Molecular phylogeny of the Rhinotermitidae. *Insectes Sociaux*, 51: 365-371.
- Luykx, P. 1986. Termite colony dynamics as revealed by the sex- and caste- ratios of whole colonies of *Incisitermes schwarzi* (Isoptera: Kalotermitidae). *Insectes Sociaux* 33: 221–248.
- Mathews, A. G. A. 1977. Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil. io de Janeiro. Academia Brasileira de Ciências, 267 p.

- Miller, E.M., 1942. The problem of castes and caste differentiation in *Prorhinotermes simplex* (Hagen). Bulletin of the University of Miami, 15: 1–27
- Miller, E. M. 1969. Caste differentiation in the lower termites. In: K. Krishna & F. Weesner (eds.), Biology of Termites. Vol. I, pp. 283-310. New York: Academic Press.
- Miura, T., Y. Roisin & T. Matsumoto. 1998. Developmental pathways and polyethism of neuter castes in the processional nasute termite *Hospitalitermes medioflavus* (Isoptera: Termitidae). Zoological Science 15: 843–848.
- Moura F. M. S., A. Vasconcellos, N. B. Silva & A. G. Bandeira. 2010. Caste development systems of the Neotropical termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae). Insectes Sociaux 58: 169-175.
- Nascimento, J. L. X., L. G. Sales-Júnior, A. E. B. A. Sousa, & J. Minns. 2010. Avaliação rápida das potencialidades ecológicas e econômicas do Parque Nacional de Ubajara, Ceará, usando aves como indicadores. Ornithologia, 1(1): 33-42.
- Noirot, C. 1955. Recherches sur le polymorphisme des termites supérieurs (Termitidae). Annales des Sciences Naturelles (Zoologie) 17: 399-595.
- Noirot, C. 1969. Formation of castes in the higher termites. In: K. Krishna & F. Weesner (eds.), Biology of Termites, pp. 311–350. New York: Academic Press.
- Noirot, C. & J. M. Pasteels. 1987. Ontogenetic development and evolution of the worker caste in termites. Experientia 43: 851-860.
- Noirot, C. & J. M. Pasteels, 1988. The worker caste is polyphyletic in termites. Sociobiology 14: 15–20.

- Oster, G. F. & E. O. Wilson. 1979. Caste and ecology in the social insects. Princeton: Princeton University Press.
- Pajni, H. R. & C. B. Arora, 1990. Polymorphism and polyethism in *Coptotermes heimi* (Rhinotermitidae: Isoptera). In: G. K. Veeresh, B. Mallik & C. A. Viraktamath (eds), Social Insects and the Environment, New Dehli: Oxford & IBH Publishing Co.: 337-338
- Parmentier D & Roisin Y. 2003. Caste morphology and development in *Termitogeton* nr. *planus* (Insecta, Isoptera, Rhinotermitidae). Journal of Morphology 255: 69-79.
- Pizano, M. A. & L. R. Fontes. 1986. Ocorrência de *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) e *H. longiceps* (Snyder, 1924) (Isoptera, Rhinotermitidae) atacando cana-de-açúcar no Brasil. Brasil Açucareiro 104(3/4): 29.
- Quennedeu, A. & J. Deligne. 1975. L'arme frontale des soldats de termites. I. Rhinotermitidae. Insectes Sociaux 22(3): 243-267.
- Renoux, J. 1976. Le polymorphisme de *Schedorhinotermes lamanianus* (Sjöstedt) (Isoptera: Rhinotermitidae): Essai d'interprétation. Insectes sociaux. 23: 279-494.
- Roisin, Y. & J. M. Pasteels. 1986. Differentiation of worker-derived intercastes and precocious imagoes after queen removal in the Neo-Guinean termite *Nasutitermes princeps* (Desneux). Journal of Morphology 189: 281-293.
- Roisin Y. 1988a. Morphology, development and evolutionary significance of the working stages in the caste system of *Prorhinotermes* (Insecta, Isoptera). Zoomorphology 107: 339-347.
- Roisin Y. 1988b. The caste system of *Parrhinotermes browni* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology 14, 21-28

- Roisin, Y. & J. M. Pasteels. 1990. Evolutionary trends in neoteny and secondary reproduction in termites. In: G. K. Veeresh, B. Mallik & C. A. Viraktamath (eds), *Social Insects and the Environment*, New Dehli: Oxford & IBH Publishing Co. pp.: 33-34
- Roisin, Y. & M. Lenz. 1999. Caste developmental pathways in colonies of *Coptotermes lacteus* (Froggatt) headed by primary reproductives (Isoptera, Rhinotermitidae). *Insectes Sociaux* 46(3): 273-280
- Roisin, Y. 2000. Diversity and evolution of caste patterns. In: T. Abe, M. Higashi & D. E. Bignell (eds.), *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology*, pp. 95-119. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
- Roonwal, M. L. 1970. Measurements of termites (Isoptera) for taxonomic purposes. *Journal of the Zoological Society of India* 21: 9-66
- Roy-Noël, J. 1968. Etudes biométrique et morphologique du couvain de *Coptotermes intermedius* Silvestri (Isoptère Rhinotermitidae). *Insectes sociaux*. 15: 389-394.
- Santana, G. G, W. L. S. Vieira, G. A. Pereira-Filho, F. R. Delfim, Y. C. C. Lima, K. S. Vieira. 2008. Herpetofauna em um fragmento de Floresta Atlântica no Estado da Paraíba, Região Nordeste do Brasil. *Biotemas*, 21 (1): 75-84.
- Sousa Filho, M. R. P. & M. C. L. Sales. 2009. Microclima nos enclaves úmidos do Ceará: o caso de Ubajara. In: 12º Encuentro de Geógrafos de América Latina, Montevideú. p. 160.
- Souza, M. J. N. 1989. A Ibiapaba e a Depressão Periférica Ocidental do Ceará. Depto. de Geografia. UFC e Projeto MEC/BID. Fortaleza.
- StatSoft Inc., 2010. *Statistica* (data analysis software system), version 10.0. <http://www.statsoft.com>.

- Takematsu, Y. 1992. Biometrical study of the development of the castes in *Reticulitermes speratus* (Isoptera, Rhinotermitidae). Japanese Journal of Entomology 60: 67–76.
- Thorne, B. L. 1996. Termite Terminology. Sociobiology, 28 (3): 253-263.
- Vasconcellos, A & A. G. Bandeira. 2005. Cupins de duas florestas de restinga do Nordeste Brasileiro. Iheringia. Série Zoologia 95(2): 127-131.
- Vasconcellos, A., A. G. Bandeira, F. M. S. Moura, V. F. P. Araújo, M. A. B. Gusmão & R. Constantino. 2010. Termite assemblages in three habitats under different disturbance regimes in the semi-arid Caatinga of NE Brazil. Journal of Arid Environments 74: 298-302.
- Vasconcellos, A. 2010. Biomass and abundance of termites in three remnant areas of Atlantic Forest in northeastern Brazil. Revista Brasileira de Entomologia 54: 455-461.
- Watson, J. A. L. & J. J. Sewell. 1981. The origin and evolution of caste systems in termites. Sociobiology 6: 101–118.
- Weesner, F. M. 1969. External Anatomy. In: K. Krishna & F. Weesner (eds.), Biology of Termites. New York: Academic Press. v.1, p. 19-77
- Zimet, M.; A. M. Stuart. 1982. Sexual dimorphism in the immature stages of the termite, *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). Sociobiology, 7: 1-7.

CAPÍTULO 2

O impacto de *Mattirolella silvestrii* (TERMITARIALES: DEUTEROMYCETES) em uma colônia de *Rhinotermes marginalis* (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE)

RESUMO

Cupins possuem uma variedade de fungos ectoparasitas especialistas que se aderem ou penetram seus exoesqueletos. O gênero *Mattirolella* apresenta apenas duas espécies descritas e que são conhecidas até agora apenas a partir da coleção tipo. Além da taxonomia mal resolvida, a biologia e a ecologia das espécies desse gênero foram pouco estudadas. O objetivo desse trabalho foi investigar a ação do fungo *Mattirolella silvestrii* em uma colônia de *Rhinotermes marginalis*. A colônia de *R. marginalis* foi coletada em Ubajara-CE, fixada em FAA por 24 h e depois transferidas para álcool 80%. Os indivíduos divididos em castas foram separados pela presença ou ausência dos fungos e, posteriormente, foram contados. Foi realizada uma descrição quantitativa da população do parasita e a frequência de *M. silvestrii* encontrada em indivíduos de *R. marginalis* foi verificada através do qui-quadrado (X^2). Diferença de tamanho entre cupins com e sem fungo aderido foi avaliada a partir de uma análise dos componentes principais (PCA). Foram encontrados 8190 indivíduos de *R. marginalis*, sendo 1595 infectados com o fungo ectoparasita *M. silvestrii*, apresentando uma prevalência total de 19,47%. Foram encontrados um total de 1891 ectoparasitas aderidos em 61 diferentes partes do corpo do cupim. *M. silvestrii* apresentou uma intensidade média de $1,18 \pm 0,01$ e uma abundância média de $0,23 \pm 0,01$. Soldado maior foi a casta que apresentou infecção mais frequente ($X^2 = 9,43$, $p < 0,01$). Os resultados da PCA mostrou que os indivíduos da colônia infectada são menores do que os indivíduos das colônias não

infectadas, sugerindo que o ectoparasita impacta toda a colônia infectada. O fungo ectoparasita *M. silvestrii* infecta diferentes castas de *R. marginalis* e pode ser encontrado aderido a diversas partes do tegumento do cupim. Esse trabalho expande a área conhecida de ocorrência de *M. silvestrii*.

Palavras-chave: Cupim subterrâneo, associação inseto-fungo, ectoparasitismo, população parasítica, fungo entomopatogênico

ABSTRACT

Termites receive a variety of specialists fungal ectoparasites that attach to or penetrate their exoskeletons. *Mattirolella* has only two described species that are known only from the type collection. In addition to unresolved taxonomy, biology and ecology of this genus have been scarcely studied. The aim of this study was investigate *Mattirolella silvestrii* fungal action in a *Rhinotermes marginalis* colony. The colony of *R. marginalis* was collected in Ubajara-CE, fixed in FAA for 24 h and then transferred to 80% alcohol. Individuals from each caste were separated by presence/absence of the fungi specie and then were counted. A quantitative description of the parasite population was carried and frequency of *M. silvestrii* found in *R. marginalis* was assessed using the chi-square (X^2) test. Size difference between termites with and without attach fungus was inspected by means of a principal components analysis (PCA). We found 8190 individuals of *R. marginalis*, with 1595 infected with the fungus *M. silvestrii*, with an overall prevalence of 19.47%. A total of 1891 ectoparasites were attached in 61 different parts of the termite's body. *M. silvestrii* average intensity was 1.18 ± 0.01 and 0.23 ± 0.01 of mean abundance. Major soldier showed more frequency infection ($X^2 = 9.43$, $p < 0.01$). PCA results showed that individuals from infected colony are smaller than individuals from uninfected colonies, suggesting that the ectoparasite grants a negative effect on individual sizes on entire infected colony. The ectoparasite fungus *M. silvestrii* infects different *R. marginalis* caste and can be found attached to various parts of the integument of the termite. This work extends the known area of occurrence of *M. silvestrii*.

Key words: Subterranean termite, insect-fungus association, ectoparasitism, parasitic population, entomogenous fungi

INTRODUÇÃO

Cupins possuem uma variedade de fungos ectoparasitas especialistas que se aderem ou penetram seus exoesqueletos (Blackwell, 2003). A primeira descrição de fungos que parasitam cupins foi feita por Thaxter (1895) e, desde então, vários trabalhos tentam entender essa relação. A maioria deles descrevem aspectos morfológicos e de desenvolvimento dos fungos e encontram-se reportados na literatura micológica. São conhecidas, pelo menos, 24 espécies de fungos que parasitam cupins (Sands, 1969) e, dessas, 20 espécies, incluídas em oito gêneros, foram encontradas infestando o tegumento desses insetos (Blackwell & Kimbrough, 1978).

Os ectoparasitas *Termitaria* e *Mattirolella* possuem morfologia semelhante e causam lesões no tegumento dos cupins (Grassé, 1986, Vega & Blackwell, 2005). Espécies de *Termitaria* possuem uma ampla distribuição e ocorrem em diversos grupos de cupins (Kimbrough & Lenz 1982, Blackwell & Rossi 1986, Hojo *et al*, 2001, Weir & Blackwell, 2005). Já para o gênero *Mattirolella* são descritas apenas duas espécies neotropicais (Thorne & Kimbrough, 1982), que são conhecidas até agora apenas a partir da coleção tipo (Vega & Blackwell, 2005). A distribuição geográfica de espécies de *Mattirolella* é limitada, tendo sido encontrada na Guiana Britânica por Colla (1929) e na região do canal do Panamá por Khan & Kimbrough (1974). Esses fungos ectoparasitas possuem uma morfologia única quando comparados com outros fungos (Blackwell, 2003) e não possuem taxonomia bem resolvida.

O fungo parasita *Mattirolella silvestrii* é encontrado em colônias de *Rhinotermes marginalis*. Este ectoparasita apresenta uma camada única de células que penetra no hospedeiro, causando a hipertrofia da epiderme do cupim (Colla, 1929; Thorne & Kimbrough, 1982). Foi descrito por Colla (1929) e, desde então, não foi mais

investigado em nenhum trabalho científico, sendo desconhecido o efeito desse fungo ectoparasita em *Rhinotermes marginalis*.

OBJETIVOS

Geral

Descrever a ação do fungo *Mattirolella silvestrii* (Termitariales: Deuteromycetes) em uma colônia de *Rhinotermes marginalis* (Isoptera: Rhinotermitidae).

Específicos

- Realizar uma descrição quantitativa da população do ectoparasita *M. silvestrii*;
- Analisar a proporção de castas infectadas pelo fungo;
- Verificar se existe diferença de tamanho entre indivíduos infectados e não infectados e entre a colônia infectada e colônias não infectadas;
- Averiguar quais as regiões corporais mais infectadas pelo parasita.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de coleta

A colônia de *Rhinotermes marginalis* infectada com *Mattirolella silvestrii* foi coletada em um troco de madeira dura que estava caído no solo do Parque Nacional de Ubajara, estado do Ceará. A descrição da área de coleta já foi realizada no primeiro capítulo dessa tese. Pela quantidade de indivíduos totais coletados e pela pouca quantidade de indivíduos jovens pode-se concluir que se tratava de uma colônia de forrageiros.

Descrição da população do parasita

A colônia foi separada de acordo com as castas encontradas e os indivíduos com fungos aderidos em seu tegumento foram separados dos indivíduos sem o fungo aderido. Todos foram contados. A partir disso, foi realizada uma descrição quantitativa da população do parasita, padronizando os termos de acordo com Bush *et al.* (1997):

- **Prevalência do parasita:** número de hospedeiros infectados por 1 ou mais indivíduos de uma determinada espécie de parasita dividido pelo número de hospedeiros analisados;
- **Intensidade do parasita:** é o número de indivíduos de uma espécie de parasita em um único hospedeiro infectado.
- **Intensidade média:** número total de parasitas de uma espécie dividido pelo número de hospedeiros infectados com o parasita, acompanhado do erro padrão.

- **Abundância do parasita:** é o número de indivíduos do parasita sobre um único hospedeiro, independente de estar ou não infectado.

A diferença entre intensidade e abundância é que a intensidade analisa apenas indivíduos infectados, enquanto que a abundância analisa indivíduos infectados e não infectados. Dessa forma, a intensidade da infecção em um único hospedeiro não pode ser igual a zero (0).

- **Abundância média:** é o número total de indivíduos de uma espécie de parasita dividido pelo número total de hospedeiros examinados (incluindo tanto os hospedeiros infectados quanto não-infectados).

Cada indivíduo encontrado com o fungo ectoparasita aderido em seu tegumento foi minuciosamente analisado e foi verificada a região corporal de infecção no cupim. Todo esse processo visou verificar as regiões onde os fungos foram mais frequentes.

Diferença da infecção entre castas

A frequência de *M. silvestrii* encontrada em indivíduos de *R. marginalis* foi verificada através do qui-quadrado (X^2), analisando todas as castas em que foram encontrados indivíduos infectados (soldado maior, soldado menor, ergatóide e operário). Foi criada uma tabela de contingência 4x2, onde os indivíduos infectados e os não infectados formavam as colunas, e as quantidades de indivíduos encontrados para cada casta formavam as linhas. Em seguida, cada casta foi analisada separadamente através de tabelas de contingência 2x2. Todos esses testes foram realizados utilizando o software PAST (Hammer *et al.*, 2001).

Diferença de tamanho entre os indivíduos

Para verificar se existe diferença de tamanho entre cupins com e sem fungo aderido no tegumento, foram mensurados indivíduos separados em três grupos: a) Indivíduos da colônia infectada com o fungo aderido em seu tegumento; b) Indivíduos da colônia infectada sem fungo aderido no tegumento; c) Indivíduos de colônias não infectadas pelo fungo ectoparasita. Logo depois, foi realizada uma análise morfométrica usando a mesma metodologia já descrita no primeiro capítulo desse trabalho. A medição direta dos fungos nos cupins geraria um aumento nas medições que, na verdade, não caracterizaria um aumento real do corpo dos indivíduos. Por esse motivo, foram mensurados indivíduos infectados com o fungo na região abdominal, já que a análise morfométrica não analisa essa região corporal. Para essa parte do trabalho foram utilizados apenas os ínstares “soldado menor” e “operário”, pois não foram encontrados indivíduos suficientes de outros ínstares.

RESULTADOS

A colônia de *R. marginalis* apresentou um total de 8190 indivíduos, sendo 1595 infectados com o fungo ectoparasita *M. silvestrii*, o que representa uma prevalência total de 19,47%. Verificando o ataque do parasita nas castas encontradas, a maior prevalência é em soldado maior (47,36%), porém foram encontrados apenas 19 indivíduos dessa casta no total (Tabela 10). Não foram encontrados parasitas aderidos nos imaturos encontrados na colônia.

Tabela 10. Prevalência de *Mattirolella silvestrii* em uma colônia de *Rhinotermes marginalis* coletada no Parque Nacional de Ubajara.

Casta	Fungo presente	Fungo ausente	Total	Prevalência
Soldado Maior	9	10	19	47,36%
Soldado Menor	59	318	377	15,64%
Ergatóide	1	7	8	12,50%
Larvas	0	6	6	0
Pré-soldado (S. maior)	0	1	1	0
Operário	1526	6253	7779	19,61%
Total	1595	6595	8190	19,47%

Com relação à intensidade da infestação, a grande maioria dos cupins analisados (1339) apresentou apenas um ectoparasita aderido em seu tegumento (83,95%). Com dois ectoparasitas foram encontrados 224 cupins (14,04%) e com três apenas 26 (1,63%). Os menores percentuais foram verificados em cupins com quatro (0,25%) e com cinco (0,13%) ectoparasitas aderidos, sendo esse último a maior quantidade de *M. silvestrii* encontrado em um mesmo cupim. Dessa forma, foram encontrados um total de 1891 ectoparasitas aderidos, o que corresponde a uma intensidade média de $1,18 \pm 0,01$.

A partir do total de fungos ectoparasitas aderidos em cupins (1891) e do número total de cupins encontrados nessa colônia (8190), *M. silvestrii* apresentou uma abundância média de $0,23 \pm 0,01$.

Foram encontrados fungos ectoparasitas aderidos em diferentes partes do corpo do cupim (Figura 20), totalizando 61 regiões corporais distintas (conferir apêndice).

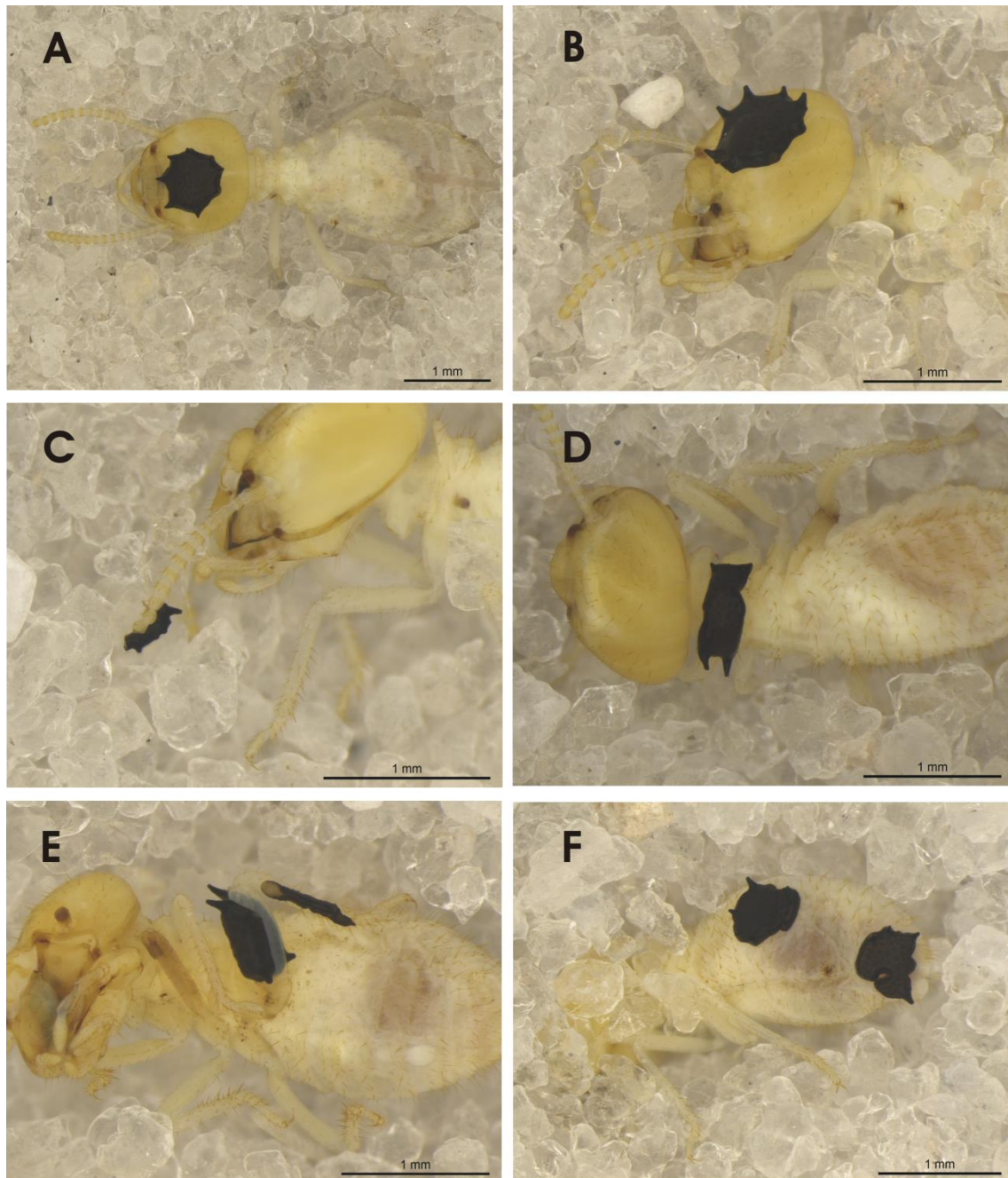


Figura 20. *Mattirolella silvestrii* encontrada aderida na cabeça (A, B e C), pronoto (D), perna (E) e abdome (F) da espécie de cupim *Rhinotermes marginalis*.

Dos 1891 fungos ectoparasitas encontrados, 44,63% estavam aderidos nas pernas dos indivíduos de *R. marginalis*, sendo essa a região de infecção mais frequente. Logo em seguida está o abdome com 29,88% do total. Os fungos também foram encontrados na cabeça dos cupins, chegando a 20,20% dos fungos encontrados. A região em que foram encontrados menos ectoparasitas foi no tórax (sem as pernas), apresentando apenas 5,29% do total.

Com relação à distribuição de *M. silvestrii* entre as castas, a frequência observada foi significativamente diferente da frequência esperada ($X^2 = 13,28$, $p < 0,01$), evidenciando que a infecção não se distribuiu igualmente entre as castas. Quando analisadas separadamente, apenas o soldado maior apresentou uma frequência observada diferente da esperada ($X^2 = 9,43$, $p < 0,01$), mostrando que a infecção nessa casta foi mais frequente. Já o observado em ergatóide ($X^2 = 0,24$, $p = 0,61$), soldado menor ($X^2 = 3,71$, $p = 0,051$) e operário ($X^2 = 1,57$, $p = 0,20$) mostra que a frequência observada não diferiu da esperada.

As medidas dos soldados menores de *R. marginalis* da colônia infectada por *M. silvestrii* (S1a e S1b) se apresentaram em média menores do que em colônias não infectadas (S1c) (Tabela 11). Foi realizada uma análise dos componentes principais (PCA) com 61 soldados menores para tentar avaliar essa diferença de tamanho. O PCA apresentou 84,79% de explicação, sendo 76,41% no primeiro componente principal (CP1) e 8,38% no segundo (CP2). Os resultados mostram que os soldados menores de colônias não infectadas por *M. silvestrii* (S1c) estão discriminados separadamente dos soldados menores da colônia infectada (S1a e S1b) (Figura 21). A ANOVA mostrou diferença morfométrica significativa entre os grupos ($F_{(2,58)} = 57,3$; $p < 0,05$). Não foram encontradas diferenças significativas entre os soldados menores da colônia infectada (S1a e S1b) (Tukey, $p = 0,96$). Já os soldados menores das colônias não infec-

Tabela 11. Média \pm desvio padrão das medidas de 61 soldados menores de *Rhinotermes marginalis* analisados. Valores em milímetros.

Medidas	Soldado menor		
	S1a	S1b	S1c
LC1	0,66 \pm 0,01	0,66 \pm 0,01	0,70 \pm 0,01
CC	1,57 \pm 0,03	1,56 \pm 0,04	1,69 \pm 0,04
LC2	0,48 \pm 0,01	0,49 \pm 0,01	0,51 \pm 0,01
LL	0,21 \pm 0,01	0,21 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01
CP	0,36 \pm 0,01	0,36 \pm 0,02	0,39 \pm 0,01
LP	0,55 \pm 0,02	0,55 \pm 0,01	0,60 \pm 0,02
LMs	0,57 \pm 0,01	0,56 \pm 0,01	0,64 \pm 0,02
LMt	0,61 \pm 0,01	0,62 \pm 0,02	0,70 \pm 0,02
CT	0,80 \pm 0,01	0,80 \pm 0,01	0,83 \pm 0,02
CF	0,77 \pm 0,01	0,76 \pm 0,01	0,81 \pm 0,02
LF	0,16 \pm 0,01	0,16 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01

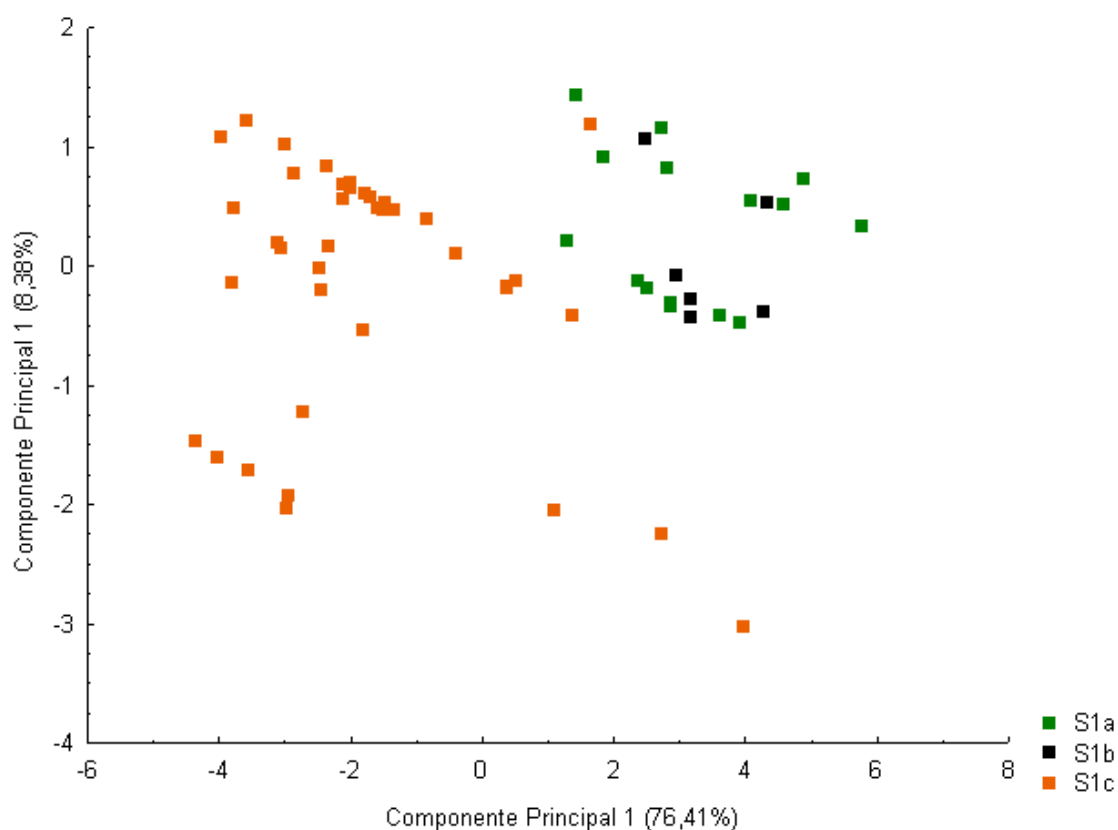


Figura 21. Análise de componentes principais realizada a partir dos scores dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 61 soldados menores de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos scores com base em 11 variáveis morfométricas de soldados da colônia com o fungo *Mattirorella silvestrii* aderido em seu tegumento (S1a), sem fungo aderido (S1b) e de colônias sem a presença do fungo ectoparasita (S1c).

tadas (S1c) foram significativamente diferentes dos infectados (Tukey, $p < 0,05$). Os resultados da PCA sugerem que os soldados menores das colônias infectadas são realmente menores do que os soldados das colônias não infectadas.

As médias das medidas dos operários da colônia infectada (OPa e OPb) e dos operários das colônias não infectadas (OP1c e OP2c) estão na tabela 12. O PCA realizado com 90 operários apresentou 74,96% da variação dos dados, sendo 63,55% na PC1 e 11,41% na PC2 (Figura 22). Os operários de segundo ínstar das colônias não infectadas (OP2c) estão separados dos outros grupos analisados. Foi encontrada diferença morfométrica significativa entre todos os grupos ($F_{(3,86)} = 78,64$; $p < 0,05$). Os operários da colônia infectada (OPa e OPb) não apresentaram diferenças significativas (Tukey, $p = 0,57$). Os operários de primeiro ínstar das colônias não infectadas (OP1c) não diferiram significativamente dos operários da colônia infectada com fungo aderido (OPa) (Tukey, $p = 0,98$) nem dos operários da colônia infectada sem fungo aderido (OPb) (Tukey, $p = 0,79$). Os operários de segundo ínstar apresentaram diferenças morfométricas significativas com todos os outros grupos de operários (Tukey, $p < 0,05$). De acordo com esses resultados, os operários da colônia infectada estão na mesma faixa de tamanho dos operários de primeiro ínstar.

Tabela 12. Média \pm desvio padrão das medidas de 90 operários de *Rhinotermes marginalis* analisados. Valores em milímetros.

Medidas	Operário			
	OP1a	OP1b	OP1c	OP2c
LC1	1,32 \pm 0,03	1,33 \pm 0,03	1,35 \pm 0,01	1,43 \pm 0,02
CC	1,52 \pm 0,04	1,54 \pm 0,02	1,53 \pm 0,02	1,60 \pm 0,04
LC2	1,04 \pm 0,01	1,05 \pm 0,02	1,07 \pm 0,01	1,07 \pm 0,06
LL	0,51 \pm 0,01	0,50 \pm 0,01	0,50 \pm 0,01	0,52 \pm 0,01
CP	0,30 \pm 0,01	0,30 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,31 \pm 0,01
LP	0,65 \pm 0,01	0,66 \pm 0,01	0,65 \pm 0,01	0,71 \pm 0,02
LMs	0,66 \pm 0,01	0,66 \pm 0,01	0,68 \pm 0,01	0,72 \pm 0,02
LMt	0,88 \pm 0,02	0,89 \pm 0,01	0,90 \pm 0,01	0,96 \pm 0,04
CT	0,82 \pm 0,02	0,83 \pm 0,01	0,80 \pm 0,01	0,87 \pm 0,03
CF	0,77 \pm 0,01	0,78 \pm 0,02	0,77 \pm 0,01	0,82 \pm 0,02
LF	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,17 \pm 0,01	0,18 \pm 0,01

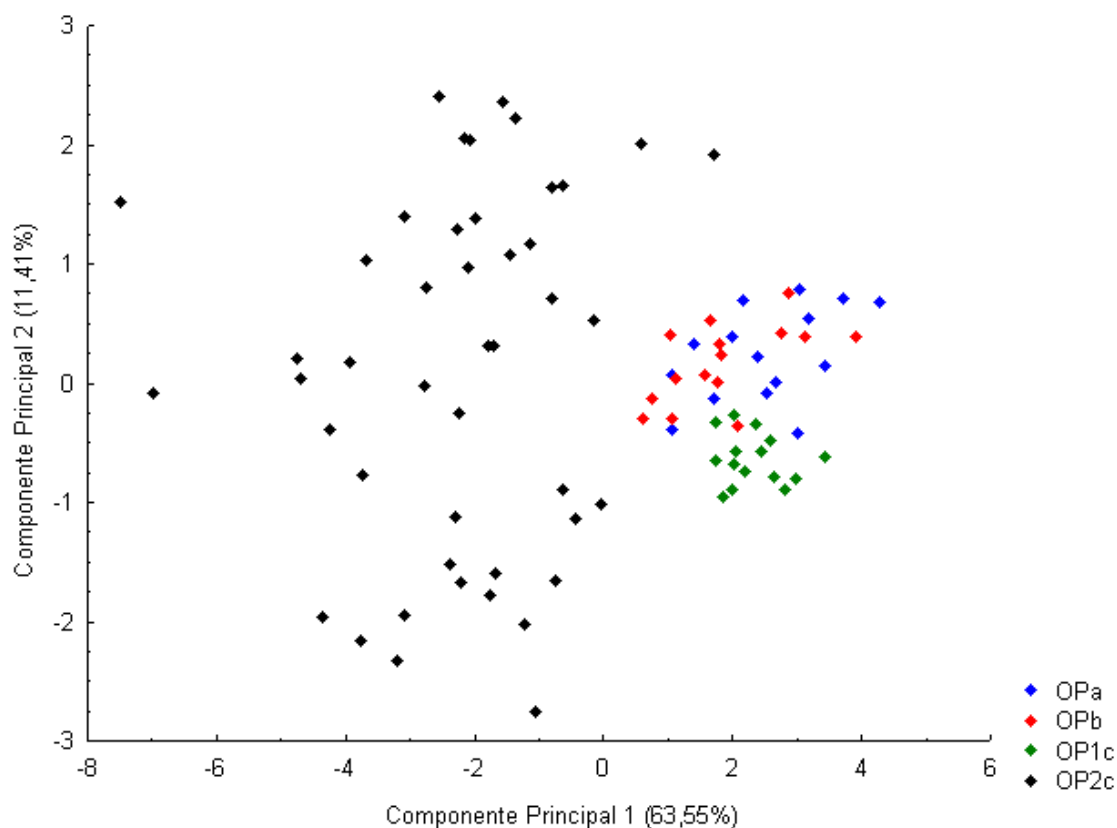


Figura 22. Análise de componentes principais realizada a partir dos scores dos dois primeiros componentes, PC1 e PC2, de 90 operários de *Rhinotermes marginalis* coletados em Ubajara, CE. Projeção dos scores com base em 11 variáveis morfométricas de operários da colônia com o fungo *Mattirorella silvestrii* aderido em seu tegumento (OPa), sem fungo aderido (OPb) e de operários de primeiro ínstar (OP1c) e de segundo ínstar (OP2c) de colônias sem a presença do fungo ectoparasita.

DISCUSSÃO

A espécie ectoparasita *Mattirolella silvestrii* foi encontrada em diversos indivíduos de *Rhinotermes marginalis*, se espalhando nas diferentes castas e causando uma aparente diminuição no tamanho dos soldados menores, quando comparados com soldados de colônias não infectadas. Esses são os primeiros resultados conhecidos sobre a interação dessas duas espécies. O único trabalho que trata da espécie *M. silvestrii* é a sua descrição realizada por Colla (1929) que relatou principalmente a relação do fungo com o tegumento do cupim, não sendo feita nenhuma menção ao grau de infecção ou a resposta do hospedeiro.

É relatada em diversos trabalhos a proximidade dos fungos ectoparasitas dos gêneros *Mattirolella* e *Termitaria* (Colla, 1929; Khan & Kimbrough, 1974). Estudos morfológicos e de desenvolvimento realçam a morfologia única desses gêneros, quando comparados com outras espécies de fungos (Blackwell, 2003). Além de serem semelhantes morfológicamente, realizam uma função parasítica parecida em seus hospedeiros (Thorne & Kimbrough, 1982). Essa proximidade sugere que esses gêneros possam compartilhar estratégias de infecção.

A colônia analisada de *R. marginalis* apresentou proporcionalmente uma grande quantidade de indivíduos infectados, chegando a quase 20% do total de indivíduos coletados. Esse número é considerado muito alto quando comparado com outros trabalhos semelhantes. Pequenas porcentagens de indivíduos de *Nasutitermes* spp. infectados por *Mattirolella crustosa* foram encontradas (Thorne & Kimbrough, 1982). Thaxter (1920) observa que, apesar de *Termitaria* produzir uma grande quantidade de esporos, apenas cerca de 1% dos indivíduos das colônias analisadas estavam infectados. Khan & Kimbrough (1974) e Blackwell (1980) encontraram colônias com mais de 10%

de indivíduos infectados em *Reticulitermes*. Essa grande quantidade de indivíduos infectados por *M. silvestrii* precisa ser analisada com cuidado, pois apenas uma colônia foi analisada. Esse fungo não parece ser muito comum, já que apareceu em apenas uma colônia de oito coletadas durante o trabalho.

A maioria dos indivíduos de *R. marginalis* analisados apresentou apenas um fungo ectoparasita aderido em seu tegumento, porém foram encontrados até cinco fungos aderidos no mesmo cupim. Esses são resultados inéditos sobre o poder de infecção de *M. silvestrii*. Apesar disso, *Mattirolella* pode não ser um agente patogênico eficaz, caso contrário as colônias seriam brevemente destruídas (Thorne & Kimbrough, 1982).

Foram encontrados fungos ectoparasitas aderidos em 61 diferentes partes do corpo de *R. marginalis*. Colla (1929) encontrou *M. silvestrii* aderido no abdome, no tórax, na antena e no palpo maxilar de *R. marginalis*. Espécies de *Termitaria* também possuem um padrão semelhante, atacando abdome, tórax, cabeça e pernas (Thaxter, 1920). *M. silvestrii* produz esporos para infectar seus possíveis hospedeiros, mas não é conhecido o processo de liberação e disseminação desses esporos (Kimbrough & Thorne, 1982). Conhecer esse processo pode ajudar a explicar o padrão de infecção dessa espécie de fungo.

A infecção de *M. silvestrii* se mostrou mais frequente nos soldados maiores de *R. marginalis*, estando presente em praticamente metade dos indivíduos dessa casta. Em *Nasutitermes* spp., os soldados apresentaram picnídios de *M. crustosa* muito mais frequentemente do que operários na mesma colônia (Thorne & Kimbrough, 1982). Essa infecção mais comum em soldados pode ser explicada pela ausência de muda nesses indivíduos. Foi encontrado um reprodutor secundário ergatóide com a presença de

fungo aderido no tegumento. Não foram encontrados reprodutores infectados por *M. crustosa* (Thorne & Kimbrough, 1982).

Os resultados da PCA investigando as diferenças nos tamanhos dos indivíduos sugerem que os indivíduos da colônia infectada são menores do que os indivíduos das colônias não infectadas. Isso significa que *M. silvestrii* causa um efeito em toda a colônia infectada e não apenas nos indivíduos que possuem o ectoparasita aderido no tegumento.

A ocorrência de *M. silvestrii* em apenas uma colônia dificulta a extrapolação e a comparação com outros trabalhos que tratam do parasitismo em cupins. Conhecimentos básicos sobre a sua biologia, porém, ainda não eram conhecidos. Trabalhos com fungos ectoparasitas são raros, já que não dá pra se saber previamente qual colônia estará infectada.

REFERÊNCIAS

- Blackwell M. 1980. New records of termite-associated fungi from Georgia. *Journal of Invertebrate Pathology* 35: 101-104.
- Blackwell, M. & J. W. Kimbrough. 1978. *Hormiscioideus filamentosus* gen. et sp. nov., a termite-infecting fungus from Brazil. *Mycologia* 70: 1273-1280.
- Blackwell M. & W. Rossi. 1986. Biogeography of fungal ectoparasites of termites. *Mycotaxon*, 25: 581–601.
- Blackwell M., D. A. Henk & K. G. Jones. 2003. Extreme morphological divergence: phylogenetic position of a termite ectoparasite. *Mycologia*, 95: 987-992.
- Bush, A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz, & A. W. Shostaki. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of parasitology*, 83: 575-583.
- Colla, S. 1929. Su alcuni funghi parassiti delle termiti. *Bollettino del Laboratorio di zoologia generale e agraria della R. Scuola superiore d'agricoltura in Portici*, 22: 39-48.
- Grassé, P. P. 1986. *Termitologia*. Tome III. Comportement - Socialité - Ecologie - Evolution - Systématique. Masson, Paris. 715p.
- Hammer, O., D. A. Harper & P. D. Rian. 2001. Past: Palaeontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica*, 4 (1): 1-9.
- Hoyo M., T. Miura, K. Maekawa, R. Iwata, A. Yamane. 2001. *Termitaria* species (Termitariales, Deuteromycetes) found on Japanese termites (Isoptera). *Sociobiology* 38: 327–342.

- Khan, S. R. & J. W. Kimbrough. 1974. Taxonomic position of *Termitaria* and *Mattirorella* (entomogenous deuteromycetes). *American Journal of Botany* 61: 395–399.
- Kimbrough J. W., M. Lenz. 1982. New species of *Termitaria* (Termitariales, Deuteromycetes) on Australian termites (Isoptera). *Bot Gaz (Crawfordsville)* 143: 262–272.
- Sands, W. A. 1969. The association of termites and fungi. In: K. Krishna & F. Weesner (eds.), *Biology of Termites*. New York: Academic Press. v.1, pp. 495-524.
- Thaxter, R. 1895. Notes on Laboulbeniaceae, with descriptions of new species. *Proceedings of the American Academy of Arts and Sciences* 30: 467-48.
- Thaxter, R. 1920. Second note on certain fungus parasites of living insects. *Botanical Gazette* 69:1–27.
- Thorne, B. L. & J. W. Kimbrough. 1982. The impact of *Mattirorella crustosa* (Termitariales) on species of *Nasutitermes* (Isoptera: Termitidae) in Panama. *Mycologia*, 74 (2): 242-249
- Vega F. E. & Blackwell M. 2005. *Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution*. New York, Oxford University Press, Inc. 333pp
- Weir, A. & M. Blackwell. 2005. Fungal biotrophic parasites of insects and other Arthropods. In: F. E. Vega & M. Blackwell (Eds.), *Insect-Fungal Associations: ecology and evolution*. Oxford: Oxford University Press

APÊNDICE

Partes do corpo de *Rhinotermes marginalis* onde foram encontrados aderidos indivíduos de *Mattirolella silvestrii*

	Partes do corpo	Soma	Total
Cabeça	Pré-mento	14	
	Pós-mento	13	
	Antena esquerda	82	
	Antena direita	94	
	Palpo maxilar direito	13	
	Palpo maxilar esquerdo	34	
	Palpo labial direito	22	
	Palpo labial esquerdo	23	
	Cápsula cefálica	56	382
	Labro	15	
	Mandíbula esquerda	2	
	Mandíbula direita	1	
	Clípeo	1	
	Pós-clípeo	3	
	Maxila esquerda	4	
	Maxila direita	3	
	Gálea	2	
Pernas	Tíbia da perna anterior direita	44	
	Tíbia da perna anterior esquerda	54	
	Tíbia da perna mediana direita	54	
	Tíbia da perna mediana esquerda	48	
	Tíbia da perna posterior direita	71	
	Tíbia da perna posterior esquerda	67	
	Fêmur da perna anterior direita	34	
	Fêmur da perna anterior esquerda	48	
	Fêmur da perna mediana direita	45	
	Fêmur da perna mediana esquerda	45	844
	Fêmur da perna posterior direita	65	
	Fêmur da perna posterior esquerda	44	
	Tarso da perna anterior direita	32	
	Tarso da perna anterior esquerda	17	
	Tarso da perna mediana direita	21	
	Tarso da perna mediana esquerda	24	
	Tarso da perna posterior direita	47	
Tarso da perna posterior esquerda	50		
Coxa da perna anterior direita	6		

	Coxa da perna anterior esquerda	4	
	Coxa da perna mediana direita	5	
	Coxa da perna mediana esquerda	3	
	Coxa da perna posterior direita	5	
	Coxa da perna posterior esquerda	1	
	Trocanter da perna anterior direita	2	
	Trocanter da perna anterior esquerda	3	
	Trocanter da perna mediana direita	2	
	Trocanter da perna mediana esquerda	2	
	Trocanter da perna posterior esquerda	1	
	<hr/>		
	Pronoto	44	
	Mesonoto	14	
	Metanoto	17	
	Prosterno	5	
	Metasterno	4	
Tórax sem pernas	Propleura direita	3	100
	Propleura esquerda	1	
	Mesopleura direita	1	
	Mesopleura esquerda	5	
	Metapleura direita	1	
	Esclerito lateral cervical direito	2	
	Esclerito lateral cervical esquerdo	3	
	<hr/>		
Abdome	Dorsal	365	
	Ventral	199	565
	Cérco direito	1	
	Total geral	1891	