
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(ZOOLOGIA)

COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM CUPINS COM DIFERENTES
NIDIFICAÇÕES

LUIZA HELENA BUENO DA SILVA

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Zoologia).

Rio Claro
Agosto - 2017

595.736 Silva, Luiza Helena Bueno da
S586c Comportamento higiênico em cupins com diferentes
nidificações / Luiza Helena Bueno da Silva. - Rio Claro, 2017
77 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista,
Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Ana Maria Costa Leonardo

1. Térmita. 2. *Cryptotermes brevis*. 3. *Coptotermes gestroi*.
4. *Cornitermes cumulans*. 5. Manejo de cadáver. 6. Isoptera. I.
Título.

LUIZA HELENA BUENO DA SILVA

**COMPORTAMENTO HIGIÊNICO EM CUPINS COM
DIFERENTES NIDIFICAÇÕES**

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração: Zoologia).

Orientadora: PROF^a. DR^a. ANA MARIA COSTA LEONARDO

Rio Claro
2017

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Comportamento higiênico em cupins com diferentes nidificações

AUTORA: LUIZA HELENA BUENO DA SILVA

ORIENTADORA: ANA MARIA COSTA LEONARDO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (ZOOLOGIA), pela Comissão Examinadora:



Profa. Dra. ANA MARIA COSTA LEONARDO
Departamento de Biologia / Instituto de Biociências de Rio Claro - SP



Profa. Dra. MARIA SANTINA DE CASTRO MORINI
Núcleo de Ciências Ambientais / Universidade de Mogi das Cruzes



Prof. Dr. IVES HAIFIG
Departamento de Biologia / Pós-doutorando do depto de Biologia, IB, Rio Claro

Rio Claro, 03 de agosto de 2017

À Isabel e João, dedico.

Agradecimentos

Felizmente, tive uma maravilhosa rede de colaboração no desenvolvimento e elaboração deste trabalho. Trabalho este que se faz solitariamente, porém bem acompanhado. Por isso, tenho muito a agradecer àqueles que estiveram comigo e me auxiliaram nessa jornada.

Aos meus pais pelo apoio, carinho e encorajamento. À minha mãe, Isabel, por ser minha inspiração e minha força, por estar ao meu lado. Ao meu pai, João, por me incentivar a seguir sempre em frente, pelo suporte e ânimo.

Ao Lucas, pelo companheirismo, apreço, otimismo, sagacidade e por seu amor pela Ciência. À minha orientadora Ana Maria, pela dedicação, atenção, pelo incansável ânimo e por todos seus ensinamentos.

À Célia, por me aconselhar e apoiar nas questões científicas e por me acolher sempre que precisei. Por me ajudar com suas mãos, mente e coração.

À Vanelize, por ser a companhia mais maravilhosa, por sempre estar disposta a ajudar, não apenas nas questões acadêmicas e científicas, mas na vida. Você é uma grande cientista.

Ao Sérgio Pascon, pela disposição em me ajudar no trabalho pesado e, sobretudo, por me lembrar de que o conhecimento é criado e transmitido por meios formais e informais.

À Lara, pelo bom humor, alegria e disposição em auxiliar.

Ao Laboratório de Cupins, seus membros atuais e aqueles que já seguiram seus caminhos, com os quais pude aprender muito e me desenvolver em diversos aspectos da vida.

Ao professor Silvio Govone, pelas orientações nas análises estatísticas.

À professora Sulene, pelas orientações metodológicas.

A todos os professores e profissionais com quem tive contato e que compartilharam conhecimento comigo nestes dois anos, nas disciplinas, no estágio docência ou em outros momentos.

Ao Danilo, pela sinceridade, amizade e carinho de sempre.

Aos queridos Juliano, André, Daniel e Arthur por serem meu outro lar.

Ao CBI2010, mesmo estando longe, são importantes pra mim.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro.

Resumo

A presença de cadáveres no interior dos ninhos dos insetos sociais pode propiciar a contaminação com patógenos e prejudicar a integridade da colônia. O comportamento higiênico frente a cadáveres é imprescindível na manutenção da homeostase do ninho, mas em cupins ainda é pouco conhecido. Assim, o objetivo do presente trabalho foi estudar o comportamento higiênico diante de cadáveres de diferentes origens em três espécies de cupins com distintos tipos de nidificação. O cupim de madeira seca *Cryptotermes brevis* vive no interior do próprio alimento, o cupim *Cornitermes cumulans* constrói ninhos epígeos e o cupim *Coptotermes gestroi* é subterrâneo e constrói ninhos polidômicos. Diferentes bioensaios foram realizados com colônias de *C. brevis* e *C. cumulans*, nas quais foram introduzidos cadáveres de operários da mesma colônia, de outra colônia e de outra espécie. Adicionalmente, bioensaios foram realizados com subcolônias de *C. gestroi* (grupos de 300 operários e 15 soldados), nas quais foram inseridos cadáveres de operários e soldados da mesma colônia, de outra colônia e de outra espécie mortos recentemente e há 24 horas. Os bioensaios foram filmados e as respostas comportamentais dos indivíduos próximos aos cadáveres foram registradas. O repertório comportamental de *C. brevis* diante de cadáveres incluiu antenação, agonismo, alarme, recuo, *grooming* e consumo dos mesmos. Ninfas e falsos-operários de *C. brevis* consumiram os cadáveres, independentemente, da origem dos mesmos, mas evitaram a ingestão das partes quitinosas da cabeça. Nesta espécie, o consumo de cadáveres, além de desempenhar função higiênica, parece ser uma estratégia de aquisição de nitrogênio e água. O casal real das colônias de *C. brevis* observadas não participou do comportamento higiênico. O repertório comportamental de *C. cumulans* incluiu diferentes atividades, tais como: antenação, agonismo, alarme, recuo, *grooming*, deposição de material fecal, enterro com solo e transporte do cadáver para o ninho. Nesta espécie, corpos de origem interespecífica e intercolonial foram cobertos com solo após *grooming*. Corpos de companheiros de ninho foram enterrados (60% das repetições), carregados para o ninho (30%) ou ignorados após serem submetidos ao *grooming* (10%), o que indica uma plasticidade comportamental em *C. cumulans*. Em subcolônias de *C. gestroi* o repertório comportamental incluiu atividades como: antenação, recuo, *grooming*, agonismo, alarme, deposição de solo e consumo integral ou parcial do cadáver. Soldados de grupos de *C. gestroi* não consumiram ou enterraram cadáveres. Corpos de operários de diferentes origens foram discriminados por subcolônias de *C. gestroi*, o que não aconteceu com cadáveres de soldados com tempo de *post-mortem* maior. Cadáveres de cupins de outras espécies e de outras

colônias foram enterrados após *grooming* por grupos de *C. gestroi*, porém companheiros de ninho foram preferencialmente canibalizados. O caráter higiênico do comportamento de *grooming* em cadáveres juntamente com o isolamento físico por meio do enterro dos mesmos com solo colabora para a não dispersão de patógenos entre membros da colônia. Os resultados do presente trabalho mostram que os cupins realizam o comportamento higiênico em cadáveres de térmitas de diferentes origens, contudo este processo foi mais simples em *C. brevis*, cupim com nidificação do tipo “uma peça”. Nos cupins “múltiplas peças” tais como *C. gestroi* e *C. cumulans*, o comportamento higiênico foi mais complexo, com recrutamento de indivíduos, mostrando que o manejo de cadáveres é essencial para o desenvolvimento e homeostase destes ninhos.

Palavras-chave: *Cryptotermes brevis*, *Coptotermes gestroi*, *Cornitermes cumulans*, manejo de cadáver, canibalismo, *grooming*, Isoptera

Abstract

The presence of dead individuals inside nests of social insects can be a risk of contamination with pathogens and damage the integrity of the colony. The hygienic behavior towards corpses is essential in maintaining nest homeostasis, but in termites it is still little known. Thus, the objective of the present study was to observe the hygienic behavior towards corpses from different origins in three species of termites with distinct types of nesting. The drywood termite *Cryptotermes brevis* lives inside its own food, *Cornitermes cumulans* builds mound nests and *Coptotermes gestroi* is a subterranean termite that builds polydomous nests. Different bioassays were performed with colonies of *C. brevis* and *C. cumulans*, in which corpses of workers of termites from the same colony, from another colony and from another species were introduced. Additionally, bioassays of subcolonies of *C. gestroi* were performed in which corpses of workers and soldiers from the same colony, from another colony and from another species freshly dead and dead for 24 hours were introduced. The bioassays were recorded and the behavioral responses from the different species were registered. The results showed that the behavioral repertoire of *C. brevis* towards corpses included: antenation, aggression, alarm, retreat, grooming and consumption. Nymphs and pseudergates of *C. brevis* consumed the corpses independently of their origin, but they avoided the chitinous parts of the head. In this species, consumption of dead individuals, besides performing a hygienic function, seems to be a strategy of nitrogen and water acquisition. The royal couple of *C. brevis* colonies observed did not participate of the hygienic behavior. The behavioral repertoire of *C. cumulans* towards corpses included activities, such as: antenation, aggression, alarm, retreat, grooming, deposition of fecal material, entombment and transport of corpse to the nest. In this species, inter-specific and inter-colonial corpses were covered with soil after being groomed. Nestmate corpses were entombed (60% of replications), transported to the nest (30%) or ignored after being submitted to grooming (10%), which indicates the behavioral plasticity of the *C. cumulans* species. In subcolonies of *C. gestroi* the behavioral repertoire included activities such as: antenation, retreat, grooming, aggression, alarm, deposition of soil, integral or partial consumption of corpses. Soldiers of *C. gestroi* subcolonies never consumed or buried corpses. However, corpses of workers from different origins were discriminated by *C. gestroi* subcolonies, which did not occur with corpses of soldiers with longer period of post-mortem. Termite corpses from another species or from another colony were buried after being groomed by *C. gestroi* groups, but nestmate corpses were preferably cannibalized. The hygienic character of grooming behavior in corpses along

with the physical isolation through entombment with soil contributes to the non-dispersion of pathogens among colony members. The results of the present study indicate that termites perform hygienic behavior in termite corpses from different origins, however, this process was less elaborate in *C. brevis*, one-piece nesting termite. In multiple-pieces nesting termites, such as *C. gestroi* and *C. cumulans*, the hygienic behavior was more complex, with recruitment of individuals, showing that the management of corpses is essential for the development and homeostasis of the termite nests.

Key-words: *Cryptotermes brevis*, *Coptotermes gestroi*, *Cornitermes cumulans*, corpse management, cannibalism, Isoptera

SUMÁRIO

Resumo	6
Abstract	8
1. Introdução Geral	12
1.1 Revisão Bibliográfica	13
2. Objetivos	16
CAPÍTULO I – “Comportamento higiênico em colônias de <i>Cryptotermes brevis</i> (Isoptera, Kalotermitidae) e <i>Cornitermes cumulans</i> (Isoptera, Termitidae)”	17
Resumo	18
1. Introdução	20
2. Material e Métodos	23
2.1 Preparação dos cadáveres	23
2.2 Bioensaios com <i>Cryptotermes brevis</i>	23
2.3 Bioensaios com <i>Cornitermes cumulans</i>	26
3. Resultados	29
3.1 Bioensaios com <i>Cryptotermes brevis</i>	29
3.2 Bioensaios com <i>Cornitermes cumulans</i>	32
4. Discussão	39
5. Referências Bibliográficas	45
CAPÍTULO II – “Manejo de cadáveres em grupos de forrageiros do cupim subterrâneo <i>Coptotermes gestroi</i> (Isoptera, Rhinotermitidae)”	50
Resumo	51
1. Introdução	52
2. Material e Métodos	54
3. Resultados	57
3.1 Cadáveres com diferentes tempos <i>post-mortem</i>	58
3.2 Cadáveres de diferentes origens	59
3.3 Cadáveres de operários e soldados	59
4. Discussão	65
5. Referências Bibliográficas	70

3. Conclusões	73
4. Referências Bibliográficas	74

1. Introdução Geral

Os cupins são insetos eussociais e estão agrupados na infraordem Isoptera (ENGEL, 2011, KRISHNA et al., 2013). De acordo com Wilson (1971), insetos eussociais apresentam as seguintes características: sobreposição de gerações dentro de uma mesma colônia, na qual os descendentes ajudam nas tarefas coloniais; membros que auxiliam no cuidado com os jovens; e divisão de tarefa reprodutiva, com indivíduos estéreis trabalhando em benefício de reprodutores férteis.

Cupins são insetos importantes do ponto de vista ecológico, sendo que a maioria das espécies é encontrada em regiões tropicais. Neste ambiente, os térmitas desempenham funções de decompositores e engenheiros dos ecossistemas, pois podem estruturar fisicamente o local que habitam por meio da produção de estruturas biogênicas (BIGNELL; EGGLETON, 2000; SUGIMOTO et al., 2000; JOUQUET et al., 2006).

Os ninhos de cupins apresentam grande variedade de arquiteturas e podem atingir grandes tamanhos. Além disso, os ninhos constituem um sistema fechado com mínimas conexões com o ambiente exterior, garantindo assim, um ambiente críptico (JONES et al., 1994; NOIROT; DARLINGTON, 2000). A diversidade dos ninhos está relacionada com a evolução da vida social e também com respostas adaptativas a forças seletivas, em especial, o estabelecimento de um microclima diferenciado e defesa contra predação (NOIROT; DARLINGTON, 2000). Deste modo, estes insetos são notáveis, não apenas pela construção de seus ninhos, como também pela higienização dos mesmos através do manejo de cadáveres e por suas estratégias de resistência a patógenos (CHOUVENC et al., 2009; SUN; ZHOU, 2013).

O comportamento higiênico é essencial para a adaptação dos insetos sociais, principalmente, para aqueles que apresentam colônias dispostas em ninhos fechados, como os cupins. A presença de indivíduos mortos no interior do ninho pode representar um risco potencial de propagação de patógenos. Assim, o comportamento higiênico tem importância fundamental para a manutenção da saúde da colônia. Para isto, os cupins desenvolveram um sofisticado repertório comportamental que se inicia com o reconhecimento do indivíduo morto (NEOH et al., 2012; SUN et al., 2013; SUN; ZHOU, 2013).

1.1 Revisão Bibliográfica

Atualmente, os cupins estão incluídos na ordem Blattaria, infraordem Isoptera, a qual congrega nove famílias: Termitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae, Kalotermitidae, Hodotermitidae, Mastotermitidae, Archotermopsidae, Stolotermidae, Stylotermitidae, que incluem 354 gêneros e 3144 espécies descritas (ENGEL et al., 2009; KRISHNA et al., 2013; CONSTANTINO, 2017). De acordo com Korb (2008), os cupins podem ser classificados em dois grupos baseado em sua ecologia e, mais precisamente, de acordo com seus hábitos alimentares e seus ninhos: 1) Cupins com ninhos “uma peça” são aqueles que vivem em um pedaço de madeira que lhes servem tanto de abrigo como fonte alimentar e 2) Cupins com ninhos “múltiplas peças” são aqueles que têm ninhos bem definidos e forrageiam longe dos mesmos. Entre os primeiros estão incluídos a família Kalotermitidae e *Prorhinotermes* que é um gênero de Rhinotermitidae e, entre os últimos, os Mastotermitidae, a maioria das espécies de Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae.

O comportamento higiênico é imprescindível para os insetos sociais, uma vez que mantém seus ninhos higienizados e evita a propagação de patógenos na colônia. Para isto, estes insetos desenvolveram um complexo sistema de manejo de cadáveres de diferentes origens, tempos de *post-mortem* e estado de infecção (SPIVAK et al., 2003; NEOH et al., 2012). O processo de higienização do ninho inclui diferentes comportamentos desempenhados pelos insetos, como por exemplo, evitar o contato com o cadáver, remoção do cadáver, ingestão do cadáver e cobertura do mesmo com solo ou outro material. A maioria das espécies de formigas remove os cadáveres para fora dos ninhos depositando-os em pilhas e, posteriormente, os carregam para câmaras especiais. Abelhas removem de suas colônias os cadáveres de companheiras intracoloniais. Cupins, por sua vez, exibem uma complexa gama de comportamentos que incluem evitar contato com o cadáver, canibalismo, remoção e cobertura do mesmo (HOWARD; TSCHINKEL, 1976; ROSENGAUS; TRANIELLO, 2001; SU, 2005). E embora os componentes específicos deste comportamento sejam únicos em cada grupo, a evolução de um sistema de manejo de cadáveres é uma característica compartilhada de eussocialidade entre os insetos sociais (SUN; ZHOU, 2013).

Os indivíduos de colônias de insetos sociais precisam fazer a distinção entre indivíduos mortos e vivos antes de iniciar o comportamento higiênico. Este reconhecimento é realizado por meio de pistas nos cadáveres, incluindo sinais químicos e táteis. O reconhecimento através de sinais químicos ocorre devido ao acúmulo de substâncias *post-*

mortem ou até pela perda de substâncias químicas vitais nos cadáveres, sendo comum em diversos insetos o acúmulo de ácidos graxos insaturados após a morte. Entre estes ácidos estão o ácido oleico e o linoleico. De acordo com Wilson (1985) duas espécies de formiga, *Pogonomyrmex badius* e *Solenopsis saevissima*, reconhecem indivíduos mortos devido à emissão de ácidos graxos, especialmente ácido oleico. Estudos com outras espécies de formigas, assim como abelhas e cupins corroboraram a hipótese de “ácido graxo como aviso de morte” (HASKINS; HASKINS, 1974; HOWARD; TSCHINKEL, 1976; VISSCHER, 1983; WILSON, 1985; YAO et al., 2009; CHOUVENC et al., 2012; ULYSHEN; SHELTON, 2012). No entanto, o inverso de um aviso de morte foi encontrado em formigas argentinas *Linepithema humile* (anteriormente *Iridomyrmex humilis*). Choe et al. (2009) observaram a redução de sinais químicos vitais presentes na cutícula nos cadáveres elicitou respostas de comportamento higiênico destas formigas. Estes sinais químicos foram identificados como dolicolial e iridomirmecina, que são iridoides pertencentes ao grupo dos monoterpênicos.

O comportamento higiênico em cupins tem sido estudado como parte de esforços para refinar as táticas de controle de pragas (KRAMM et al., 1982; SU, 2005; CHOUVENC; SU, 2010). Remmen e Su (2005) investigaram o comportamento de *Coptotermes formosanus*, um cupim subterrâneo praga, durante o forrageamento e observaram que devido ao contato físico com inseticidas sintéticos, incluindo fipronil e tiametoxam, alguns indivíduos desta espécie morreram. Estes cadáveres contaminados com inseticidas foram isolados do resto da colônia por meio de barreiras construídas pelos operários. O comportamento de cobrir os mortos (enterrar) também foi observado em uma espécie do gênero *Reticulitermes*, quando contaminada por *Metarhizium anisopliae*, um fungo entomopatógeno generalista e agente de controle biológico (KRAMM et al., 1982). Em *Reticulitermes*, os cupins isolaram os cadáveres infectados por fungo em uma placa utilizada no ensaio laboratorial (KRAMM et al., 1982), enquanto que em uma arena bidimensional os cupins da mesma espécie optaram por canibalizar os cadáveres expostos ao mesmo patógeno (CHOUVENC et al., 2008).

Recentemente, o interesse no estudo do comportamento higiênico em insetos sociais foi renovado, uma vez que este processo está relacionado à defesa da colônia contra microorganismos patógenos (CHOUVENC et al., 2012; ULYSHEN; SHELTON, 2012; NEOH et al., 2012; CHOUVENC; SU, 2012; LÓPEZ-RIQUELME; FANJUL-MOLES, 2013). Em *Pseudacanthotermes spiniger*, uma espécie de Macrotermitinae (Termitidae) que cultiva fungos, fêmeas sem asas enterram cadáveres de outras reprodutoras, o que resultou no isolamento físico destes cadáveres. Este isolamento reduz as chances de uma potencial

infecção de patógenos entre os indivíduos da colônia (CHOUVENC et al., 2012). Ulyshen e Shelton (2012) descreveram que cadáveres de besouros, formigas e companheiros de ninho elicitavam o comportamento de cobertura no cupim *Reticulitermes virginicus*. Além disso, esta resposta de cobertura não variou diante dos diferentes cadáveres. Neoh et al. (2012) sugeriram que as respostas dos cupins frente a indivíduos mortos variam entre as espécies de térmitas, e parecem estar associadas com o comportamento alimentar e ecologia de ninho. Comportamentos higiênicos são complexos, pois diferentes cadáveres elicitam diferentes respostas. De acordo com Sun e Zhou (2013) o cupim *Reticulitermes flavipes* responde à presença do cadáver minutos após a morte do indivíduo. Este comportamento não se modifica após períodos *post-mortem* mais longos. No entanto, *R. flavipes* exibe comportamentos diferentes frente a cupins mortos de diversas origens. No cupim *C. formosanus*, quando a mortalidade induzida pelo fungo *M. anisopliae* foi baixa, os operários apresentavam comportamento de canibalismo frente aos cadáveres. Enquanto que quando a mortalidade foi alta, a resposta predominante dos operários foi cobrir os mortos, ou seja, enterrá-los (CHOUVENC; SU, 2012). Respostas de comportamento higiênico também podem variar entre espécies dependendo do contexto social e arranjo experimental. Na formiga *Pogonomyrmex badius*, o ácido oleico elicitou o comportamento higiênico quando a principal atividade em uma colônia era coletar lixo ou trabalhar na manutenção do ninho. Em contraste, respostas de comportamento higiênico não foram provocadas quando os indivíduos estavam em sua maioria envolvidos em forrageamento (GORDON, 1983).

Cryptotermes brevis (Walker, 1853) é uma importante espécie praga exótica no Brasil. Apresenta o ninho do tipo “uma peça”, ou seja, nidifica no próprio recurso alimentar. Além disso, este cupim é bastante comum em regiões urbanas do Brasil, onde causam grande prejuízo econômico (COSTA-LEONARDO, 2002; ROMAGNAMO; NAHUZ, 2006). *Coptotermes gestroi* (Wasmann, 1896) é uma importante espécie-praga conhecida como cupim subterrâneo asiático e constrói ninhos separados de suas fontes alimentares, caracterizando assim ninho do tipo “múltiplas peças” (SCHEFFRAHN; SU, 2000; COSTA-LEONARDO, 2002; JENKINS et al., 2007; EVANS, et al., 2013). *Cornitermes cumulans* Kollar, 1832 é um cupim neotropical muito comum em pastagens do Brasil, mas ainda pouco conhecido do ponto de vista comportamental (COSTA-LEONARDO, 2002). Esta espécie constrói ninhos epígeos, se alimenta de gramíneas e ocorre comumente em pastagens, culturas e cerrado do Brasil, Paraguai e Argentina (ARAÚJO, 1970; REDFORD, 1984; COSTA-LEONARDO, 2005).

2. Objetivos

O objetivo principal da presente pesquisa foi estudar o comportamento higiênico frente a cadáveres coespecíficos ou não, em três espécies de cupins: *Cryptotermes brevis*, *Coptotermes gestroi* e *Cornitermes cumulans* visando contribuir com o conhecimento básico da biologia destes insetos.

Capítulo I

**“Comportamento higiênico nos cupins *Cryptotermes brevis*
(Isoptera, Kalotermitidae) e *Cornitermes cumulans*
(Isoptera, Termitidae)”**

Resumo

O comportamento higiênico em cadáveres é essencial para adaptação dos insetos sociais. Indivíduos mortos dentro do ninho podem colocar em risco membros da colônia, uma vez que podem promover a contaminação com patógenos oportunistas. Por isso, a profilaxia do ninho assegura a longevidade e sucesso da colônia. Assim, o objetivo do presente trabalho foi estudar e comparar o comportamento higiênico diante de cadáveres de diferentes origens em duas espécies de cupins com distintos tipos de nidificação: *Cryptotermes brevis* e *Cornitermes cumulans*. O cupim de madeira seca *C. brevis* tem populações pequenas e vive no interior da própria fonte alimentar, geralmente um móvel, e seu ninho é do tipo “única peça”. *C. cumulans*, por sua vez, constrói ninhos epígeos e forrageia fora do mesmo, sendo seu ninho do tipo “múltiplas peças”. Diferentes bioensaios foram realizados com ambas as espécies de Isoptera, nas quais foram inseridos cadáveres de operários de cupins da mesma colônia, de outra colônia e de outra espécie. As respostas comportamentais frente aos cadáveres foram filmadas e a frequência avaliada. Os resultados mostraram que o repertório comportamental de *C. brevis* diante de cadáveres incluiu antenação, agonismo, alarme, recuo, *grooming* e consumo dos mesmos. Ninfas e falsos-operários de *C. brevis* consumiram os cadáveres independentemente da origem dos mesmos e evitaram a ingestão das partes quitinosas da cabeça. Portanto, nesta espécie, o consumo tem função higiênica, mas também parece ser uma estratégia de aquisição de nitrogênio e água. Adicionalmente, o casal real nos diferentes testes com *C. brevis* não participou do comportamento higiênico. Em colônias de *C. cumulans* o repertório comportamental incluiu: antenação, *grooming*, agonismo, alarme, recuo, deposição de material fecal, enterro com solo e transporte do cadáver para o ninho. Corpos de origem interespecífica e intercolonial foram cobertos com solo após *grooming*. Cadáveres de companheiros de ninho foram enterrados (60% das repetições), carregados para o ninho (30%) ou ignorados após serem submetidos ao *grooming* (10%), o que mostra plasticidade comportamental em *C. cumulans*. O comportamento de *grooming* em cadáveres juntamente com o isolamento físico por meio do enterro dos mesmos com solo colabora para a não dispersão de patógenos entre membros da colônia. Os resultados do presente trabalho mostram que os cupins realizam o comportamento higiênico em cadáveres de térmitas de diferentes origens, contudo este processo variou nas duas espécies estudadas. Cupins com ninhos “múltiplas peças”, como de *C. cumulans* apresentaram comportamento higiênico mais complexo e com repertório mais amplo, inclusive com recrutamento de indivíduos.

Palavras-chave: manejo de cadáveres, profilaxia do ninho, térmitas, canibalismo, insetos sociais

1. Introdução

O comportamento higiênico em cadáveres é considerado uma importante característica para adaptação e sucesso dos insetos sociais. A presença de indivíduos mortos representa um risco para a saúde da colônia, uma vez que pode propiciar a ocorrência e desenvolvimento de patógenos oportunistas (CREMER et al., 2007). Os aspectos comportamentais do manejo de cadáveres exercidos pelos insetos sociais são conhecidos há muito tempo (WHEELER, 1910; WILSON et al., 1958; VISSCHER, 1983) e o interesse pela temática foi renovado recentemente (RENUCCI et al., 2010; DIEZ et al., 2013). No entanto, este tópico foi pouco explorado em cupins (NEOH et al., 2012; ULYSHEN; SHELTON, 2012), e ainda menos, se forem considerados os estudos com colônias destes insetos (CHOUVENC et al., 2012; SUN et al., 2013).

Cryptotermes brevis (Walker, 1853) é um cupim de madeira seca pertencente à família Kalotermitidae que é exótico no Brasil. Esta espécie basal é considerada uma praga de distribuição global e pode ser encontrada infestando edifícios, mobiliários e objetos de madeira manufaturados, inclusive peças e monumentos históricos. Além disso, a espécie apresenta alta ocorrência em áreas tropicais e subtropicais (EDWARDS; MILL, 1986; SCHEFFRAHN; SU, 1999, COSTA-LEONARDO, 2002).

No Brasil, *C. brevis* tem ampla distribuição e é bastante comum em regiões urbanas, onde causa grande prejuízo econômico (COSTA-LEONARDO, 2002; ROMAGNAMO; NAHUZ, 2006). Esta espécie apresenta ninho do tipo “uma peça”, ou seja, nidifica no próprio recurso alimentar. Deste modo, este cupim escava galerias no interior de madeiras que habita e não constrói túneis ou ninhos externos. As infestações são detectáveis devido à presença de material fecal sólido expulso das galerias do ninho (ZIMMERMAN, 1948). As colônias de *C. brevis* desenvolvem-se em madeiras com umidade abaixo de 30% e, assim, os cupins desta espécie retiram umidade do próprio alimento (BRAZOLIN et al., 2001) e a conservam por meio da produção de fezes secas. As colônias de *C. brevis* podem viver muito próximas umas das outras e é possível encontrar uma peça de madeira infestada por várias colônias (COSTA-LEONARDO, 2002). Na literatura, há registros de 20 colônias vivendo muito próximas em uma mesma porta de uma edificação (SCHEFFRAHN; SU, 1999).

Nas colônias de cupins de madeira seca existem: reprodutores (rei, rainha ou neotênicos), falsos-operários e soldados; ninfas, alados e jovens também podem estar presentes (McMAHAN, 1962; COSTA-LEONARDO, 2002). Falsos-operários são indivíduos

imaturos que desempenham funções de operários e apresentam totipotência, isto é, por meio de mudas podem se desenvolver em soldados, em reprodutores alados que fundarão uma nova colônia, em reprodutores de substituição (neotênicos) ou continuarem como falsos-operários (KORB et al., 2009).

O desenvolvimento de uma colônia de *C. brevis* é lento. No primeiro ano da colônia, esta pode ser constituída por 3 a 4 indivíduos (NUTTING, 1969). O primeiro soldado é produzido somente no segundo ou terceiro ano após a formação da colônia. Para atingir a maturidade e produzir seus primeiros indivíduos alados, uma colônia demora cerca de 5 anos e pode viver mais de 10 anos (COSTA-LEONARDO, 2002). A população de uma colônia de *C. brevis*, geralmente, é constituída por centenas de indivíduos, mas quando a madeira do ninho já foi quase totalmente consumida, só são encontradas ninfas, que neste caso vão originar os reprodutores alados que sairão em revoada para colonizar novas madeiras (COSTA-LEONARDO; CASARIN, 2013).

Cornitermes cumulans (Kollar, 1832) é um cupim Neotropical pertencente à família Termitidae que ocorre comumente em pastagens, culturas e cerrado do Brasil, Paraguai e Argentina (ARAÚJO, 1970; REDFORD, 1984). No Brasil, é frequentemente encontrado nas regiões Sul e Sudeste e no Mato Grosso do Sul (CANCELLO, 1989) e, muitas vezes, também em áreas urbanas (COSTA-LEONARDO, 2005). Esta espécie é mais derivada e pode ser considerada espécie-chave devido a sua abundância e impacto sobre o ambiente, uma vez que várias espécies de cupins e outros animais podem ser inquilinos de seus ninhos (REDFORD, 1984, CONSTANTINO, 2005).

A espécie *C. cumulans* constrói ninhos em montículo que podem atingir tamanhos consideráveis. O ninho apresenta formato cônico irregular e é formado por duas partes distintas: a parte interna, que é pouco resistente, com coloração escura, textura lisa e com bastante celulose e a parte externa, que é composta por uma matriz extremamente dura de solo que contém bastante argila (TORALES, 1982, REDFORD, 1984, COSTA-LEONARDO, 2005). Nestas duas partes há galerias extensas, sendo que esta espécie não constrói uma câmara especial para os reprodutores. De acordo com Cole-de-Negret e Redford (1984), *C. cumulans* alimenta-se de gramíneas, as quais são cortadas em pedaços e carregadas para o ninho. Os autores observaram que os operários desta espécie coletam maiores quantidades de gramíneas mortas do que de vivas.

Nas colônias de *C. cumulans*, geralmente, existe um casal real e a rainha é fisogástrica. Estimativas das populações desta espécie variaram de 375.000 a 1.028.000 indivíduos (PEREIRA da SILVA et al., 1979).

O comportamento higiênico na família Kalotermitidae nunca foi estudado, contudo, observações de canibalismo de reprodutores supernumerários nas colônias de *C. brevis* é um fato conhecido (LENZ et al., 1985). Na família Termitidae, por sua vez, existem relatos de comportamento higiênico em fêmeas desaladas de *Pseudacanthotermes spiniger* que enterraram os cadáveres de companheiras, visando a higienização do local (CHOUVENC et al., 2012). Experimentos de laboratório para estudar a competição por território em dois termitídeos Neotropicais, *C. cumulans* e *Procornitermes araujoi*, mostraram que, após confronto, pode ocorrer a morte de indivíduos e os cupins usarem os cadáveres resultantes para bloquearem os túneis e afastarem a outra espécie (JOST et al., 2012). Portanto, evidências de comportamento higiênico nestas espécies de cupins existem, no entanto, falta um estudo sistemático com resultados que podem contribuir para a ampliação do conhecimento sobre esta temática.

Visando complementar estes dados, o objetivo do presente trabalho foi observar e comparar o comportamento higiênico frente a cadáveres em duas espécies de Isoptera: *Cryptotermes brevis* e *Cornitermes cumulans*, que possuem hábitos de nidificação bastante distintos.

2. Material e Métodos

2.1 Preparação dos cadáveres

No desenvolvimento dos bioensaios foram testados cadáveres de operários de cupins. A morte dos indivíduos foi realizada por congelamento a -6°C durante 20 minutos, em seguida, os cadáveres foram colocados em placa de Petri tampada disposta em sala com temperatura ambiente durante 30 minutos. Depois deste período, os cadáveres foram introduzidos nas arenas experimentais as quais foram utilizadas para o desenvolvimento dos bioensaios.

2.2 Bioensaios com *Cryptotermes brevis*

Dez colônias naturais de *Cryptotermes brevis* (Walker, 1853) foram extraídas de móveis infestados coletados na cidade de Rio Claro/SP com auxílio de martelo e formão. Não é possível determinar a idade destas colônias, mas em todas havia um soldado, o que indica que as mesmas tinham dois anos, no mínimo. Portanto eram colônias jovens. Uma amostra com características similares (subcolônias), isto é, contendo o casal de reprodutores, um soldado, falsos-operários e ninfas foi obtida de cada colônia. E o censo das mesmas consta na Tabela 1.

Cada subcolônia foi colocada em uma arena experimental constituída por um bloco de *Pinus* sp. (10 x 4,5 x 2,5 cm) com um desgaste central circular de 35 mm de diâmetro e 8 mm de profundidade coberto com uma lâmina de vidro (Figura 1). Este procedimento permite a visualização e filmagem da população amostrada utilizada nos bioensaios comportamentais. Após a transferência para a arena experimental, as subcolônias foram aclimatadas no escuro por um período de 48 horas antes do início dos testes (adaptado de PEDRO, 2012).



Figura 1 – *Cryptotermes brevis* em arena experimental de *Pinus* sp.

Tabela 1 – Censo das subcolônias de *Cryptotermes brevis* utilizadas nos bioensaios comportamentais.

Colônia	Rainha Primária	Rei Primário	Ninfas	Falsos-operários	Larvas	Soldado	Ovos	População Total
1	1	1	3	11	0	1	4	17
2	1	1	6	6	0	1	0	15
3	1	1	4	8	1	1	2	16
4	1	1	9	3	1	1	0	16
5	1	1	5	8	2	1	0	18
6	1	1	7	6	4	1	0	20
7	1	1	5	7	4	1	4	19
8	1	1	5	7	2	1	1	17
9	1	1	4	6	4	1	0	17
10	1	1	4	5	2	1	0	14

Para observar as respostas comportamentais diante de cadáveres de cupins de origens distintas, foram realizados três diferentes tratamentos de acordo com o tipo de cadáver: a) falsos-operários da mesma colônia (cadáveres intracoloniais); b) falsos-operários de outra colônia de *C. brevis* (cadáveres intercoloniais) e c) operários de outra espécie de cupim, neste caso, operários de *Coptotermes gestroi* (cadáveres interespecíficos). Todos os testes tiveram 10 repetições e cada teste foi iniciado com a introdução de um cadáver na arena experimental (câmara escavada). Todos os bioensaios foram gravados com câmara Sony HDR-CX130 full HD durante 15 minutos após a introdução do cadáver. Este período de tempo foi determinado

empiricamente após observações prévias do processo higiênico. Além disso, após 72 horas do início do experimento também foram realizadas observações e documentação dos cadáveres com câmera fotográfica sob estereomicroscópio.

O comportamento dos indivíduos de *C. brevis* próximos aos cadáveres bem como suas interações com o mesmo foi observado nas gravações dos bioensaios (totalizando 7,5 horas de filmagens). E deste modo, baseado em testes prévios, os seguintes comportamentos foram identificados e contabilizados: antenação, recuo (evitar confronto), agonismo, alarme, *grooming* e ingestão de cadáver (Tabela 2). Este último, também teve uma avaliação de sua duração. Devido à dificuldade em diferenciar o comportamento de *grooming* do comportamento de ingestão do cadáver, ambos foram analisados conjuntamente. No presente trabalho, quando indivíduos de colônias de *C. brevis* ingeriram cadáveres de cupins da mesma espécie, foi utilizado o termo canibalismo. E quando foram ingeridos cadáveres de outra espécie, o termo empregado foi consumo.

Tabela 2 – Repertório comportamental de interações entre indivíduos de subcolônias de *Cryptotermes brevis* e cadáveres de diferentes origens.

Comportamento	Definição
Antenação	Indivíduo utiliza suas antenas para tocar o cadáver
Recuo (evitar confronto)	Após realizar breve antenação no cadáver, o indivíduo se afasta do mesmo
Agonismo	Indivíduo ataca o cadáver utilizando mandíbulas
Alarme	Indivíduo realiza repetidos movimentos do corpo (<i>longitudinal oscillatory movement</i>)
Consumo	Indivíduo ingere partes do corpo do cadáver.
<i>Grooming</i>	Indivíduo limpa o cadáver

Para avaliação do consumo dos cadáveres, estes foram analisados 72 horas após o início dos experimentos. Para quantificar este consumo, foram atribuídas notas para as partes ausentes no cadáver. Deste modo, cada uma das seguintes partes: duas antenas, seis pernas, abdômen, tórax e cabeça danificada, recebeu um ponto se ingeridas totalizando, 11 pontos no máximo por cadáver.

Os dados das ocorrências dos comportamentos, anteriormente citados, assim como as notas de consumo de cadáver foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk. Como não apresentaram normalidade, foram analisados por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls, quando necessário, ou pelo teste de Mann-Whitney ($\alpha = 0,05$). As categorias comportamentais que não apresentaram nenhum registro não foram submetidas aos testes estatísticos.

2.3 Bioensaios com *Cornitermes cumulans*

Para o desenvolvimento destes bioensaios foram utilizados dois ninhos de *Cornitermes cumulans* Kollar, 1832 coletados no campus da UNESP Rio Claro e mantidos de acordo com o método utilizado no Laboratório de Cupins da UNESP Rio Claro (COSTA-LEONARDO et al., não publicado). Cada um destes ninhos foi colocado em uma caixa plástica retangular (53 x 37 x 34 cm) que continha solo esterilizado umedecido. A uma face desta caixa foi conectado um recipiente plástico (21 x 21 x 7,5 cm) por meio de um tubo plástico (diâmetro interno de 0,4 cm e comprimento de 12 cm). Este compartimento foi designado como a arena experimental onde todos os experimentos foram realizados. Esta arena foi parcialmente preenchida com alimento, neste caso, bagaço de cana-de-açúcar (Figura 2). Para evitar desenvolvimento de fungos, o bagaço de cana-de-açúcar foi previamente esterilizado em estufa a 60 °C por 48 horas. Os ninhos coletados foram mantidos em laboratório durante 3 semanas, no mínimo, para que os indivíduos realizassem a descoberta da arena de forrageamento e aclimatação. Neste período, os forrageiros marcaram o alimento e o fundo do recipiente com fezes e os cobriram com solo.

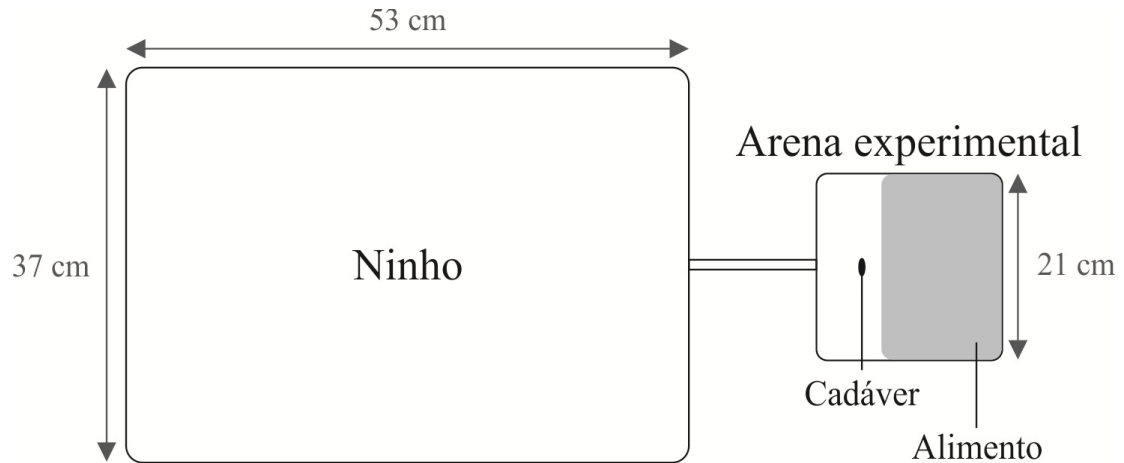


Figura 2 – Esquema da arena experimental utilizada com *Cornitermes cumulans*. Em cada repetição, um cadáver foi introduzido na região entre a abertura do tubo conector e o alimento na arena experimental.

Cadáveres de cupins de três diferentes origens foram utilizados nos bioensaios: a) operários da mesma colônia (intracoloniais); b) operários de outra colônia de *C. cumulans* (intercoloniais) e c) operários forrageiros de outra espécie, neste caso, *Coptotermes gestroi* (interespecíficos). Em cada repetição, a tampa da arena experimental foi delicadamente removida e com o auxílio de uma pinça um cadáver foi introduzido na região localizada entre a abertura do tubo conector e o alimento. Imediatamente, a arena experimental foi coberta para evitar distúrbios devido a correntes de ar. Cada tratamento teve 10 repetições e cada uma foi gravada por 20 minutos com câmara Sony HDR-CX130 full HD. Este período de tempo determinado empiricamente após observações prévias do processo higiênico.

Nos bioensaios foram observadas as atividades desenvolvidas pelos forrageiros próximos ao cadáver, bem como suas interações com o mesmo. Os comportamentos efetuados por operários e soldados de *C. cumulans* frente aos cadáveres foram identificados como: antenação, recuo, agonismo, *grooming*, alarme, deposição de fezes, deposição de solo e carregar o cadáver para o ninho (Tabela 3). Os comportamentos foram identificados e contabilizados, sendo que o comportamento de *grooming* também teve sua duração avaliada.

Os vídeos resultantes (totalizando 10 horas de filmagens) foram analisados utilizando o programa *Behavioral Observation Research Interactive Software* (BORIS v3.3, FRIARD; GAMBA, 2016). Os dados das ocorrências dos comportamentos anteriormente citados foram submetidos ao teste de normalidade de Shapiro-Wilk, uma vez que não apresentaram normalidade, foram analisados por meio do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (K-W), seguido pelo teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls, quando necessário, ou pelo teste

de Mann–Whitney ($\alpha = 0,05$). As categorias comportamentais que não apresentaram nenhum registro não foram submetidas aos testes estatísticos.

Tabela 3 – Repertório comportamental de interações entre indivíduos da colônia de *Cornitermes cumulans* e cadáveres de diferentes origens.

Comportamento	Definição
Antenação	Indivíduo utiliza suas antenas para tocar o cadáver
Recuo (evitar confronto)	Após realizar breve antenação no cadáver, o indivíduo retrocede rapidamente
Agonismo	Indivíduo ataca o cadáver utilizando suas mandíbulas
<i>Grooming</i>	Indivíduo realiza a limpeza do cadáver
Alarme	Indivíduo realiza repetidos movimentos na horizontal ou vertical (<i>longitudinal oscillatory movement</i> ou <i>vertical oscillatory movement</i>)
Deposição de fezes	Operário coloca uma gotícula de fezes sobre o cadáver
Deposição de solo	Operário coloca grãos de solo sobre o cadáver
Transporte do cadáver para o ninho	Operário agarra o cadáver com suas mandíbulas e o carrega para a câmara ninho

3. Resultados

3.1 Bioensaios com *Cryptotermes brevis*

Os resultados mostraram que a maior parte do repertório do comportamento higiênico observado em *C. brevis* foi executada por ninfas e falsos-operários. Os soldados participaram do mesmo realizando inspeção e agonismo em cadáveres de cupins intercoloniais e interespecíficos. Apesar de inspecionar os cadáveres intracoloniais, os soldados não atacaram estes corpos. O casal real não mostrou nenhuma participação na referida atividade.

Todos os cadáveres testados em experimentos com *C. brevis* foram consumidos, independentemente de sua origem. O comportamento higiênico realizado por falsos-operários, ninfas e soldados de *C. brevis* frente a cadáveres intracoloniais foi iniciado com a inspeção dos mesmos por meio de antenação. Em seguida, os indivíduos realizaram comportamento de alarme. Em 40% das repetições falsos-operários e soldados realizaram agonismo sobre os corpos. No final, os falsos-operários e ninfas canibalizaram os cadáveres.

Nos bioensaios com cadáveres intercoloniais e interespecíficos o comportamento higiênico também foi iniciado com a antenação dos mesmos por ninfas, falsos-operários e soldados. Em seguida, algumas ninfas e falsos-operários exibiram comportamento de recuo e agonismo. Os soldados mostraram agonismo somente sobre cadáveres interespecíficos. Durante o processo de higienização alguns indivíduos realizaram comportamento de alarme. Por fim, ninfas e falsos-operários consumiram os cadáveres.

O resultado do comportamento de antenação de *C. brevis* frente aos cadáveres de diferentes origens não apresentou diferença significativa ($H = 2,133$, $gl = 2$, $P = 0,344$, Kruskal-Wallis). Em todos os tratamentos, a antenação mostrou ser o comportamento com maior registro de frequência entre todos os comportamentos registrados ($46,9 \pm 5,3\%$ de todos os comportamentos exibidos nas repetições do tratamento com cadáveres interespecíficos, $38,8 \pm 7,1\%$ com cadáveres intercoloniais e $65,4 \pm 4,5\%$ com cadáveres intracoloniais). Além disso, o comportamento de alarme não diferiu significativamente diante de cadáveres de diferentes origens ($H = 5,9114$, $gl = 2$, $P = 0,052$, Kruskal-Wallis).

A análise dos resultados indicou que o comportamento agonístico, por sua vez, diferiu significativamente diante de cadáveres intra e intercoloniais ($H = 9,284$, $gl = 2$, $P = 0,0254$, Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls) e intra e interespecíficos ($P = 0,0036$, Student-Newman-Keuls) (Figura 3). Este comportamento foi registrado em 40% das

repetições com cadáveres intracoloniais, em 90% das repetições com cadáveres intercoloniais e em 100% com interespecíficos.

O resultado do comportamento de recuo indicou que falsos-operários e ninfas de *C. brevis* não recuraram diante de cadáveres intracoloniais. Além disso, a ocorrência deste comportamento diferiu significativamente frente a cadáveres intercoloniais e interespecíficos ($U = 3,477$, $P = 0,0005$, Mann-Whitney) (Figura 4). O tempo investido no *grooming* e na ingestão de cadáveres não diferiu significativamente entre os tratamentos ($H = 3,073$, $gl = 2$, $P = 0,251$, Kruskal-Wallis) (Figura 5). Em relação ao consumo dos cadáveres após 72 horas do início do experimento, os resultados mostram que houve diferença significativa frente a cadáveres intracoloniais e interespecíficos ($H = 8,355$, $P = 0,006$, Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls) e entre intercoloniais e interespecíficos ($P = 0,039$). Estes dados indicaram que os cadáveres intracoloniais foram consumidos mais rapidamente que os cadáveres intercoloniais e interespecíficos (Figura 6).

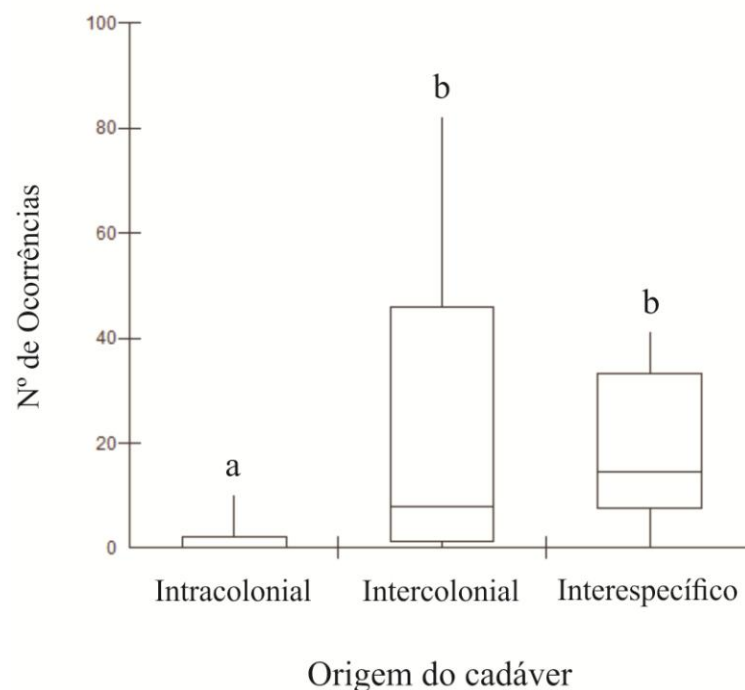


Figura 3 – Comparação do comportamento agonístico de *Cryptotermes brevis* frente a cadáveres de diferentes origens. Tratamentos com as mesmas letras não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$, Kruskal-Wallis com teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls).

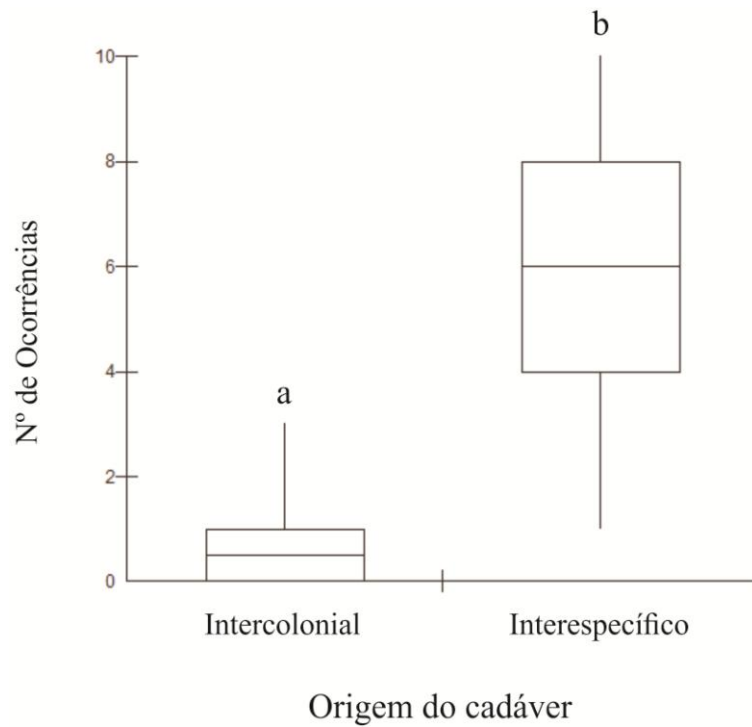


Figura 4 – Comparação do comportamento de recuo de *Cryptotermes brevis* frente a cadáveres de diferentes origens. Tratamentos com diferentes letras diferiram estatisticamente ($P = 0,0005$, Mann-Whitney).

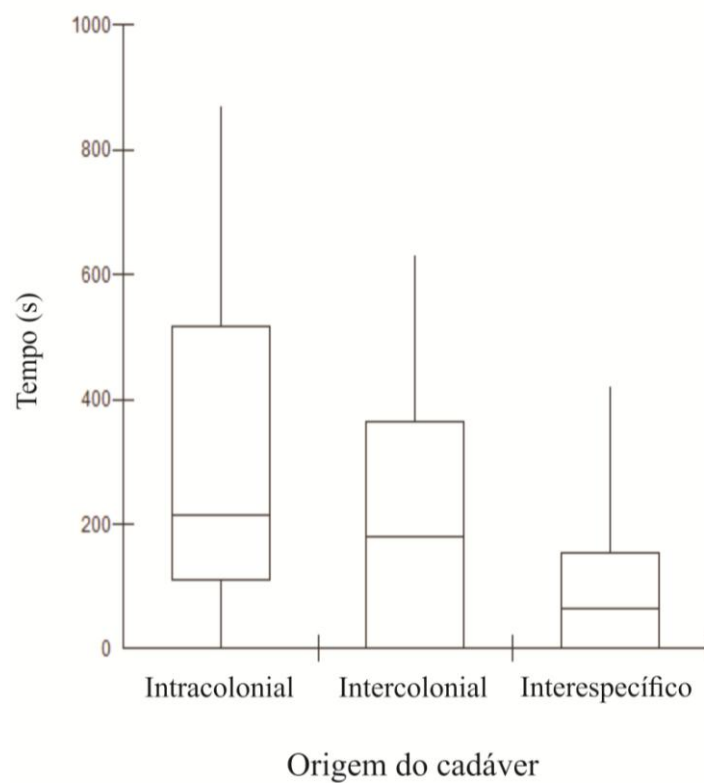


Figura 5 – Comparação do tempo investido no *grooming* e ingestão em cadáveres de diferentes origens por indivíduos de colônia de *Cryptotermes brevis*. Não houve diferença significativa entre os tratamentos ($P > 0,05$, Kruskal-Wallis).

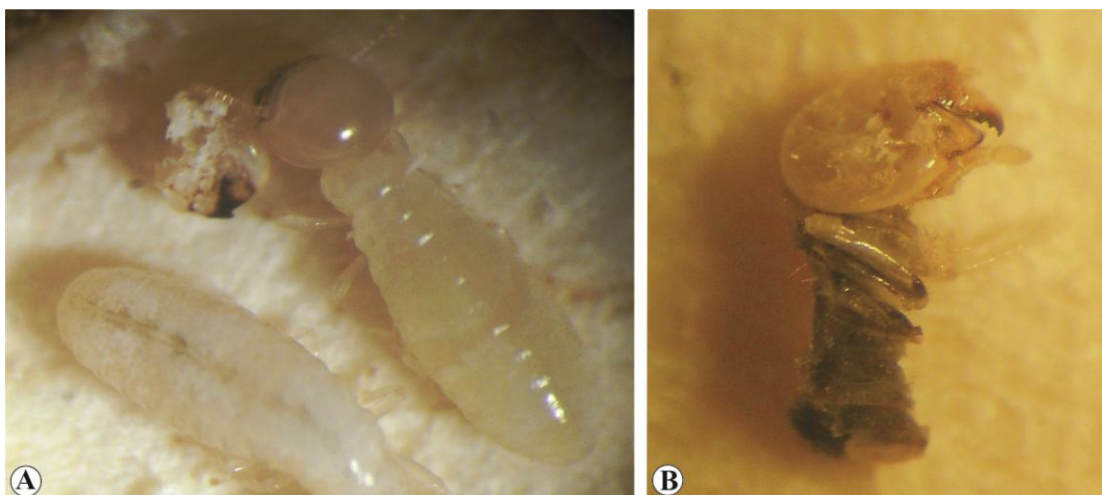


Figura 6 – Cadáveres em bioensaios com *Cryptotermes brevis*. A) Cabeça de cadáver de *C. brevis* intracolônial. B) Parte de cadáver de *Coptotermes gestroi* (interespecífico).

3.2 Bioensaios com *Cornitermes cumulans*

Operários e soldados de *Cornitermes cumulans* realizaram comportamento higiênico em cadáveres de cupins com diferentes origens. Os operários participaram ativamente, executaram inspeção e manejo dos cadáveres, os quais foram carregados para o ninho, enterrados ou ignorados, enquanto os soldados realizaram inspeção e agonismo nos corpos, além de permanecerem de guarda próximo à área em que cadáveres estavam sendo enterrados.

Nos bioensaios com *C. cumulans* foi observado que os cadáveres de origem interespecífica foram cobertos com solo pelos operários (Figura 7). Imediatamente após a introdução do cadáver na arena experimental, operários e soldados se aproximaram para a inspeção por meio de antenação. Diversos operários exibiram comportamento de recuo após realizar inspeção no cadáver. Em seguida, alguns operários e soldados realizaram agonismo sobre o cadáver. Alguns operários realizaram *grooming* no corpo. Cerca de 4 minutos depois da introdução do cadáver, a primeira gotícula de material fecal produzida por um operário foi depositada sobre o corpo. Esta marcação fecal não tinha local preferencial para ser depositada sobre o cadáver. Na sequência, aproximadamente 5 minutos após o início do experimento, alguns operários começaram a cobrir o cadáver com solo (disponível na arena experimental) e material fecal. E em duas ocasiões, foi observada a deposição de um fragmento de alimento (bagaço de cana-de-açúcar) sobre o cadáver. Em todo o processo alguns soldados e operários

realizaram comportamento de alarme, porém este foi mais frequente durante o processo de cobertura do cadáver.

Os cadáveres intercoloniais foram submetidos a um processo semelhante ao observado com cadáveres interespecíficos, os quais foram cobertos com solo. Os cadáveres intercoloniais foram inspecionados por soldados e operários e em 40% das repetições estes últimos recuaram. Além disso, em 40% destas repetições os operários realizaram comportamento agonístico. Após a inspeção, alguns operários realizaram *grooming* no cadáver. Depois das atividades descritas acima, isto é, cerca de 3 minutos após introdução do cadáver, o mesmo recebeu a primeira deposição de uma gotícula de material fecal por parte de um operário. Aproximadamente 1 minuto após este evento, os operários começaram a cobrir o cadáver, intermitentemente, com solo disponível na arena experimental e com material fecal. Durante todo o processo de manejo do cadáver alguns soldados e operários mostraram comportamento de alarme, porém este comportamento foi mais frequente durante o processo de cobertura do cadáver.

Operários de *C. cumulans* realizaram manejos diferentes diante de cadáveres intracoloniais. Sendo que em 30% das repetições os cadáveres foram rapidamente carregados por um operário para a câmara ninho. Em 10% das repetições os operários realizaram *grooming* no corpo, porém não o enterraram e também não o carregaram para a câmara ninho, abandonando-o. E em 60% das repetições os cadáveres foram cobertos com solo no local onde haviam sido introduzidos, após terem sofrido *grooming* e, deste modo, foram isolados fisicamente.

O resultado do comportamento exploratório de antenação realizado por alguns operários e soldados de *C. cumulans* não diferiu significativamente diante dos cadáveres de diferentes origens testados ($H = 5,7089$, $gl = 2$, $P = 0,0576$, Kruskal-Wallis). Os operários não recuaram quando encontraram cadáveres de companheiros de ninho. E este comportamento de recuo diferiu significativamente diante de cadáveres intercoloniais e interespecíficos ($U = 3,5907$, $P = 0,0003$, Mann-Whitney) (Figura 8). O resultado do comportamento agonístico em cadáveres apresentou diferença significativa frente a corpos de diferentes origens ($H = 24,075$, $gl = 2$, $P < 0,05$, Kruskal-Wallis) (Figura 9). Além disso, operários de *C. cumulans* não exibiram comportamento agonístico diante de corpos de companheiros de ninho, somente soldados o fizeram.

O tempo empregado no *grooming* de cadáveres por operários de *C. cumulans* apresentou diferença significativa somente entre cadáveres interespecíficos e intercoloniais (H

= 6,5213, $P = 0,0111$, Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Student-Newman-Keuls). Além disso, os dados mostraram que houve uma grande variação no tempo investido no *grooming* de cadáveres intracoloniais nas diferentes repetições (Figura 10).

Em relação à marcação dos cadáveres com gotículas de fezes, não houve diferença significativa entre as diferentes origens de corpos ($H = 5,4474$, $gl = 2$, $P = 0,0656$, Kruskal-Wallis). Para realizar esta deposição, o operário rotacionou o corpo e apontou a extremidade do abdômen e expeliu uma gotícula fecal em local não definido do cadáver. O comportamento de deposição de solo sobre o cadáver, por sua vez, mostrou diferença significativa entre todos os tratamentos ($H = 19,311$, $gl = 2$, $P = 0,0001$, Kruskal-Wallis). Os testes *post-hoc* indicaram diferença estatística frente a cadáveres intra e intercoloniais ($P < 0,0001$, teste de Student-Newman-Keuls), intracoloniais e interespecíficos ($P = 0,0308$, Student-Newman-Keuls) e interespecíficos e intercoloniais ($P = 0,0254$, Student-Newman-Keuls) (Figura 11).

O comportamento de alarme exibido por operários e soldados diferiu diante da presença de cadáveres de diferentes origens ($H = 7,6854$, $gl = 2$, $P = 0,0214$, Kruskal-Wallis), e o teste *post-hoc* indicou diferença estatística somente diante de corpos intercoloniais e interespecíficos ($P = 0,0061$, Student-Newman-Keuls). No entanto, observou-se que as repetições com cadáveres intracoloniais apresentaram grande variação na ocorrência do comportamento de alarme (Figura 12). Além disso, os operários fizeram repetido movimento longitudinal no sentido antero-posterior do corpo e os soldados usaram a cabeça para realizar um movimento vertical repetitivo (*head-banging*).

A tabela 4 resume a comparação dos repertórios comportamentais observados em ambas as espécies, mostrando que *C. cumulans* desenvolve mais atividades em seu repertório do comportamento higiênico do que *C. brevis*. A figura 13 compara o comportamento higiênico observado nas duas espécies, considerando a origem e o destino final do cadáver e ilustra o tipo de ninho influenciando o comportamento higiênico.



Figura 7 – Cadáver interespecífico (seta) coberto com solo por operários de *Cornitermes cumulans*.

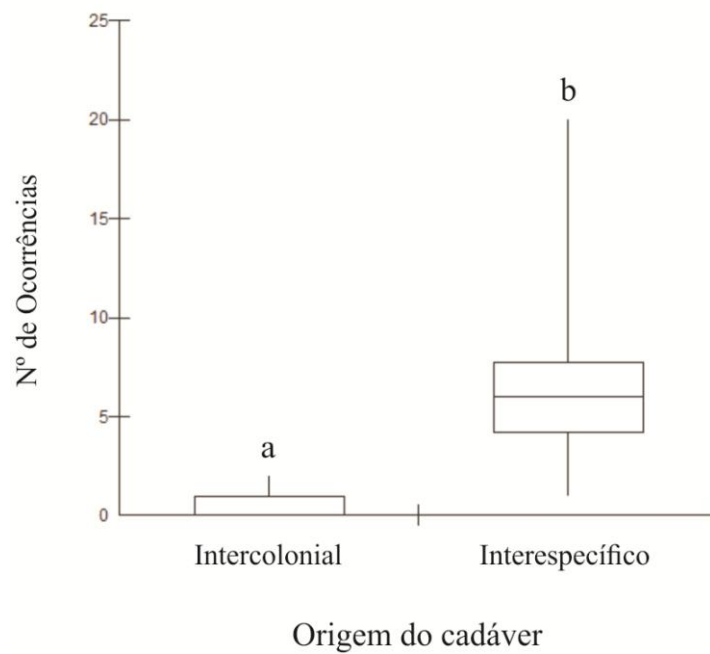


Figura 8 – Comparação do número de ocorrências de comportamento de recuo frente a cadáveres de diferentes origens em colônias de *Cornitermes cumulans*. Os tratamentos com letras diferentes diferiram significativamente ($P = 0,0003$, Mann-Whitney).

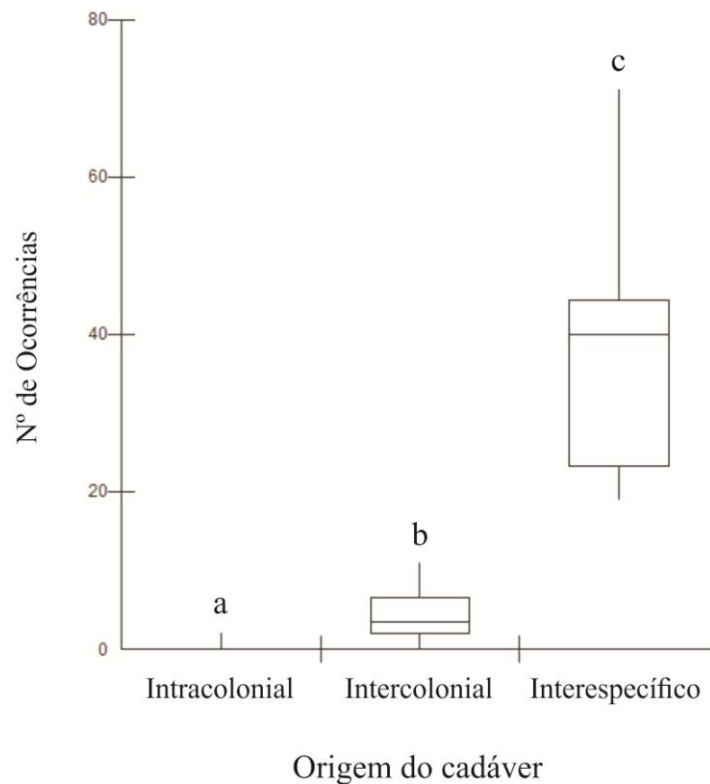


Figura 9 – Comparação do número de ocorrências de comportamento agonístico em cadáveres de diferentes origens em colônias de *Cornitermes cumulans*. Tratamentos com diferentes letras diferiram estatisticamente ($P < 0,05$, Kruskal-Wallis com teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls).

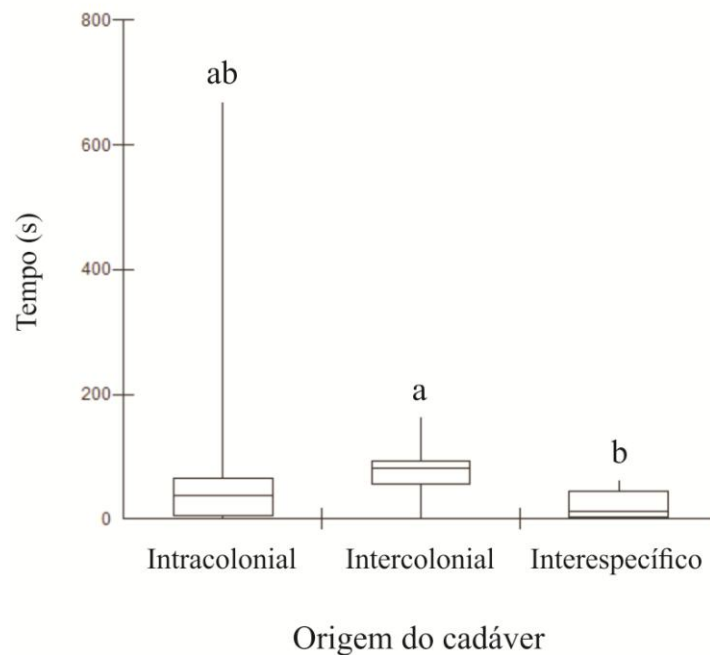


Figura 10 – Comparação entre o tempo investido no comportamento de *grooming* por operários de *Cornitermes cumulans* em cadáveres de diferentes origens. Tratamentos com as mesmas letras não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$, Kruskal-Wallis com teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls).

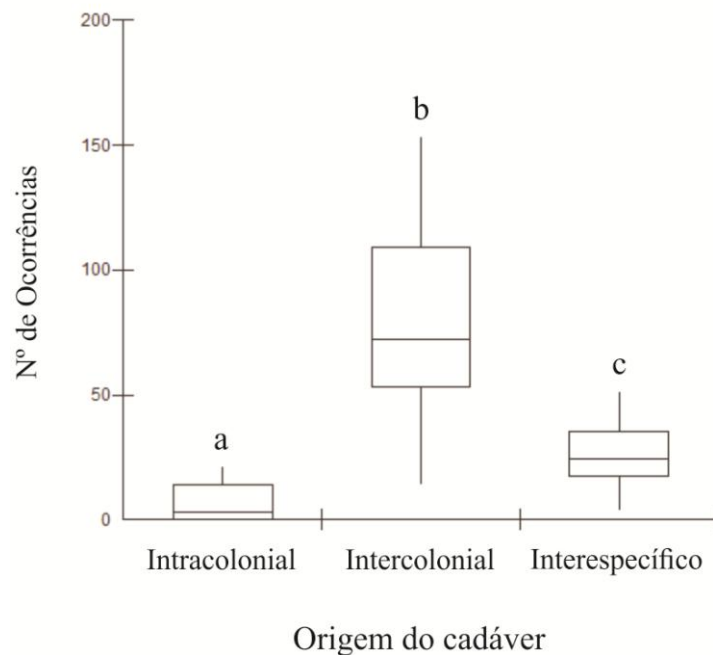


Figura 11 – Comparação entre número de ocorrências de comportamento deposição de solo sobre cadáveres de diferentes origens em colônias de *Cornitermes cumulans*. Tratamentos com diferentes letras diferiram estatisticamente ($P < 0,05$, Kruskal-Wallis com teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls).

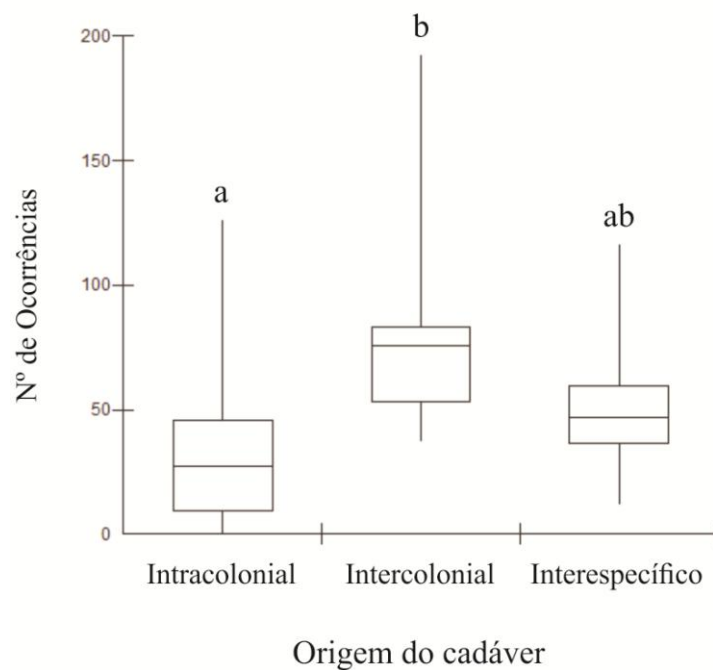
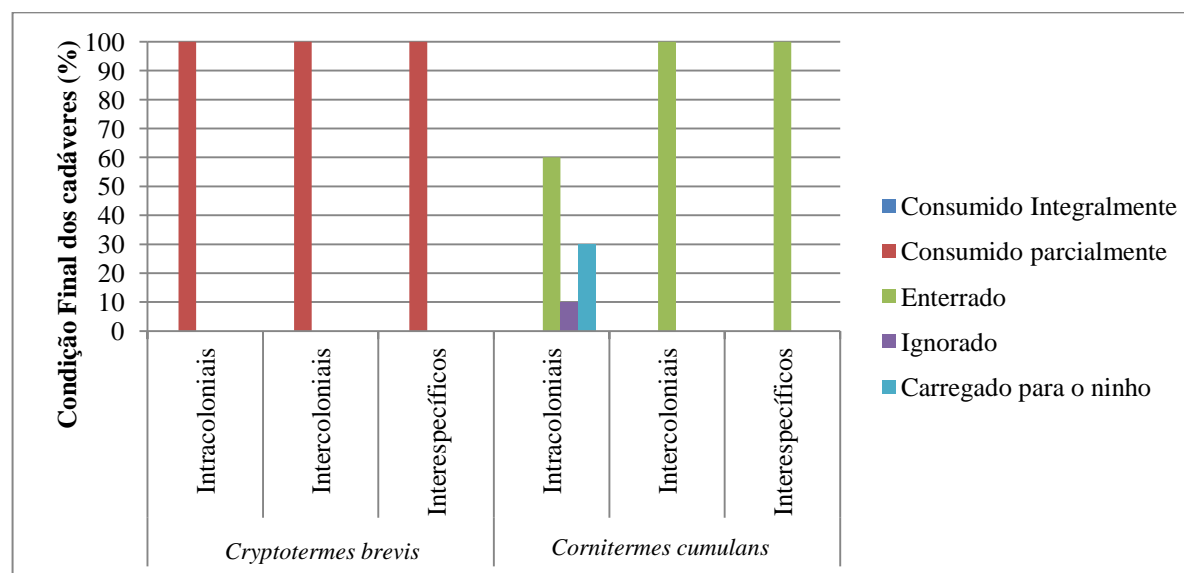


Figura 12 – Comparação entre o número de ocorrências de comportamento de alarme realizado por operários e soldados de *Cornitermes cumulans* diante de cadáveres de diferentes origens. Médias com as mesmas letras não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$, Kruskal-Wallis com teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls).

Tabela 4 - Resumo dos repertórios comportamentais desenvolvidos pelos operários de *Cryptotermes brevis* e *Cornitermes cumulans*.

Espécie	Antenação	Alarme	Grooming	Recuo	Agonismo	Consumo Parcial do cadáver	Consumo integral do cadáver	Deposição de fezes sobre o cadáver	Enterro	Transporte para o ninho	Ignorar
<i>Cryptotermes brevis</i>	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-
<i>Cornitermes cumulans</i>	X	X	X	X	X	?	-	X	X	X	X

**Figura 13** – Comparação da condição final dos cadáveres de diferentes origens inseridos em subcolônias de *Cryptotermes brevis* e colônias de *Cornitermes cumulans*.

4. Discussão

Os resultados mostram que nos experimentos laboratoriais com subcolônias de *Cryptotermes brevis* o casal real não participou do comportamento higiênico, mesmo diante da variação na origem do cadáver introduzido no ninho. Este resultado é inédito para cupins uma vez que não existe, na literatura pertinente, menção ao comportamento do par real em relação à higienização do ninho. O manejo de cadáveres em colônias maduras de insetos sociais, assim como outros comportamentos de manutenção e higiene, em geral, é desempenhado pela casta operária (WILSON et al., 1958; WILSON, 1971). No entanto, em colônias incipientes os reprodutores precisam realizar essas tarefas para garantir a própria sobrevivência e de sua progênie. Isto foi descrito no cupim *Pseudacanthotermes spiniger*, o qual funda o ninho por pleometrose, ou seja, fundação por grupos de fêmeas (CHOUVENC et al., 2012). Experimentos laboratoriais com 10 imagos fêmeas que tiveram suas asas retiradas mostraram que frente a um cadáver de fêmea desalada, estas realizaram *grooming* e enterraram o corpo (CHOUVENC et al., 2012). Além disso, em colônias que possuem apenas o casal real, quando um destes morre, o outro enterra o corpo (COSTA-LEONARDO, observação pessoal). Contudo, em colônias estabelecidas com operários disponíveis, o par real não realiza o comportamento higiênico, como observado para *C. brevis*.

Ninfas e falsos-operários de *C. brevis* realizaram o manejo dos cadáveres, contudo os soldados participaram do comportamento higiênico discriminando a origem do corpo e sendo agressivo com cadáveres de outra colônia e de outra espécie. Não existe descrição na literatura do comportamento higiênico em falsos-operários da família Kalotermitidae. Contudo, após manipulação de uma rainha de *C. brevis*, o que interferiu no reconhecimento da mesma por membros de sua colônia, e esta foi, então, morta e canibalizada por ninfas e falsos-operários (COSTA-LEONARDO, observação pessoal).

Soldados de *C. brevis* e *Cornitermes cumulans* realizaram comportamento agonístico em cadáveres de cupins intercoloniais e interespecíficos, apesar do número de soldados ser tão diferente nas colônias destas espécies. Em experimento laboratorial com colônias do cupim subterrâneo *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae), os soldados guardaram a entrada da arena experimental enquanto os operários realizaram o manejo dos cadáveres intracoloniais. Os soldados ocasionalmente antenaram os corpos coespecíficos, mas não exibiram respostas agonísticas. No entanto, estes soldados atacaram cadáveres de cupins congêneros (SUN et al., 2013). Os resultados mostram que os soldados não participam

diretamente do manejo dos cadáveres no comportamento higiênico, mas são capazes de diferenciar a origem de indivíduos mortos.

O comportamento higiênico em cadáveres realizado por ninfas e falsos-operários de *C. brevis* resultou no consumo dos corpos de cupins independentemente de sua origem. De acordo com Potrikus e Breznak (1981), o canibalismo e a necrofagia promovem a reciclagem de nutrientes. Além disso, o canibalismo é considerado uma consequência de estresse, como por exemplo, deficiência em nitrogênio (LEE; WOOD, 1971; COLLINS, 1983). Contudo, diversos autores relatam que a função primordial do canibalismo não é a reciclagem de proteínas, e sim, a higiene do ninho e isto é reforçado pelo fato de poucas espécies matarem e consumirem cupins da própria colônia (COLLINS, 1983; LIMA; COSTA-LEONARDO, 2007). Deste modo, consumir indivíduos mortos pode contribuir ocasionalmente para uma maior sobrevivência da colônia. Apesar da existência de controvérsia, o consumo de corpos por *C. brevis* pode auxiliar na sobrevivência da colônia, uma vez que o ambiente onde esta se aloja é “hostil”, pois é finito. Adicionalmente, estes cupins retiram água do alimento e o consumo de corpos deve ajudar na transferência dessa água para os indivíduos ativos no ninho. De acordo com Machida et al. (2001), os cupins mostram plasticidade de comportamento social em resposta ao *status* nutricional da colônia, ou seja, para melhorar a eficiência coletiva e manter a homeostase nutricional da colônia eles podem modificar um determinado comportamento. Assim, no caso de *Hodotermopsis japonica* (Termopsidae), quando alguns indivíduos apresentam conteúdo de nitrogênio deficiente, eles aumentam as interações trofaláticas proctodeais com os indivíduos que estão bem nutridos, para reciclar o nitrogênio na colônia.

Os operários de *Coptotermes formosanus* (Rhinotermitidae), *Reticulitermes speratus* (Rhinotermitidae) e *Microcerotermes crassus* (Termitidae) consumiram os indivíduos mutilados e cadáveres de companheiros intracoloniais (NEOH et al., 2012). Este comportamento também foi observado na espécie de barata *Cryptocercus punctulatus* (NALEPA; BELL, 1997). No cupim *Neotermes jouteli* (Kalotermitidae) o excesso de reprodutores neotênicos e soldados é eliminado por meio de canibalização (NAGIN, 1972, LA FAGE; NUTTING, 1978). Portanto, o consumo dos cadáveres é uma tática da estratégia higiênica, além de permitir reciclagem de nutrientes (MOORE, 1969, KRAMM et al., 1982). O consumo dos corpos destrói a fonte de patógenos, uma vez que ao ingerir este material, os cupins inibem o desenvolvimento de entomopatógenos devido à ação antimicrobiana em seus intestinos. Este fato foi observado na espécie de cupim *R. flavipes*, no qual a inibição do desenvolvimento do fungo *M. anisopliae* deu-se devido à ação fungistática existente no trato

digestório do referido cupim (CHOUVENC, 2009a). Segundo Rosengaus e Traniello (2001), o cupim de madeira úmida *Zootermopsis angusticollis* consumiu companheiros contaminados com o fungo *Metarhizium anisopliae*, indicando assim, que a contaminação de patógenos não impediu o canibalismo (ROSENGAUS; TRANIELLO, 2001).

As ninfas, os falsos-operários e soldados de *C. brevis* e operários e soldados de *C. cumulans* exibiram comportamento de alarme diante de cadáveres de diferentes origens, contudo soldados de *C. cumulans* se mostram mais alarmados. Esta resposta foi caracterizada pelo movimento repetido do corpo do inseto no sentido antero-posterior, conhecido como movimento oscilatório longitudinal em todas as castas citadas. Contudo, nos soldados de *C. cumulans* ocorre movimento oscilatório horizontal e vertical (*head-banging*). Os cupins *M. crassus* e *Globitermes sulphureus* exibiram respostas de alarme durante o comportamento higiênico caracterizado como um movimento repetido do corpo no sentido antero-posterior e rápido deslocamento para alertar outros membros do grupo (NEOH et al., 2012). Em *R. flavipes* o comportamento de alarme exibido por operários e soldados diante de cadáveres congêneros foi descrito como movimentos vigorosos do corpo. Segundo estes autores, esta resposta de alarme facilitou um rápido recrutamento de operários e soldados (SUN et al., 2013).

O comportamento agonístico em operários e soldados de *C. brevis* foi observado na presença de cadáveres de cupins de outra espécie e de outra colônia. Em *R. flavipes* cadáveres congêneros também elicitaram respostas de agressão somente de soldados (SUN et al., 2013). De acordo com Ishikawa e Miura (2012) o nível de agonismo dos operários pode ser plástico e modulado pela presença de outras castas. No cupim *Hodotermes sjostedti* (Hodotermitidae) os autores observaram que o nível de agressão dos falsos-operários contra inimigos foi menor diante da presença de soldados. Em formigas, durante o carregamento ou enterro de cadáveres, operárias exibiram agressão contra os mesmos, principalmente, aqueles que não tinham origem intracolônia (HASKINS; HASKINS, 1974; RENUCCI et al., 2011).

Falsos-operários e ninfas de *C. brevis* exibiram comportamento de recuo, principalmente, diante de cadáveres de outra colônia e de outra espécie. Neoh et al. (2012) descreveram que no cupim *G. sulphureus* os operários realizaram inspeção nos cadáveres de companheiros intracoloniais, em seguida, os evitaram. Operários forrageiros de *C. gestroi* alteraram seu padrão de tunelamento evitando confronto e isolando os cupins mortos, quando encontraram cadáveres de soldados de *Heterotermes tenuis* (LIMA; COSTA-LEONARDO, 2012). Operários de *R. flavipes* evitaram áreas onde haviam cupins previamente mortos por

inseticidas (SMITH; RUST, 1989). Segundo Dukas (2001), *Apis mellifera* evitou flores nas quais haviam cadáveres de companheiras ou o extrato de corpos. Isópodos também evitaram locais que continham cadáveres coespecíficos esmagados e intactos, assim como o extrato dos mesmos (YAO et al., 2009). Os autores destes dois últimos trabalhos inferem que esta atividade de evitar locais onde havia cadáveres e preferir, assim, flores com características seguras é uma estratégia que estes animais utilizam para prevenir predação.

O repertório comportamental do manejo de cadáveres por *C. brevis* e *C. cumulans* iniciou-se com a antenação dos corpos. A antenação também foi observada em abelhas, vespas e formigas e em outros cupins, como *C. formosanus*, *R. speratus*, *M. crassus*, *G. sulfureus* e *R. flavipes* (VISSCHER, 1988; NEOH et al., 2012; SUN et al., 2013). Para iniciar o comportamento higiênico é imprescindível que os indivíduos da colônia façam a distinção entre indivíduos mortos e vivos (SUN; ZHOU, 2012). Ulyshen e Shelton (2012) relataram que no cupim *Reticulitermes virginicus* o reconhecimento dos cadáveres envolve o sinergismo entre pistas químicas (ácido oleico) e pistas táteis (forma e textura). A ação de ácidos graxos como pistas químicas de cadáveres foi descrita em formigas, baratas e abelhas. Os estímulos são detectados pelos insetos por meio de sensilas quimiosensoriais das antenas. Em fêmeas desaladas do cupim *P. spiniger* a combinação de vários componentes químicos provocou o comportamento higiênico. Desta composição destacam-se ácidos graxos (como ácidos oleico e linoleico), além dos compostos fenol e indol (CHOUVENC et al., 2012).

Quando frente a cadáveres de cupins intercoloniais e de outra espécie, os operários de *C. cumulans* exibiram o mesmo manejo, ou seja, enterraram o cadáver após submetê-lo ao *grooming*. Esta mesma resposta também foi descrita por Sun et al. (2013) para *R. flavipes* diante de cadáveres do cupim congênico *R. virginicus*, sendo que os cadáveres foram cobertos com solo do ninho, fezes e folhas mastigadas. De acordo com Chouvenc e Su (2012) e Chouvenc et al. (2009b), o uso de material fecal e solo do ninho promove uma importante ação antifúngica. Fêmeas desaladas de *P. spiniger* realizaram *grooming* em cadáveres de outras reprodutoras primárias e, em seguida, as enterraram (CHOUVENC et al., 2012). Segundo Lamberty et al. (2001) a saliva dessas fêmeas contém peptídeos com propriedades antibióticas e antifúngicas, o que sugere que a atividade de *grooming* aliada ao isolamento físico dos cadáveres é parte importante da estratégia de impedir a dispersão de patógenos oportunistas entre membros da colônia. Neves e Alves (2000) observaram que o *grooming* realizado por operários de *C. cumulans* removeu conídios dos fungos *Beauveria bassiana* e *M. anisopliae* da cutícula de soldados e outros operários da colônia. O comportamento de

grooming juntamente com a atividade antifúngica dos intestinos de cupins proporcionam uma defesa efetiva individual e também inter-individual contra fungos, como *M. anisopliae* (CHOUVENC, 2009a). A socialidade em *Z. angusticollis* beneficia os indivíduos por meio do *grooming* mútuo e a habilidade de comunicação ajuda a detectar a presença de agentes infecciosos no interior do ninho. Além disso, confere proteção antibiótica devido ao uso de exudados e secreções glandulares na construção e manutenção do ninho (ROSENGAUS; TRANIELLO, 2001). Enterrar os cadáveres pode ser um mecanismo de defesa, uma vez que os corpos podem obstruir galerias criando barreiras (LI et al., 2010). Segundo os autores, cadáveres resultantes de interações agonísticas entre os cupins *Coptotermes gestroi* e *C. formosanus* foram enterrados, bloqueando túneis que não foram abertos posteriormente. Selar túneis pode prevenir encontros agonísticos e futura mortalidade além de definir os limites entre colônias adjacentes.

Os operários de *C. cumulans* mostraram respostas variadas diante de cadáveres intracoloniais. Na maioria das repetições, os corpos de companheiros de ninho foram enterrados no local de forrageamento e quando não, os cadáveres foram carregados para o ninho. Somente em uma repetição, o cadáver foi abandonado após *grooming*. Sun et al. (2013) relataram que o cupim *R. flavipes* transportou cadáveres intracoloniais para o ninho. Os autores discutem que, provavelmente, os cupins canibalizam estes cadáveres posteriormente. Torales (1982) encontrou cadáveres nos ninhos de *C. cumulans*, sendo que estes podiam estar inteiros ou faltando tórax e abdômen. No último caso, as cabeças estavam aglomeradas com grãos de solo e fezes no interior de câmaras de um ninho mantido no laboratório. Segundo a autora, estas câmaras, denominadas de “cemitério” eram abundantemente revestidas com material fecal. Muitas vezes, cabeças de operários e soldados mortos vedavam a abertura da referida câmara.

Os operários de *C. cumulans* marcaram com material fecal os cadáveres de diferentes origens antes de realizar a cobertura dos mesmos. Segundo Torales (1982), operários de *C. cumulans* iniciam o processo de construção com a deposição de uma gotícula de material fecal. Este mesmo material é usado entre as sucessivas deposições de solo. Além disso, outros cupins, como os subterrâneos *C. gestroi* e *Heterotermes* spp. também marcam a superfície de trânsito e alimento com pelotas fecais, que são depositadas com consistência semilíquida, mas ao solidificar resultam em um disco saliente (FONTES; ARAÚJO, 1999). A marcação com fezes nas trilhas de forrageamento do cupim *Nasutitermes corniger* representam sinais

químicos, uma vez que têm ação feromonal para orientação dos indivíduos forrageiros (STUART, 1969, SILVA, 2008). Provavelmente, o mesmo ocorre em *C. cumulans*.

A literatura de Isoptera não apresenta relatos de cupins consumindo cadáveres de outra colônia. Contudo, existe registro de companheiros intracoloniais serem consumidos como estratégia de manejo de cadáveres, isto é, para a manutenção da higienização do ambiente no interior do ninho. Em *R. flavipes* os operários carregaram para o ninho cadáveres coespecíficos e enterraram os cadáveres congêneros, ou seja, de outra espécie (SUN et al., 2013). O comportamento de cupins com ninhos “uma peça”, ou seja, que nidificam no próprio alimento, como caso de *C. brevis*, impossibilita o enterro de cadáveres. Contudo, *C. brevis* poderia isolar estes mortos em câmara e selar com secreção intestinal escura. Porém, como em outras espécies de cupins, consome os corpos, rejeitando a cabeça quitinosa. Conforme já citado anteriormente, Torales (1982) relatou que no interior do ninho de *C. cumulans* havia cabeças e mandíbulas de soldados e de operários. Além disso, a manutenção das cabeças de *C. brevis* nas colônias após *grooming*, reforça a eliminação de patógenos pela saliva com propriedades antifúngicas e antibióticas (LAMBERTY, 2001). Nos ninhos “múltiplas-peças”, caso de *C. cumulans* e das espécies de *Coptotermes* e *Reticulitermes* (NEOH et al., 2012; SUN et al., 2013) o comportamento higiênico é mais complexo. Nas colônias destas espécies, os indivíduos saem do ninho para forragear e têm acesso a solo utilizando este material no comportamento higiênico, contudo, a própria ecologia da espécie parece direcionar o repertório deste processo em Isoptera.

Concluindo, os dados obtidos mostram que uma espécie basal de cupim, caso de *C. brevis* exibe comportamento higiênico simplificado quando comparado àquele desempenhado por *C. cumulans* que é espécie mais derivada com repertório comportamental complexo e diversificado, inclusive com recrutamento de indivíduos especializados.

Referências Bibliográficas

- ARAÚJO, R. L. Termites of the neotropical region. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F. M. (eds). **Biology of termites**, v.2, New York: Academic Press, pp. 527-571, 1970.
- BRAZOLIN, S.; FERNANDES, J. L. G.; LOPES, G. A. C.; MONTEIRO, M. B. B.; ZENID, G. J. **Biodeterioração de madeira em edificações**. São Paulo: IPT, p. 54, 2001.
- CANCELLO, E. M. **Revisão de *Cornitermes Wasmann* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitidae)**. Teses de doutorando, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989, 136 p.
- CHOUVENC, T.; SU, N.-Y. When subterranean termites challenge the rules of fungal Epizootics. **PLoS One**, 7: e34484, 2012.
- CHOUVENC, T.; SU, N-Y; ROBERT, A. Inhibition of *Metarhizium anisopliae* in the alimentary tract of the eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 2, p. 130-136, 2009a.
- CHOUVENC, T.; SU, N.-Y.; ROBERT, A. Susceptibility of seven termite species (Isoptera) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. **Sociobiology**, 54, p.723-748, 2009b.
- CHOUVENC, T.; ROBERT, A.; SÉMON, E.; BORDEREAU, C. Burial behavior by dealates of the termite *Pseudacanthotermes spiniger* (Termitidae, Macrotermitinae) induced by chemical signals from termite corpses. **Insectes Sociaux**, v. 59, p.119–125, 2012.
- COLE-DE-NEGRET, H. R. C.; REDFORD, K. H. The biology of nine termite species (Isoptera: Termitidae) from the Cerrado of Central Brazil. **Psyche**, v. 89, n. 1-2, p. 81-106, 1982.
- COLLINS, N.M. The utilization of nitrogen resources by termites (Isoptera). In: LEE, J.A.; MCNEILL, S.; RORISON, I.H. (eds). **Nitrogen as an ecological factor**, Oxford, University Press, Oxford, 1983, p.381-412.
- CONSTANTINO, R. Padrões de diversidade e endemismo de térmitas no bioma cerrado. In: SCARIOT, A. O.; SILVA, J.C.S.; FELFILI, J.M. (eds.). **Biodiversidade, ecologia e conservação do Cerrado**, Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2005, PP. 319-333.
- COSTA-LEONARDO, A.M. **Cupins-praga: morfologia, biologia e controle**, Rio Claro: Divisa Editora, 2002, 128 p.
- COSTA-LEONARDO, A. M. Arquitetos das pastagens e beiras de estradas. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, RJ, v. 36, p. 62 - 65, 01 jun. 2005.
- COSTA-LEONARDO, A. M.; CASARIN, F. E. Novidades sobre os nossos velhos conhecidos “os cupins de madeira seca”. **Vetores & Pragmas**, v. 34, p. 23 - 26 jul. 2013.

CREMER, S.; ARMITAGE, S. A.; SCHMID-HEMPEL, P. Social immunity. **Current Biology**, v. 17, n. 16, p. R693-R702, 2007.

DIEZ, L.; MOQUET, L.; DETRAIN, C. Post-mortem changes in chemical profile and their influence on corpse removal in ants. **Journal of Chemical Ecology**, v. 39, n. 11-12, p. 1424-1432, 2013.

DUKAS, R. Effects of perceived danger on flower choice by bees. **Ecological Letters**, v. 4, p. 327-333, 2001.

EDWARDS, R.; MILL, A. E. **Termites in Building: Their Biology and Control**. England: Rentokil, 1986, p. 261.

FONTES, L. R.; ARAÚJO, R. L. Os Cupins. In: MARICONI, F. A. M. (coord.). **Insetos e Outros Invasores de Residências**. Piracicaba: FEALQ, 1999, p.35-90.

FRIARD, O.; GAMBA, M. BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. **Methods Ecology and Evolution**, v. 7, p.1325-1330, 2016. doi:10.1111/2041-210X.12584

HASKINS, C. P.; HASKINS, E. F. Notes on necrophoric behavior in the archaic ant *Myrmecia vindex* (Formicidae: Myrmeciinae). **Psyche**, 81, p. 258-267, 1974.

ISHIKAWA, Y.; MIURA, T. Hidden aggression in termite workers: plastic defensive behaviour dependent upon social context. **Animal Behaviour**, v. 83, n.3, p.737-745, 2012.

JOST, C.; HAIFIG, I.; DE CAMARGO-DIETRICH, C.R.R.; COSTA-LEONARDO, A.M. A comparative tunnelling network approach to assess interspecific competition effects in termites. **Insectes Sociaux**, v. 50, p. 369-379, 2012.

KORB, J. The ecology of social evolution in termites. In: KORB, J.; HEINZE, J. (eds), **Ecology of social evolution**, p. 151-174. Berlin, Germany: Springer, 2008.

KORB, J.; HOFFMANN, K.; HARTFELDER, K. Endocrine signatures underlying plasticity in postembryonic development of a lower termite, *Cryptotermes secundus* (Kalotermitidae). **Evolution & Development**, v. 11, n. 3, p. 269-277, 2009.

KRAMM, K. R.; WEST, D. F.; ROCKENBACH, P. G. Termite pathogens: transfer of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. termites. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 40, n. 1, p. 1-6, 1982.

LA FAGE, J. P.; NUTTING, W. L. Nutrient dynamics of termites. **International biological programme**, 1978.

LAMBERT, Y. M.; ZACHARY D., LANOT, R., BORDEREAU, C.; ROBERT, A.; HOFFMANN, J.A.; BULET, P. Constitutive expression of acysteine-rich antifungal and linear antibacterial peptide in a termite insect. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 6, p. 4085-4096, 2001.

LEE, K.E.; WOOD, T.G. **Termites and Soils**. Academic Press, London, 1971, 251 pp.

- LENZ, M.; BARRETT, R.; WILLIAMS, E. R. Reproductive strategies in *Cryptotermes*: neotenic production in indigenous and 'tramp' species in Australia (Isoptera: Kalotermitidae). In: WATSON, J; OKOT-KOTBER, B. M.; NOIROT, C.H. (eds). **Caste differentiation in social insects**. Oxford, UK: Pergamon Press; 1985, p. 251-266.
- LI, H. F.; YANG, R.; L NAN-YAO, A. Interspecific Competition and Territory Defense Mechanisms of *n° formosanus* and *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae) **Environmental Entomology**, v. 39, n. 5, p. 1601-1607, 2010.
- LIMA, J. T.; COSTA-LEONARDO, A. M. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera). **Biota Neotropica**, v.7, n.2, p.243-250, 2007.
- LIMA, J. T.; COSTA-LEONARDO, A. M. Tunnelling behaviour of the Asian subterranean termite in heterogeneous soils: presence of cues in the foraging area. **Animal Behaviour**, v.83, n. 5, p. 1269-1278, 2012.
- MACHIDA, M.; KITADE, O.; MIURA, T.; MATSUMOTO. Nitrogen recycling through proctodeal trophallaxis in the Japanese damp-wood termite *Hodotermopsis japonica* (Isoptera, Termopsidae). **Insectes Sociaux**, v. 48, n. 1, p. 52-56, 2001.
- McMAHAN, E. A. Laboratory studies of colony establishment and development in *Cryptotermes brevis* (Walker) (Isoptera, Kalotermitidae). **Proceedings of the Hawaiian Entomological Society**, v. 18, p. 145-153, 1962.
- MOORE, B.P. Biochemical studies in termites. In: KRISHNA K.; WEESNER F.M. (eds.) **Biology of termites**. New York: Academic Press; 1969, p. 233-282.
- NAGIN, R. Caste determination in *Neotermes jouteli* (Banks). **Insectes Sociaux**, v. 19, n. 1, p. 39-61, 1972.
- NALEPA, C A.; BELL, W. J. Postovulation parental investment and parental care in cockroaches. In: CHOE, J. C.; CRESPI, B. K. (eds). **The evolution of social behavior in insects and arachnids**, Cambridge University Press, Cambridge. 1997, p. 26-51.
- NEOH, K.-B.; YEAP, B.-K.; TSUNODA, K.; YOSHIMURA, T.; LEE, C.-Y. Do termites avoid carcasses? Behavioral responses depend on the nature of the carcasses. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, e036375, 2012.
- NEVES, P.J.; ALVES, S. B. Selection of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. strains for control of *Cornitermes cumulans* (Kollar). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 4, 2000.
- NUTTING, W. L. Flight and colony foundation. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F. M. **Biology of termites**. Volume I. Academic Press, Londres e Nova York. p. 233-282, 1969.
- PEDRO, L. P. A. ***Cryptotermes brevis* (Isoptera, Kalotermitidae): biologia e polimorfismo de imaturos**. 2012. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

- PEREIRA DA SILVA, V.; FORTI, L. C.; ISHIKAWA, R.; BARROS, M. F. Dinâmica populacional de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera, Termitidae) na região de Botucatu, SP. In: **Jornada Científica da Associação dos Docentes do Campus de Botucatu** 8, 1979, Botucatu, UNESP.
- POTRIKUS, C. J.; BREZNAK, J. A. Gut bacteria recycle uric acid nitrogen in termites: a strategy for nutrient conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 7, p. 4601-4605, 1981.
- REDFORD, K. H. The termitaria of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) and their role in determining a potential keystone species. **Biotropica**, v. 16, n. 2, p. 112-119, 1984.
- RENUCCI, M.; TIRARD, A.; PROVOST, E. Complex undertaking behavior in *Temnothorax lichtensteini* ant colonies: from corpse-burying behavior to necrophoric behavior. **Insectes Sociaux**, v. 58, n. 1, p. 9-16, 2011.
- ROMAGNAMO, L.F.T.; NAHUZ, M.A.R. Controle de cupins subterrâneos em ambientes construídos. **Téchne A revista do engenheiro civil IPT**, São Paulo, v. 114, p. 48-53, 2006.
- ROSENGAUS, R.; TRANIELLO, J. Disease susceptibility and the adaptive nature of colony demography in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 50, n. 6, p. 546–556, 2001.
- SCHEFFRAHN, R. H.; SU, N. Y. West Indian powderpost drywood termite, *Cryptotermes brevis* (Walker). **UF/IFAS Featured Creatures**, 1999.
- SCHEFFRAHN, R.H.; SU, N.-Y. Asian subterranean termite, *Coptotermes gestroi* (= *havilandi*) (Wasmann) (Insecta : Isoptera : Rhinotermitidae). **Institute of Food and Agricultural Sciences**, University of Florida, Gainesville, 2000.
- SILVA, V. S. G. **Comportamento de forrageamento de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky) (Isoptera: Termitidae) e sua ocorrência em áreas urbanas**. 2008. 108 f. Tese (Doutorado em Produção Vegetal). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro–UENF, Campos dos Goytacazes–RJ, 2008.
- SMITH, J. L.; RUST, M. K. Factors affecting the tunneling behavior of the Western subterranean termite, *Reticulitermes Hesperus* Banks In: SYMPOSIUM ON CURRENT RESEARCH ON WOOD-DESTROYING ORGANISMS AND FUTURE PROSPECTS FOR PROTECTING WOOD IN USE, 1989, Bend, Oregon. **Proceedings of the Symposium on Current Research on Wood-Destroying Organisms and Future Prospects for Protecting Wood in Use**. Bend. 1989. p. 28 – 33.
- STUART, A.M. Social behavior and communication. In: KRISHNA, K; WEESNER, F.M. (eds.). **Biology of termites**. Vol. 1. New York: Academic Press, 1969, p.193-232.
- SUN, Q.; ZHOU, X. Corpse management in social insects. **International Journal of Biological Sciences**, v. 9, n.3, p. 313-321, 2013.
- SUN, Q.; HAYNES, K.F.; ZHOU, X. Differential undertaking response of a lower termite to congeneric and conspecific corpses. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1650, 2013.

STUART A.M. Social behavior and communication. In: KRISHNA K.; WEESNER, F.M., (eds). **Biology of Termites**. New York: Academic Press, Inc. 1969, p. 193–232

TORALES, G. J. Contribucion al conocimiento de las termitas de Argentina (Pcia. De Corrientes) *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae) **Facena**, v. 5, p. 97-133, 1982.

ULYSHEN, M. D.; SHELTON, T. G. Evidence of cue synergism in termite corpse response behavior. **Naturwissenschaften**, v. 99, p. 89–93, 2012.

VISSCHER, P.K. The honey bee way of death: necrophoric behavior in *Apis mellifera* colonies **Animal Behaviour**, v. 31, p. 1070–1076, 1983.

VISSCHER, P. K. Undertaker specialists in honey bee colonies. In: JEANNE, R. L. (ed). **Interindividual Behavioral Variability in Social Insects**, Boulder: Westview Press, 1988, p. 359–383.

WHEELER, W. M. **Ants, their Structure, Development and Behavior**. Columbia Univ. Press, New York. 1910, p. 663.

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

WILSON, E. O.; DURLACH, N. I.; ROTH, L. M. Chemical releasers of necrophoric behavior in ants. **Psyche**, v. 65, n. 4, p. 108-114, 1958.

YAO, M.; ROSENFELD, J.; ATTRIDGE, S.; SIDHU, S.; AKSENOV, V.; ROLLO, C.D. The ancient chemistry of avoiding risks of predation and disease. **Evolutionary Biology**. v. 36, p. 267–281, 2009.

ZIMMERMAN, E. C. **Insects of Hawaii**. Volume 2, Apterygota to Thysanoptera. Hawaii: University of Hawaii Press, 1948, p. 475.

Capítulo II

**“Manejo de cadáveres em grupos de forrageiros do cupim
subterrâneo *Coptotermes gestroi* (Isoptera,
Rhinotermitidae)”**

Resumo

O comportamento higiênico em cadáveres é uma medida profilática essencial para o desenvolvimento e homeostase das colônias de insetos sociais. Indivíduos mortos no interior dos ninhos podem ser um potencial risco de contaminação de patógenos entre os membros da colônia. Nos cupins, o comportamento higiênico não tem sido estudado como em abelhas e formigas. Assim, o objetivo do presente estudo foi observar em condições laboratoriais o comportamento higiênico de subcolônias de *Coptotermes gestroi* frente a cadáveres de diferentes origens, castas e tempos de *post-mortem*. Para isto, foram realizados bioensaios com grupos de operários e soldados forrageiros de *C. gestroi* (300 operários e 15 soldados) nos quais foram testados cadáveres de operários e soldados de cupins da mesma colônia, de outra colônia e de outra espécie mortos recentemente ou há 24 horas. Em cada bioensaio, as respostas comportamentais dos indivíduos próximos aos cadáveres foram filmadas por 30 minutos com 10 repetições para cada tratamento. Os resultados mostraram que cadáveres recentes e mortos há mais tempo foram reconhecidos e submetidos ao comportamento higiênico por subcolônias de *C. gestroi*. Operários e soldados forrageiros participaram do comportamento higiênico, sendo que os primeiros realizaram o manejo dos cadáveres e os últimos realizaram agonismo sobre os corpos. *C. gestroi* mostrou respostas comportamentais de antenação, recuo, agonismo, alarme e *grooming* diferenciais frente a cadáveres de diferentes castas e origens. No entanto, cadáveres de operários com diferentes tempos de *post-mortem* tiveram manejo final similar, isto é, corpos de companheiros intracoloniais foram, preferencialmente, canibalizados e cadáveres de outra colônia e de outra espécie foram enterrados, após *grooming*. O isolamento físico do cadáver por meio do enterro após *grooming* impediu que outros membros da colônia tivessem contato com o corpo. Cadáveres de soldados mortos há 24 horas, independente da origem, foram enterrados. Os resultados do presente trabalho mostram que o comportamento higiênico em subcolônias de *C. gestroi* é complexo e apresenta um repertório amplo, fato evidenciado em outros estudos com cupins “múltiplas peças”.

Palavras-chave: comportamento higiênico, *grooming*, canibalismo, profilaxia do ninho, insetos sociais

1. Introdução

A vida social proporciona diversos benefícios para os animais, como cooperação nas atividades de construção do ninho, forrageamento, cuidado com a prole e defesa (WILSON, 1971). No entanto, viver em sociedade também pode trazer riscos, como a transmissão de doenças e parasitas entre os membros do grupo. De acordo com Cremer et al. (2007), a presença de indivíduos mortos dentro dos ninhos de insetos sociais pode ser uma grande ameaça à saúde da colônia, uma vez que pode disseminar patógenos oportunistas. Ninhos de cupins, por sua vez, podem ser especialmente suscetíveis a estes patógenos, pois são estruturas fechadas com umidade alta e mínimas conexões com ambiente externo (JONES et al., 1994; NOIROT; DARLINGTON, 2000). Além disso, podem abrigar alta densidade de indivíduos geneticamente próximos e, assim, o comportamento higiênico frente a cadáveres é uma atividade essencial para os cupins e outros insetos sociais. Por isso, estes insetos desenvolveram estratégias comportamentais profiláticas para manejo de cadáveres, o que evita que os demais indivíduos da colônia tenham contato com os corpos.

Abelhas e formigas removem cadáveres de indivíduos companheiros de ninho (WILSON et al., 1958; VISSCHER, 1983; JULIAN e CAHAN, 1999). Além disso, algumas formigas usam outras estratégias, como o enterro dos cadáveres no próprio ninho (RENUCCI et al., 2011) ou praticam o canibalismo (DRIESSEN et al., 1984). Não há registro de remoção de cadáveres entre os Isoptera. Nos cupins, os cadáveres podem ser enterrados, canibalizados, abandonados e ignorados. López-Riquelme e Fanjul-Moles (2013) revisaram o comportamento higiênico em insetos sociais e inferiram que este comportamento varia com a ecologia do ninho.

Coptotermes gestroi (Wasmann, 1896) é um cupim que pertence à família Rhinotermitidae e é conhecido como “cupim subterrâneo asiático”. A introdução desta espécie ocorreu em diversas regiões do globo por ação antrópica (SCHEFFRAHN; SU, 2000; COSTA-LEONARDO, 2002; JENKINS et al., 2007; EVANS, et al, 2013; CHOUVENC et al., 2016). Esta espécie constrói ninhos subterrâneos separados de suas fontes alimentares, ou seja, ninhos do tipo “múltiplas peças”. As colônias de *C. gestroi* podem atingir mais de um milhão de indivíduos e o território de forrageamento pode ser bastante amplo e dinâmico, uma vez que este cupim forrageia em vários itens alimentares simultaneamente (COSTA-LEONARDO, 2008). As colônias desta espécie apresentam ninhos polidômicos, isto é, a população das mesmas pode estar distribuída entre diversos ninhos conectados, sendo que um

deles é o ninho principal, que abriga o casal real, e os demais são ninhos satélites (COSTA-LEONARDO, 2002). Geralmente, em uma colônia de *C. gestroi* são encontrados um rei e uma rainha primária, operários e soldados. Jovens e reprodutores alados também podem estar presentes nos ninhos. Operários e soldados constituem as castas mais numerosas da colônia, sendo que os primeiros são responsáveis pela manutenção e construção do ninho e os últimos pela defesa (COSTA-LEONARDO, 2002). Além disso, operários e soldados participaram das atividades de forrageamento, com uma proporção de 10 a 15% de soldados dependendo da época do ano (COSTA-LEONARDO, observação pessoal).

A atividade forrageadora de *C. gestroi* pode causar grandes danos materiais e por isto esta espécie é considerada uma importante espécie-praga, tanto em sua área de distribuição natural (YEAP et al., 2007; LEE, 2007) quanto nas regiões em que foi introduzida, caso do Brasil (JENKINS et al., 2007). Uma grande variedade de materiais pode ser danificada em áreas urbanas pela espécie, tais como estruturas de madeira, papelão, papel, cabos elétricos, árvores vivas, entre outros.

O objetivo do presente estudo foi observar, em laboratório, o repertório comportamental higiênico e o manejo de cadáveres realizados por grupos de forrageiros de uma importante espécie-praga, *C. gestroi*, frente a cadáveres de operários e soldados de cupins, levando-se em consideração a origem e tempo de morte dos mesmos. E, deste modo, contribuir com o conhecimento básico da espécie a respeito de um importante comportamento e também contribuir com conhecimentos que podem ser úteis no desenvolvimento de estratégias de controle da espécie.

2. Material e Métodos

Para o desenvolvimento dos bioensaios com *Coptotermes gestroi* (Wasmann, 1896) foram utilizados apenas cupins forrageiros, que são aqueles que saem do ninho para buscar alimento. Estes indivíduos, operários e soldados, provenientes de colônias naturais foram coletados por meio de armadilhas confeccionadas com papelão corrugado, colocadas no território de forrageamento de colônias localizadas na cidade de Rio Claro/SP. Deste modo, 1 g de operários (aproximadamente 300 indivíduos) e 15 soldados foram colocados em um recipiente plástico de 145 mL (recipiente A = câmara de soltura dos cupins) conectado a outro recipiente plástico com as mesmas dimensões (recipiente B = arena experimental) por um tubo plástico com diâmetro interno de 0,4 cm e comprimento de 10 cm (Figura 1). Ambos os recipientes foram preenchidos com 50 g de areia umedecida com 5 mL de água destilada, sendo que no recipiente B foi colocado o alimento, um bloco retangular de *Pinus* sp. (2,5 cm x 1 cm com espessura de 0,2 cm). Os cupins forrageiros foram introduzidos no recipiente A e aclimatados durante 24 horas antes da realização dos testes, que consistiram na introdução de dois cadáveres no recipiente B e observação do comportamento dos indivíduos próximos.

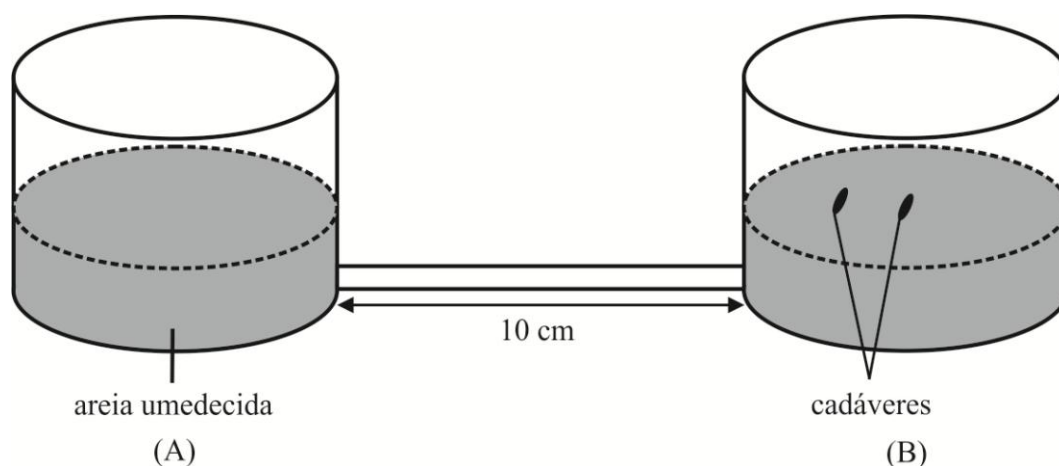


Figura 1 – Esquema da arena experimental utilizada com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

Para obtenção dos cadáveres, a morte dos indivíduos foi realizada por congelamento a -6°C durante 20 minutos, em seguida, os cadáveres foram colocados em placa de Petri tampada disposta em sala com temperatura ambiente. Para observar as respostas comportamentais dos indivíduos próximos aos cadáveres, foram realizados 12 tratamentos. Assim, foram utilizados: a) cadáveres de operários e soldados forrageiros da mesma colônia

(intracoloniais); b) cadáveres de operários e soldados forrageiros de colônia diferente (intercoloniais) e c) cadáveres de operários e soldados forrageiros de outra espécie (interespecíficos), neste caso, *Nasutitermes aquilinus*. Para cada origem e casta diferentes de cadáver foram testados dois tempos de *post-mortem*: 30 minutos e 24 horas.

Em cada repetição, dois cadáveres foram introduzidos na superfície da arena experimental, na qual foi realizada a filmagem com câmara Sony HDR-CX130 full HD, durante 30 minutos. Este período de tempo foi determinado empiricamente com base em testes prévios. Nos vídeos resultantes dos bioensaios (totalizando 60 horas de filmagens) foram observadas as interações dos indivíduos com os cadáveres e os comportamentos dos operários e soldados que foram elicitados pelos corpos. Assim, foram identificados os seguintes comportamentos: antenação, recuo, *grooming*, agonismo, alarme e deposição de areia (Tabela 1). Além disso, foi mensurado o número de vezes que os forrageiros realizaram os comportamentos anteriormente citados e o tempo investido no *grooming* de cadáveres. Observações finais foram realizadas nos cadáveres 24 horas após a introdução dos mesmos na arena experimental. De acordo com testes anteriores, estes cadáveres foram categorizados em: consumidos, enterrados ou ignorados. A porcentagem de cada categoria foi calculada para cada um dos doze diferentes tratamentos testados. Para todos os tratamentos (cadáveres de diferentes origens, castas e tempos *post-mortem*) foram realizadas 10 repetições.

No presente trabalho, quando indivíduos de subcolônias de *C. gestroi* ingeriram cadáveres de cupins da mesma espécie, foi utilizado o termo canibalismo. E quando foram ingeridos cadáveres de outra espécie, o termo empregado foi consumo.

Tabela 1 – Repertório comportamental de interações entre indivíduos de subcolônias de *Coptotermes gestroi* e cadáveres de diferentes origens, tempos de *post-mortem* e castas.

Comportamento	Definição
Antenação	Indivíduo utiliza suas antenas para tocar no cadáver
Recuo (evitar confronto)	Após realizar breve antenação no cadáver, o indivíduo retrocede rapidamente
<i>Grooming</i>	Indivíduo realiza a limpeza do cadáver
Agonismo	Indivíduo ataca o cadáver utilizando mandíbulas
Alarme	Indivíduo realiza repetidos movimentos oscilatórios horizontais
Deposição de areia (solo)	Indivíduo coloca grão de areia sobre o cadáver
Consumo	Indivíduo ingere partes do corpo do cadáver

Os comportamentos usados para comparar o comportamento higiênico de *C. gestroi* diante de cadáveres de diferentes origens, tempos de *post-mortem* e casta foram: antenação, recuo, *grooming*, agonismo e alarme. E estes, por sua vez, foram analisados separadamente. Para análise foi utilizado o programa R (versão 3.4.1, R Core Team, 2017) e a função lme do pacote nlme (PINHEIRO et al., 2017) para perfomar o modelo linear de efeitos mistos. Como efeitos fixos foram utilizados a origem (intracolônial, intercolônial e interespecífico), casta (operário e soldado) e tempo de *post-mortem* (30 minutos e 24 horas) dos cadáveres e como efeitos aleatórios foram as repetições (10 para cada tratamento). Quando necessário, transformações logarítmicas foram utilizadas para alcançar homocedasticidade ou normalidade dos dados e os modelos foram simplificados por meio da estimativa dos valores de *P* das interações entre fatores (CRAWLEY, 2007).

3. Resultados

Os operários e soldados forrageiros de *C. gestroi* realizaram comportamento higiênico nos cadáveres de diferentes origens, tempos de *post-mortem* e castas. Os operários realizaram o manejo ativo dos cadáveres que resultou na destinação final dos mesmos. E os soldados, por sua vez, realizaram inspeção e agonismo nos cadáveres.

O repertório comportamental higiênico exibido por *C. gestroi* iniciou-se sempre com a aproximação de um operário que inspecionou os cadáveres por meio de antenação. Após contato com cadáveres, alguns operários recuaram, esta atividade foi caracterizada por um rápido retrocesso. Soldados não exibiram este comportamento de recuo. Os operários não realizaram comportamento agonístico nos cadáveres, sendo que esta atividade foi realizada somente por soldados. Por fim, as subcolônias de *C. gestroi* realizaram três destinações finais nos cadáveres: operários consumiram os cadáveres; operários foram recrutados para enterrar os cadáveres por meio de deposição de areia proveniente da arena experimental e os operários ignoraram os cadáveres. A figura 2 resume todos estes comportamentos exibidos pelos operários frente aos cadáveres testados. Durante todo o processo de higienização, operários e soldados forrageiros exibiram comportamento de alarme.

Em relação à destinação final dos cadáveres, corpos de operários intracoloniais recentemente mortos foram canibalizados integralmente (todas as partes dos corpos foram consumidas) e a maioria dos corpos mortos há 24 horas foi canibalizada integralmente, enquanto que uma pequena parcela (10%) dos mesmos foi enterrada (Figura 2). Todos os corpos de operários intercoloniais e interespecíficos mortos há 30 minutos e 24 horas foram enterrados. Quanto aos cadáveres de soldados intracoloniais recentemente mortos, 50% destes foram integralmente consumidos, 20% foram parcialmente consumidos (partes quitinosas da cabeça destes corpos não foram ingeridas e não houve desenvolvimento de micro-organismos nas mesmas) e 30% foram enterrados. Todos os cadáveres de soldados intracoloniais mortos há 24 horas foram enterrados. Cadáveres de soldados intercoloniais, recentemente mortos, elicitaram variadas respostas finais, isto é, 10% foram consumidos integralmente, 30% foram parcialmente consumidos, 35% foram enterrados e 25% foram ignorados após sofrerem *grooming*. Enquanto nos experimentos com cadáveres de soldados intercoloniais mortos há 24 horas 70% dos mesmos foram enterrados, 15% foram parcialmente consumidos e 15% foram ignorados após sofrerem *grooming*. Por fim, 75% dos soldados interespecíficos, mortos recentemente, foram enterrados, 20% foram consumidos integralmente e 5% foram

consumidos parcialmente. Todos os soldados interespecíficos mortos há 24 horas foram enterrados (Figura 2).

3.1 Cadáveres com diferentes tempos *post-mortem*

O comportamento exploratório de antenação em cadáveres realizado por operários e soldados forrageiros de *C. gestroi* diferiu significativamente frente a cupins mortos há 30 minutos e 24 há horas ($F_{1,101} = 4,29$, $P = 0,0407$). Adicionalmente, estes indivíduos de subcolônias antenaram mais cadáveres recentemente mortos.

Os operários forrageiros de *C. gestroi* não realizaram comportamento de recuo diante de cadáveres de operários intracoloniais recentemente mortos (30 minutos). Além disso, a ocorrência deste comportamento diferiu estatisticamente diante de cadáveres com diferentes tempos de *post-mortem* ($F_{1,96} = 7,53$, $P = 0,007$), sendo que cadáveres mortos há 30 minutos elicitaram mais este comportamento de evitar contato. Por outro lado, não houve diferença significativa no comportamento de alarme ($F_{1,96} = 0,05$, $P = 0,822$) e de agonismo exibido por *C. gestroi* ($F_{1,102} = 0,31$, $P = 0,577$) diante de cadáveres com diferentes tempos de *post-mortem*. Adicionalmente, os resultados mostraram diferença significativa no número de vezes que operários de *C. gestroi* realizaram *grooming* entre cadáveres com diferentes tempos de *post-mortem* ($F_{1,103} = 7,06$, $P = 0,009$).

3.2 Cadáveres de diferentes origens

A inspeção de cadáveres realizada pelos forrageiros (operários e soldados) de *C. gestroi* por meio de antenação apresentou diferença significativa frente a cadáveres de cupins de diferentes origens ($F_{1,101} = 18,32$, $P < 0,0001$), sendo que os cadáveres interespecíficos foram antenados mais vezes que os demais (Figura 3). O comportamento de recuo exibido por operários de *C. gestroi* também diferiu significativamente diante de cadáveres de diferentes origens ($F_{1,96} = 22,00$, $P < 0,0001$). Cadáveres interespecíficos elicitaram mais respostas de recuo (Figura 4).

O comportamento de agonismo exibido por soldados de *C. gestroi* (Figura 5), assim como o comportamento de alarme (Figura 6) exibido por operários e soldados apresentaram diferença estatística frente a cadáveres de diferentes origens ($F_{2,102} = 12,03$, $P < 0,0001$, $F_{2,102}$

= 4,53, $P = 0,013$, respectivamente). O número de vezes que operários realizaram *grooming* em cadáveres diferiu entre os tratamentos ($F_{2,103} = 3,62$, $P = 0,030$) (Figura 7).

3.3 Cadáveres de operários e soldados

As análises dos resultados mostraram diferença significativa nos comportamentos de antenação ($F_{1,101} = 24,40$, $P < 0,0001$), de recuo ($F_{2,96} = 5,61$, $P = 0,019$) e de agonismo ($F_{1,102} = 8,98$, $P = 0,003$) de *C. gestroi* diante de cadáveres de diferentes castas, isto é, corpos de operários e de soldados. Somente operários forrageiros realizaram comportamento de recuo, contudo, esta casta não atacou os cadáveres, comportamento este exercido apenas por soldados. Cadáveres de soldados de cupins elicitaram mais respostas de antenação e de agonismo em indivíduos forrageiros de *C. gestroi* do que cadáveres de operários (Figuras 8a, b). Por outro lado, estes últimos provocaram mais comportamento de recuo do que os primeiros (Figura 8c). Além disso, os resultados indicaram que o comportamento de alarme não diferiu estatisticamente diante de cadáveres de operários e soldados ($F_{1,102} = 0,0007$, $P = 0,979$). Além disso, o comportamento de *grooming* diferiu estatisticamente ($F_{2,103} = 15,39$, $P = 0,0002$), sendo que cadáveres de operários elicitaram mais vezes este comportamento do que os cadáveres de soldados.

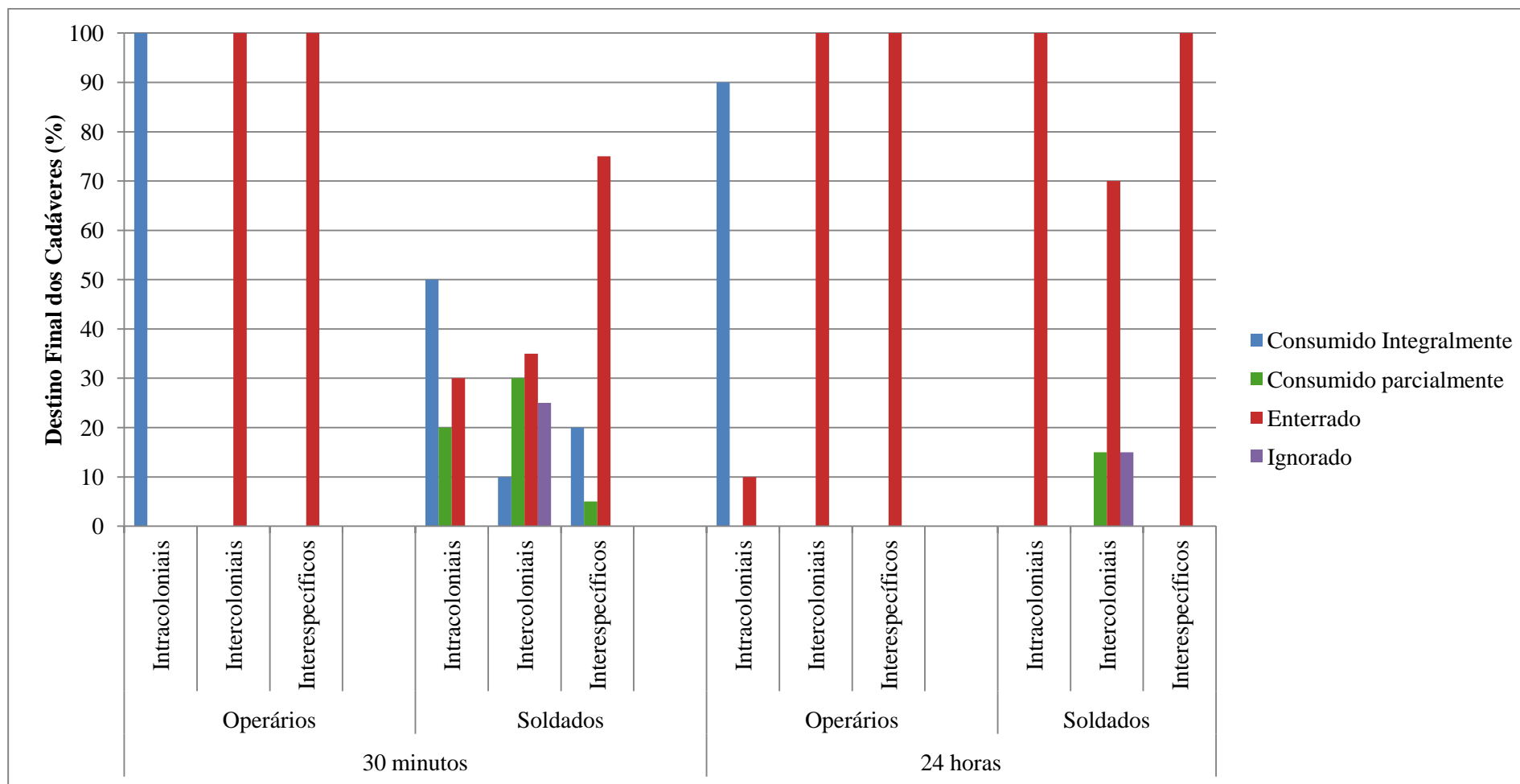


Figura 2 – Comparação do destino final dos cadáveres nos diferentes tratamentos experimentais com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

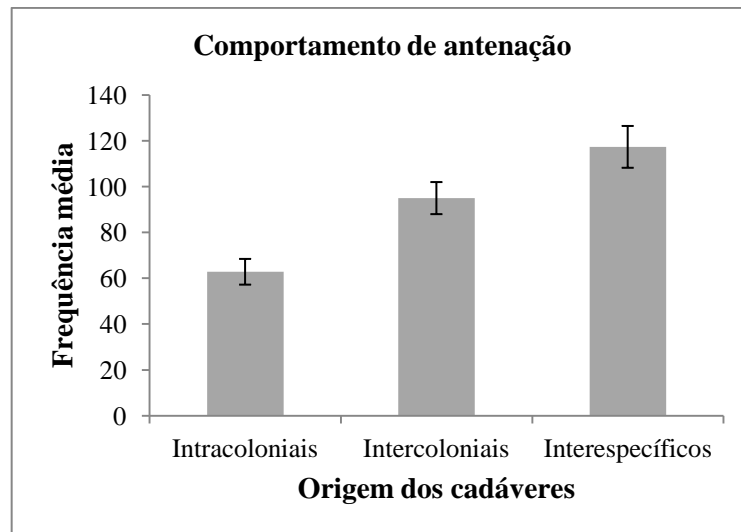


Figura 3 – Frequência média do comportamento de antenação exibido por operários e soldados forrageiros frente a cadáveres de diferentes origens em experimentos com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

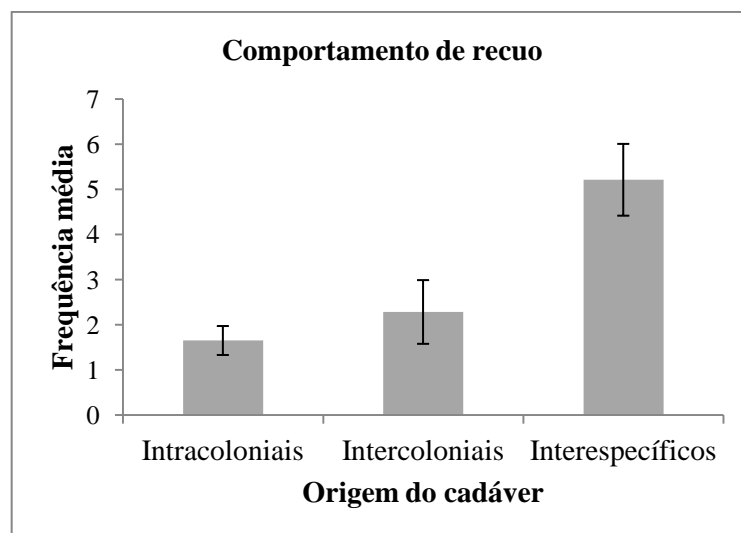


Figura 4 – Frequência média do comportamento de recuo exibido por operários forrageiros frente a cadáveres de diferentes origens em experimentos com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

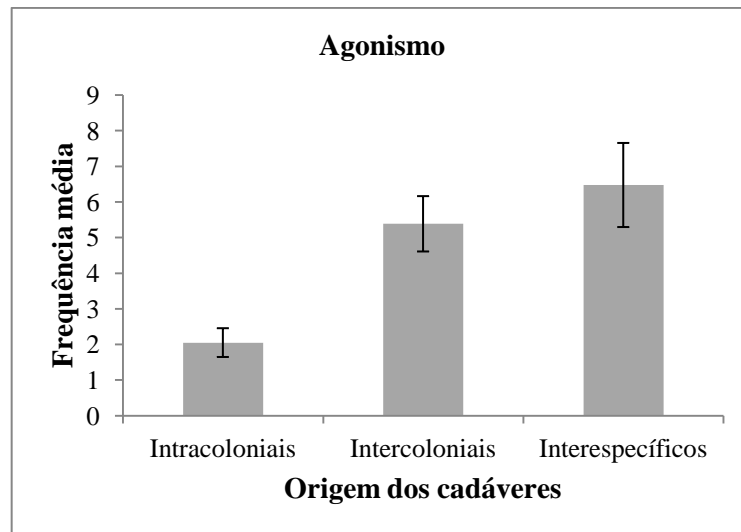


Figura 5 – Frequência média do comportamento de agonismo exibido por soldados forrageiros frente a cadáveres de diferentes origens em experimentos com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

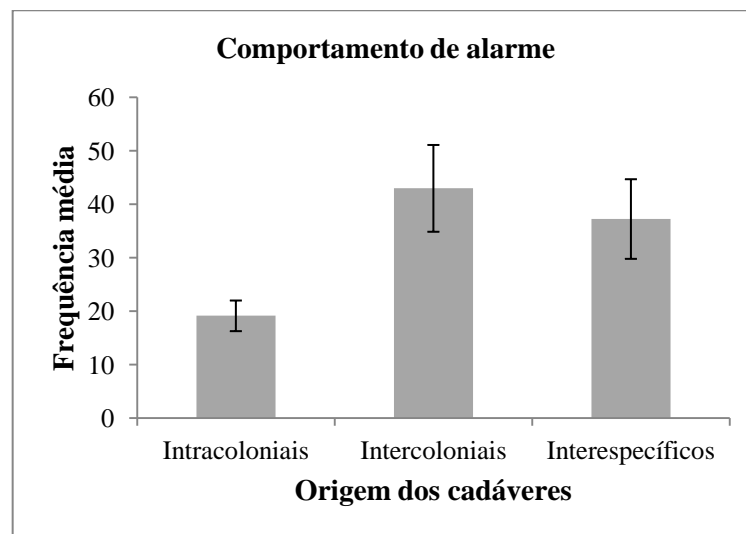


Figura 6 – Frequência média do comportamento de alarme exibido por operários e soldados forrageiros frente a cadáveres de diferentes origens em experimentos com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

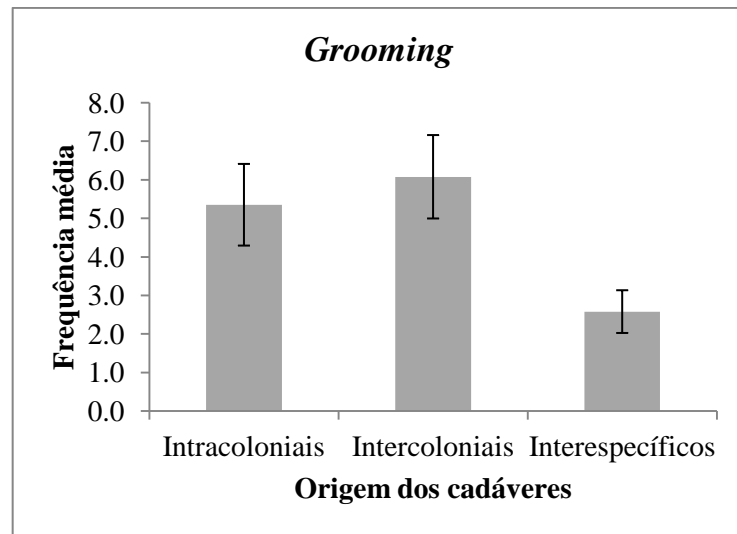


Figura 7 – Frequência média do comportamento de *grooming* de operários forrageiros frente a cadáveres de diferentes origens em experimentos com subcolônias de *Coptotermes gestroi*.

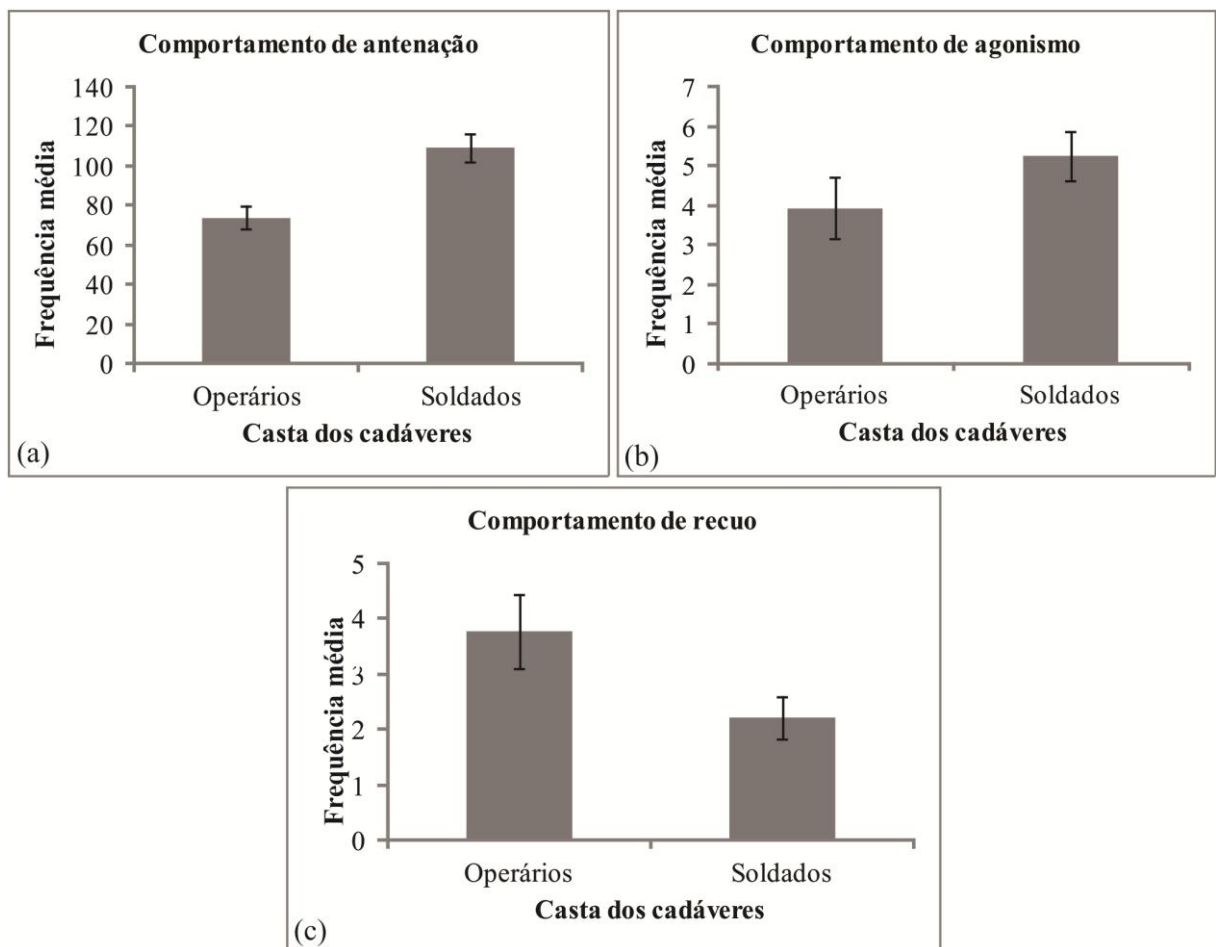


Figura 8 – Frequência média de comportamentos exibidos por subcolônias de *Coptotermes gestroi* frente a cadáveres de operários e soldados. (a) Comportamento de antenação exibido por operários e soldados forrageiros. (b) Comportamento de agonismo exibido somente por soldados forrageiros. (c) Comportamento de recuo executado por operários forrageiros.

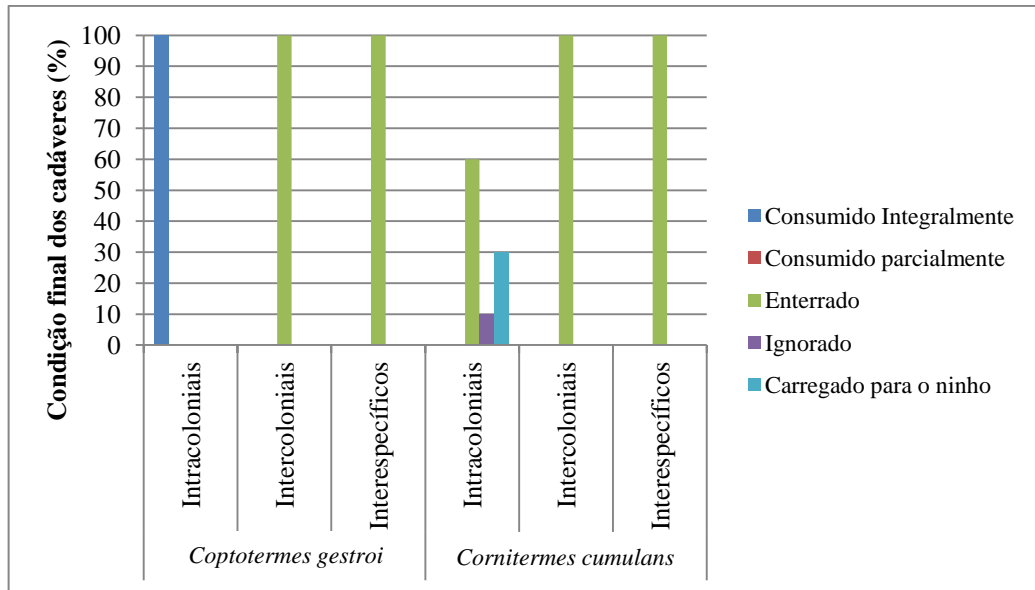


Figura 9 – Condição final dos cadáveres de diferentes origens em experimentos com subcolônias de *Coptotermes gestroi* comparados com os resultados já obtidos para *Cornitermes cumulans* (SILVA e COSTA-LEONARDO, não publicado).

4. Discussão

Os resultados dos experimentos com grupos de forrageiros de *Coptotermes gestroi* mostraram que os operários são os indivíduos primariamente ativos no comportamento higiênico, isto é, são aqueles que realizam as atividades de manejo que resultam no destino final do cadáver. Por outro lado, os soldados destes grupos também participaram do comportamento higiênico, uma vez que fizeram a inspeção dos corpos, independente da origem dos mesmos, e sempre mostraram agonismo frente a cadáveres intercoloniais ou interespecíficos. Em outras espécies de cupins da família Rhinotermitidae, como *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes speratus*, e da família Termitidae, como *Microcerotermes crassus* e *Globitermes sulfureus*, também foi observado que somente os operários realizavam o manejo de cadáveres (NEOH et al., 2012). De acordo com estes autores, após a inspeção dos corpos, alguns operários destas espécies evacuaram a arena e, em seguida, recrutaram outros operários para realizar o comportamento higiênico. Sun et al. (2013) verificaram que os soldados de colônias de cupins *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae) guardaram a entrada da arena experimental enquanto os operários realizaram o manejo em cadáveres intracoloniais. Segundo estes autores, os soldados participaram do comportamento higiênico por meio de antenação dos corpos de cadáveres coespecíficos, mas não mostraram respostas agonísticas contra os mesmos. No entanto, estes soldados atacaram cadáveres de cupins congêneros. Deste modo, os resultados obtidos com subcolônias de *C. gestroi* corroboram aqueles descritos para soldados de *R. flavipes*, ou seja, soldados participam do comportamento higiênico, visto que foram capazes de diferenciar a origem dos cadáveres, mas não colaboram diretamente no manejo dos cadáveres como os operários.

Cadáveres recentes assim como cadáveres antigos são capazes de elicitar o comportamento higiênico em operários e soldados forrageiros de *C. gestroi*, demonstrando assim, que os mesmos reconheceram que aqueles indivíduos estavam mortos. Do mesmo modo, Renucci et al. (2011) descreveram que operárias da formiga *Temnothorax lichtensteini* rapidamente discriminaram e executaram comportamento higiênico diante de cadáveres recentes (mortos há menos de 10 minutos). Este fato mostra que as pistas necessárias para o reconhecimento dos corpos estavam presentes mesmo nos cadáveres recém-mortos. O início do comportamento higiênico em insetos sociais é sempre marcado pelo reconhecimento dos indivíduos mortos. A literatura pertinente indica que a presença de pistas químicas, como ácidos graxos, ou a ausência de substâncias vitais, assim como pistas táteis permitem o

reconhecimento de cadáveres. Chouvenc et al. (2012) relataram que a combinação de diversos componentes químicos elicitou o comportamento higiênico em fêmeas desaladas do cupim *Pseudacanthotermes spiniger* (Termitidae). Estudos com o cupim *Reticulitermes virginicus* (Rhinotermitidae) indicaram que o reconhecimento de cadáveres ocorreu devido à combinação entre pistas químicas e pistas táteis (ULYSHEN e SHELTON, 2012).

Os resultados do presente trabalho indicam que diferentes tempos de *post-mortem* de cadáveres de cupins não tiveram efeito significativo no comportamento de agonismo e de alarme em forrageiros de *C. gestroi*. Além disso, o manejo final dos cadáveres de operários foi similar para corpos recém-mortos e mortos há mais tempo. Segundo Neoh et al. (2012), operários do cupim *R. speratus* exibiram as mesmas respostas comportamentais diante de cadáveres de operários recentes ou mortos há 24 horas. Do mesmo modo, Sun et al. (2013) observaram que o cupim *R. flavipes* também exibiu as mesmas respostas comportamentais de higiene frente a corpos de operários com diferentes tempos *post-mortem*.

O comportamento higiênico de grupos de *C. gestroi* diante de cadáveres de soldados resultou em um manejo de corpos diferencial em relação ao tempo de *post-mortem* dos mesmos. Respostas diferenciais diante de cadáveres com diferentes tempos de *post-mortem* foram observadas na espécie de formiga *T. lichtensteini* (RENUCCI et al., 2011). Estes autores inferem que o desenvolvimento de diferentes estratégias comportamentais com a finalidade de solucionar um único problema, que neste caso é a presença de cadáveres dentro do ninho, deve ser uma adaptação vantajosa, pode proporcionar uma maior plasticidade do comportamento higiênico e contribuir para uma maior sobrevivência da colônia. Por outro lado, Diez et al. (2013) relataram que na formiga *Myrmica rubra* o tempo de *post-mortem* de corpos de companheiras de ninho influenciou a proporção de remoção dos mesmos. Deste modo, cadáveres recentemente mortos foram removidos em menor número do que cadáveres com tempo *post-mortem* de um dia. As autoras observaram que a quantidade de ácidos oleico e linoleico presentes na cutícula de cadáveres de formigas aumentou com a progressão do tempo de *post-mortem*. Estes resultados mostram que nesta formiga estes ácidos são importantes pistas de reconhecimento de indivíduos mortos durante longos períodos de tempo.

A análise do comportamento higiênico desempenhado por forrageiros de *C. gestroi* indicou que os mesmos discriminam a origem dos cadáveres de cupins, pois corpos intracoloniais, intercoloniais e interespecíficos elicitaram respostas de comportamento de antenação, recuo, agonismo, *grooming* e alarme significativamente distintas e tiveram

destinos finais diferentes. Assim, cadáveres de companheiros de ninhos foram canibalizados, ao passo que cadáveres de outras colônias foram enterrados. Respostas diferenciais diante de cadáveres de origens distintas também foram observadas em colônias do cupim *R. flavipes*, que carregaram para o ninho corpos de cadáveres coespecíficos e enterraram corpos congêneros (SUN et al., 2013). Adicionalmente, os autores também comentam que ocorreu canibalismo, embora não documentaram o fato. De acordo com os autores, respostas diferenciais frente a cadáveres de origens distintas podem mitigar riscos e custos associados com o manejo de cadáveres, pois se todos os indivíduos fossem enterrados, haveria um grande investimento de tempo, recurso e energia. A habilidade de realizar comportamento higiênico diferencial também foi observada na formiga *T. lichtensteini*, a qual enterrou corpos congêneros e carregou para fora do ninho corpos intracoloniais (RENUCCI et al., 2011).

O repertório comportamental higiênico de *C. gestroi* foi influenciado significativamente pela origem de cadáveres de soldados. No entanto, quando os mesmos apresentavam tempo de *post-mortem* de 24 horas, não foram discriminados e todos foram submetidos ao mesmo manejo final, isto é, foram consumidos pelos operários. Provavelmente, a ocorrência de uma glândula frontal hipertrofiada em soldados de *C. gestroi* que ocupa grande parte do corpo do inseto, da cabeça ao abdômen (COSTA-LEONARDO, 2002), deve ter interferido na comunicação química dos cupins e ter causado o enterro de todos os cadáveres de soldados.

Neoh et al. (2012) realizaram bioensaios comportamentais com subcolônias de *C. formosanus* (grupos de 100 operários e 10 soldados) nas quais introduziram 20 cadáveres intracoloniais em cada repetição e os resultados mostraram que estes cadáveres de recentemente mortos foram canibalizados ou enterrados, porém os cadáveres intracoloniais mortos por mais de 24 horas foram enterrados após sofrerem *grooming*. No presente estudo, apenas uma ínfima parte dos cadáveres intracoloniais mortos há 24 horas foram enterrados por forrageiros de *C. gestroi*, que preferiram canibalizar o restante dos mesmos. Chouvenec e Su (2012) descreveram que o cupim *C. formosanus* canibalizou cadáveres de indivíduos intracoloniais infectados com o fungo *Metarhizium anisopliae*. Contudo, os mesmos autores constaram que quando a mortalidade é alta, os cadáveres são enterrados com solo e material fecal após sofrerem *grooming*. Deste modo, é possível inferir que o destino final dos cadáveres (canibalizar ou enterrar) está relacionado com o número de cadáveres presentes.

Em geral, diante da presença de cadáveres de cupins intercoloniais e interespecíficos, operários forrageiros de *C. gestroi* recrutaram outros operários, os quais realizaram *grooming*

nos corpos e os enterraram. Isto sugere um polietismo dentro do grupo de operários forrageiros, como ocorre em algumas formigas e abelhas, nas quais há indivíduos especializados responsáveis pela retirada dos cadáveres para fora da colônia (HUANG et al., 1994; JULIAN; CAHAN, 1999; DIEZ et al., 2011). O enterro de cadáveres interespecíficos já foi descrito no cupim subterrâneo *R. flavipes* (SUN et al., 2013) e de cadáveres intraespecíficos no termitídeo *P. spiniger*, após realização de *grooming* (CHOUVENC et al., 2012). A atividade de *grooming* em cadáveres permite a remoção de patógenos e previne a disseminação dos mesmos entre membros da colônia. Segundo Neves e Alves (2000), operários de *C. cumulans* removeram conídios dos fungos *Beauveria bassiana* e *M. anisopliae* da cutícula de soldados por meio de *grooming*. Além disso, o comportamento de *grooming*, juntamente com a capacidade antifúngica do tubo digestivo dos cupins, proporcionam uma defesa efetiva individual e também inter-individual contra fungos (CHOUVENC et al., 2009; CHOUVENC et al., 2010). Adicionalmente, enterrar os cadáveres pode ser uma estratégia de defesa da colônia (LI et al., 2010), pois cadáveres resultantes de interações agonísticas entre os cupins *C. gestroi* e *C. formosanus* foram enterrados, bloqueando túneis que nunca foram utilizados. Bloquear com cadáveres túneis pode evitar encontros agonísticos e definir limites entre áreas de forrageamento de colônias adjacentes.

Operários forrageiros de *C. gestroi* canibalizaram cadáveres recentes de companheiros de ninhos (corpos de operários e soldados) e também consumiram cadáveres recentes de soldados de outras colônias e outras espécies. Contudo, muitas vezes, os soldados não foram consumidos integralmente, visto que restaram as cabeças, as quais contêm estruturas bastante quitinosas com dureza considerável. Do mesmo modo, cupins das espécies *C. formosanus*, *R. speratus* e *M. crassus* consumiram cadáveres de companheiros intracoloniais (NEOH et al., 2012). O canibalismo e a necrofagia proporcionam a reciclagem de nutrientes e podem ocorrer como resposta à condição de estresse, como deficiência de proteínas (LEE e WOOD, 1971; POTRIKUS e BREZNAK, 1981, COLLINS, 1983; HAIFIG et al., 2017). Contudo, em Isoptera os experimentos indicam que a função primária do canibalismo é a higienização do ninho de cupins. O consumo de cadáveres pode ser uma eficiente estratégia de higiene, pois os tubos digestivos dos cupins apresentam ação antimicrobiana que neutraliza entomopatógenos e impede o desenvolvimento de fungos (LIMA; COSTA-LEONARDO, 2007; CHOUVENC et al., 2009).

O comportamento de alarme em cupins é uma forma de comunicação entre companheiros de ninhos por meio de interações mecânicas com finalidade de integrar uma

estratégia de defesa. Este comportamento pode ser elicitado por mudanças repentinas nas condições ambientes, tais como: correntes de ar, luz, substâncias químicas, vibração no substrato, entre outras (HERTEL et al., 2010, HOWSE, 1964). Deste modo, não é possível inferir que o comportamento de alarme exibido por *C. gestroi* foi elicitado somente pela presença dos cadáveres, uma vez que há uma ampla gama de fatores que promovem a exibição de alarme, os quais não puderam ser totalmente controlados nos bioensaios desenvolvidos. Assim, o fato dos forrageiros apresentarem numa frequência de comportamento de alarme em experimentos com cadáveres intercoloniais (Figura 6) deve resultar de outras interferências, não somente da natureza dos cadáveres introduzido.

O comportamento de recuo e de agonismo constam no repertório comportamental de *C. gestroi*, contudo, houve uma clara distinção entre as castas que exerceram estes comportamentos, ou seja, somente os operários praticaram o recuo, enquanto que somente os soldados realizaram a defesa. Este fato influenciou os resultados como indicados nos gráficos. Além disso, o comportamento de recuo ou afastamento após contato com o cadáver não foi descrito em outros estudos que tratam do comportamento higiênico em cupins. Nos grupos de forrageiros de *C. gestroi*, fica evidente que cadáveres recentes de operários e soldados de origem interespecífica elicitaram mais este comportamento do que os demais.

Cupins do tipo ninho “múltiplas peças”, ou seja, cupins que constroem ninho e saem do mesmo para buscar fontes alimentares, parecem exibir um comportamento higiênico mais complexo que cupins do tipo “única peça”, ou seja, que vivem no próprio alimento. Porém, este comportamento é similar entre as espécies com este tipo de ninho, como pode ser observado na figura 9 onde estão colocados os destinos finais dos cadáveres observados nos bioensaios com *C. gestroi* comparados com os resultados de bioensaios obtidos para a espécie *Cornitermes cumulans* (SILVA e COSTA-LEONARDO, Capítulo I). O único comportamento que não foi observado em *C. cumulans* foi o consumo dos corpos, mas como este cupim carregou cadáveres para o ninho, pode ter havido consumo de cadáveres no interior do mesmo. Portanto, o manejo de cadáveres é essencial para o desenvolvimento e homeostase destes ninhos “múltiplas peças”. Contudo, um estudo de maior número de espécies de Isoptera permitirá uma melhor avaliação dos padrões que regem as atividades componentes deste importante comportamento.

5. Referências Bibliográficas

CHOUVENC T.; SU, N.-Y. Apparent synergy among defense mechanisms in subterranean termites (Rhinotermitidae) against epizootic events – The limits and potential for biological control. **Journal of Economic Entomology**, v.103, p. 1327–1337, 2010.

CHOUVENC, T.; SU, N.-Y. When subterranean termites challenge the rules of fungal Epizootics. **PLoS One** v.7, e34484, 2012.

CHOUVENC, T.; SU, N-Y; ROBERT, A. Inhibition of *Metarhizium anisopliae* in the alimentary tract of the eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 101, n. 2, p. 130-136, 2009.

CHOUVENC, T.; SU, N. Y.; ROBERT, A. Inhibition of the fungal pathogen *Metarhizium anisopliae* in the alimentary tracts of five termite (Isoptera) species. **Florida Entomologist**, v. 93, n. 3, p. 467-469, 2010.

CHOUVENC, T.; ROBERT, A.; SÉMON, E.; BORDEREAU, C. Burial behavior by dealates of the termite *Pseudacanthotermes spiniger* (Termitidae, Macrotermitinae) induced by chemical signals from termite corpses. **Insectes Sociaux**, v. 59, p.119–125, 2012.

CHOUVENC, THOMAS et al. Revisiting *Coptotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae): a global taxonomic road map for species validity and distribution of an economically important subterranean termite genus. **Systematic Entomology**, v. 41, n. 2, p. 299-306, 2016.

COLLINS, N.M. The utilization of nitrogen resources by termites (Isoptera). In: J.A. LEE, J.A.; MCNEILL,S.; RORISON, I.H (eds) **Nitrogen as an ecological factor**, Oxford, University Press, Oxford, 1983, p.381-412.

COSTA-LEONARDO, A.M. **Cupins-praga: morfologia, biologia e controle**. Rio Claro: Divisa Editora, 2002, 128 p.

COSTA-LEONARDO, A.M. Dinâmica do forrageamento em cupins subterrâneos. In: VILELA, E.F.; SANTOS, I.A.; SCHOEREDER, J.H.; SERRÃO, J.E.; CAMPOS, L.A. O.; LINO-NETO, J. (Eds.). **Insetos Sociais: da Biologia à Aplicação**, Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008, p. 347-358.

CRAWLEY, M. J. **The R book**. John Wiley & Sons, 2012.

CREMER, S.; ARMITAGE, S. A.; SCHMID-HEMPEL, P. Social immunity. **Current Biology**, v. 17, n. 16, p. R693-R702, 2007.

DIEZ, L.; DENEUBOURG, J.L.; HOEBEKE, L.; DETRAIN, C. Orientation in corpse-carrying ants: memory or chemical cues? **Animal Behaviour**, v.81, p. 1171–1176, 2011.

DIEZ, L.; MOQUET, L.; DETRAIN, C. Post-mortem changes in chemical profile and their influence on corpse removal in ants. **Journal of chemical ecology**, v. 39, n. 11-12, p. 1424-1432, 2013.

- DRIESSEN, G. J. J.; RAALTE, A. T.; BRUYN, G. J. Cannibalism in the red wood ant, *Formica polyctena* (Hymenoptera: Formicidae). **Oecologia**, v. 63, n. 1, p. 13-22, 1984.
- EVANS, T.A.; FORSCHLER, B.T.; GRACE, J.K. Biology of Invasive Termites: A Worldwide Review. **Annual Review Entomology**, v.58, p. 455-474, 2013.
- HAIFIG, I.; LIMA, J. T.; JANEL, V.; COSTA-LEONARDO, A. M. Effects of group size and starvation on survival of the Asian subterranean termite *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Austral Entomology**, 2017.
- HERTEL, H.; HANSPACH, A.; PLARRE, R. Differences in alarm responses in drywood and subterranean termites (Isoptera: Kalotermitidae and Rhinotermitidae) to physical stimuli. **Journal of Insect Behavior**, v. 24, n. 2, p. 106-115, 2011.
- HOWSE, P. E. The significance of the sound produced by the termite *Zootermopsis angusticollis* (Hagen). **Animal Behaviour**, v. 12, n. 2, p. 284-IN8, 1964.
- HUANG, Z.-Y.; ROBINSON, G. E.; BORST, D. W. Physiological correlates of division of labor among similarly aged honey bees. **Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v. 174, n. 6, p. 731-739, 1994.
- JENKINS, T.M.; JONES, S.C.; LEE, C.-Y. ; FORSCHLER, B.T. ; CHEN, Z.; LOPEZMARTINEZ, G. ; GALLAGHER, N.T.; BROWN, G.; NEAL, M.; THISTLETON, B.; KLEINSCHMIDT, S. Phylogeography illuminates maternal origins of exotic *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, p. 612-621, 2007.
- JONES. C. G.; LAWTON, J. H; SHACHAK, M. Organisms as ecosystem engineers. **Oikos**, v. 69, p. 373–386, 1994.
- JULIAN, G. E.; CAHAN, S. Undertaking specialization in the desert leaf-cutter ant *Acromyrmex versicolor*. **Animal Behaviour**, v. 58, n. 2, p. 437-442, 1999
- LEE, C.Y. Perspective in Urban Insect Pest Management in Malaysia. **Vector Control Research Unit**, Universiti Sains Malaysia. 104 pp., 2007.
- LEE, K. E.; WOOD, T. G. **Termites and Soils**. Academic Press, London, 1971, 251 pp.
- LI, H. F.; YANG, R.; L NAN-YAO, A. Interspecific Competition and Territory Defense Mechanisms of *Coptotermes formosanus* and *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae) **Environmental Entomology**, v. 39, n.5, p. 1601-1607, 2010.
- LIMA, J. T.; COSTA-LEONARDO, A. M. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera). **Biota Neotropica**, v.7, n.2, p. 243-250, 2007.
- LÓPEZ-RIQUELME, G. O.; FANJUL-MOLES, M. L. The funeral ways of social insects. Social strategies for corpse disposal. **Trends in Entomology**, v. 9, p. 71-129, 2013.

- NEOH, K.-B.; YEAP, B.-K.; TSUNODA, K.; YOSHIMURA, T.; LEE, C.-Y. Do termites avoid carcasses? Behavioral responses depend on the nature of the carcasses. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, e036375, 2012.
- NEVES, P.J.; ALVES, S. B. Selection of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. strains for control of *Cornitermes cumulans* (Kollar). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 43, n. 4, p. 0-0, 2000.
- NOIROT, C.; DARLINGTON, J.P.E.C. Termite nests: architecture, regulation and defence. In: ABE, T., BIGNELL, D.E., HIGASHI, M. (Eds.), **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000, p. 121–139.
- PINHEIRO, J.; BATES, D.; DEBROY, S.; SARKAR, D.; R Core Team. *_nlme*: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-131, 2017. <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- POTRIKUS, C. J.; BREZNAK, J. A. Gut bacteria recycle uric acid nitrogen in termites: a strategy for nutrient conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 78, n. 7, p. 4601-4605, 1981.
- R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2017. URL <https://www.R-project.org/>.
- RENUCCI, M.; TIRARD, A.; PROVOST, E. Complex undertaking behavior in *Temnothorax lichtensteini* ant colonies: from corpse-burying behavior to necrophoric behavior. **Insectes Sociaux**, v. 58, n. 1, p. 9-16, 2011.
- SCHEFFRAHN, R. H.; SU, N.-Y. Asian subterranean termite, *Coptotermes gestroi* (= *havilandi*) (Wasmann) (Insecta : Isoptera : Rhinotermitidae). **Institute of Food and Agricultural Sciences**, University of Florida, Gainesville, 2004.
- SUN, Q.; HAYNES, K. F.; ZHOU, X. Differential undertaking response of a lower termite to congeneric and conspecific corpses. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1650, 2013.
- ULYSHEN, M. D.; SHELTON, T. G. Evidence of cue synergism in termite corpse response behavior. **Naturwissenschaften**, v. 99, p. 89–93, 2012.
- VISSCHER, P.K. The honey bee way of death: necrophoric behavior in *Apis mellifera* colonies **Animal Behaviour**, v. 31, p. 1070–1076, 1983.
- WILSON, E. O. **The insect societies**. Cambridge: Harvard University Press, 1971, p.548.
- WILSON, E. O.; DURLACH, N. I.; ROTH, L. M. Chemical releasers of necrophoric behavior in ants. **Psyche**, v. 65, n. 4, p. 108-114, 1958.
- YEAP, B. K.; OTHMAN, A. S.; LEE, V. S.; LEE, C.Y. Genetic relationship between *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes vastator* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal Economic Entomology**, v. 100, n. 2, p. 467-474, 2007.

3. Conclusões

- O casal real de *Cryptotermes brevis* não participa do comportamento higiênico em subcolônias que já apresentam falsos-operários e ninfas.
- Falsos-operários e ninfas participam ativamente do comportamento higiênico em subcolônias de *C. brevis*. A origem de cadáveres de cupins é discriminada por estes indivíduos e todos os corpos são consumidos, com exceção das cabeças.
- Subcolônias de *Coptotermes gestroi* realizam comportamento higiênico diferencial em cadáveres com diferentes tempos *post-mortem*, origem e casta.
- O destino final dos cadáveres de cupins provenientes de outras espécies e de outras colônias é o enterro, com prévio *grooming* por parte de subcolônias de *C. gestroi*.
- Em colônias de *Cornitermes cumulans*, o destino final dos cadáveres interespecíficos e intercoloniais é o enterro. Já, os cadáveres intracoloniais podem ser ignorados, enterrados ou carregados para o ninho, mostrando plasticidade comportamental do manejo destes corpos por esta espécie.
- O comportamento de *grooming* de *C. cumulans* e *C. gestroi* em cadáveres, juntamente com o isolamento físico por meio do enterro dos mesmos com solo, colabora para a não dispersão de patógenos entre os membros da colônia.
- O comportamento higiênico reflete a filogenia de Isoptera. O repertório comportamental higiênico é mais diversificado e sofisticado nos cupins mais derivados *C. cumulans* e *C. gestroi*, que possuem ninho do tipo “múltiplas peças” do que no cupim basal *C. brevis*, com ninho “única peça”. Os primeiros apresentam comportamento higiênico constituído por um repertório comportamental mais amplo e complexo, incluindo o recrutamento de determinados indivíduos para executar tarefas específicas.

4. Referências Bibliográficas

ARAÚJO, R. L. Termites of the neotropical region. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F. M. (eds). **Biology of termites**, v.2, New York: Academic Press, pp. 527-571, 1970.

BIGNELL, D.E.; EGGLETON, P. Termites in ecosystems, In: ABE, T.; BIGNELL, D.E.; HIGASHI, M. (eds.) **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 2000, p. 363-387.

CHOE, D.H.; MILLAR, J. G.; RUST, M. K. Chemical signals associated with life inhibit necrophoresis in Argentine ants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 20, p. 8251-8255, 2009.

CHOUVENC T.; SU, N.-Y. Apparent synergy among defense mechanisms in subterranean termites (Rhinotermitidae) against epizootic events – The limits and potential for biological control. **Journal of Economic Entomology**. v.103, p. 1327–1337, 2010.

CHOUVENC, T.; SU, N.-Y. When subterranean termites challenge the rules of fungal Epizootics. **PLoS One** v. 7, n. 3, e34484, 2012.

CHOUVENC, T.; SU, N.-Y; ELLIOTT, M. L. Interaction between the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) and the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in foraging arenas. **Journal of Economic Entomology**. v.101, p. 885–893, 2008.

CHOUVENC, T.; SU, N-Y; ROBERT, A. Inhibition of *Metarhizium anisopliae* in the alimentary tract of the eastern subterranean termite *Reticulitermes flavipes*. **Journal of invertebrate pathology**, v. 101, n. 2, p. 130-136, 2009.

CHOUVENC, T.; ROBERT, A.; SÉMON, E.; BORDEREAU, C. Burial behavior by dealates of the termite *Pseudacanthotermes spiniger* (Termitidae, Macrotermitinae) induced by chemical signals from termite corpses. **Insectes Sociaux**. v. 59, p.119–125, 2012.

CONSTANTINO, R. On-line Termites Database. Disponível em: <<http://www.unb.br/ib/zoo/docente/constant/catal/catnew.htm/>>. Acesso em 20 fev 2017.

COSTA-LEONARDO, A.M. **Cupins-praga: morfologia, biologia e controle**. Rio Claro: Divisa Editora, 2002, 128 p.

COSTA-LEONARDO, A. M. Arquitetos das pastagens e beiras de estradas. **Ciência Hoje**, Rio de Janeiro, RJ, v. 36, p. 62 - 65, 01 jun. 2005.

COSTA-LEONARDO, A.M. Dinâmica do forrageamento em cupins subterrâneos. In: VILELA, E.F.; SANTOS, I.A.; SCHOEREDER, J.H.; SERRÃO, J.E.; CAMPOS, L.A. O.; LINO-NETO, J. (Eds.). **Insetos Sociais: da Biologia à Aplicação**, Viçosa, MG: Ed. UFV, 2008, p. 347-358.

ENGEL, M.S. Family-group names for termites (Isoptera), redux. **Zookeys**, v. 148, p. 171-184, 2011.

ENGEL, M.S.; GRIMALDI, D., KRISHNA, K. Termites: their phylogeny, classification, and risen to ecological dominance. **American Museum Novitates**, v. 3650, p. 1-27, 2009.

EVANS, T.A.; FORSCHLER, B.T.; GRACE, J.K. Biology of Invasive Termites: A Worldwide Review. **Annual Review Entomology**, v.58, p. 455-474, 2013.

GORDON, D.M. Dependence of necrophoric response to oleic acid on social context in the ant, *Pogonomyrmex badius*. **Journal of Chemical Ecology**. v. 9, n. 1, p. 105-111, 1983.

HASKINS, C. P.; HASKINS, E. F. Notes on necrophoric behavior in the archaic ant *Myrmecia vindex* (Formicidae: Myrmeciinae). **Psyche** 81, p. 258–267, 1974.

HOWARD, D.F.; TSCHINKEL, W.R. Aspects of necrophoric behavior in the red imported fire ant, *Solenopsis invicta*. **Behaviour** 56, p. 158–180, 1976.

JENKINS, T.M.; JONES, S.C.; LEE, C.-Y. ; FORSCHLER, B.T. ; CHEN, Z.; LOPEZMARTINEZ, G. ; GALLAGHER, N.T.; BROWN, G.; NEAL, M.; THISTLETON, B.; KLEINSCHMIDT, S. Phylogeography illuminates maternal origins of exotic *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, p. 612-621, 2007.

JONES. C.G.; LAWTON, J.H.; SHACHAK, M. Organisms as ecosystem engineers. In: **Ecosystem management**. Springer New York, 1994. p. 130-147.

JOST, C.; HAIFIG, I.; DE CAMARGO-DIETRICH, C.R.R.; COSTA-LEONARDO, A.M. A comparative tunnelling network approach to assess interspecific competition effects in termites. **Insectes Sociaux.**, 50, p. 369–379, 2012.

JOUQUET, P.; DAUBER, J.; LAGERLOF, J.; LAVELLE P.; LEPAGE, M. Soil invertebrates as ecosystem engineers: intended and accidental effects on soil and feedback loops, **Applied Soil Ecology**. v.32, p. 153–164, 2006.

KORB, J. The ecology of social evolution in termites. In: KORB, J.; HEINZE, J. (eds), **Ecology of social evolution**. p. 151–174. Berlin, Germany: Springer, 2008.

KRAMM, K. R.; WEST, D. F.; ROCKENBACH, P. G. Termite pathogens: transfer of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* between *Reticulitermes* sp. termites. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 40, n. 1, p. 1-6, 1982.

KRISHNA, K.; GRIMALDI, D.A.; KRISHNA, V; ENGEL, M.S. Neoisoptera excluding Termitidae, In: KRISHNA, K., GRIMALDI, D.A. KRISHNA, V. ENGEL, M.S. (Eds.), **Treatise on the Isoptera of the world**. New York: American Museum of Natural History, 2013, p. 693-701.

LI, H. F.; YANG, R.; L NAN-YAO, A. Interspecific Competition and Territory Defense Mechanisms of *Coptotermes formosanus* and *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae) **Environmental Entomology**, v. 39, n. 5, p. 1601-1607, 2010.

LÓPEZ-RIQUELME, G. O.; FANJUL-MOLES, M. L. The funeral ways of social insects. Social strategies for corpse disposal. **Trends in Entomology**, v. 9, p. 71-129, 2013.

NEOH, K.-B.; YEAP, B.-K.; TSUNODA, K.; YOSHIMURA, T.; LEE, C.-Y. Do termites avoid carcasses? Behavioral responses depend on the nature of the carcasses. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, e036375, 2012.

NOIROT, C.; DARLINGTON, J.P.E.C. Termite nests: architecture, regulation and defence. In: ABE, T., BIGNELL, D.E., HIGASHI, M. (Eds.), **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000, p. 121–139.

REDFORD, K. H. The termitaria of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) and their role in determining a potential keystone species. **Biotropica**, v. 16, n. 2, p. 112-119, 1984.

REMMEN, L.; SU, N.-Y. Tunneling and Mortality of Eastern and Formosan Subterranean Termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in Sand Treated with Thiamethoxam or Fipronil. **J. Journal of Economic Entomology**, 98, p. 906-910, 2005.

ROMAGNAMO, L.F.T.; NAHUZ, M.A.R. Controle de cupins subterrâneos em ambientes construídos. **Técnica A revista do engenheiro civil IPT**, São Paulo, v. 114, p. 1, 2006.

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

SCHEFFRAHN, R.H.; SU, N.-Y. Asian subterranean termite, *Coptotermes gestroi* (= *havilandi*) (Wasmann) (Insecta : Isoptera : Rhinotermitidae). **Institute of Food and Agricultural Sciences**, University of Florida, Gainesville, 2000.

SPIVAK M.; MASTERMAN R.; ROSS R.; MESCE K.A. Hygienic behavior in the honey bee (*Apis mellifera* L.) and the modulatory role of octopamine. **Journal of Neurobiology**, 55(3): 341-354, 2003.

SU, N.-Y. Response of the Formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) to baits or nonrepellent termiticides in extended foraging arenas. **Journal of Economic Entomology**. 98, 2143–2152, 2005.

SUGIMOTO, A.; BIGNELL, D. E.; MACDONALD, J. A. Global impact of termites on the carbon cycle and atmospheric trace gases. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E; HIGASHI, M. **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. Dordrecht Kluwer Academic Publishers, 2000, p. 409–435.

SUN, Q.; ZHOU, X. Corpse management in social insects. **International Journal of Biological Sciences** 9 (3), p. 313-321, 2013.

SUN, Q.; HAYNES, K.F.; ZHOU, X. Differential undertaking response of a lower termite to congeneric and conspecific corpses. **Scientific Reports**, v. 3, p. 1650, 2013.

THORNE, B. L.; HAVERTY, M. I. A review of intracolony, intraspecific, and interspecific agonism in termites. **Sociobiology**, v. 19, p. 115-145, 1991.

ULYSHEN, M. D.; SHELTON, T. G. Evidence of cue synergism in termite corpse response behavior. **Naturwissenschaften**, v. 99, p. 89–93, 2012.

VISSCHER, P. K. The honey bee way of death: necrophoric behavior in *Apis mellifera* colonies **Animal Behaviour**, v. 31, p. 1070–1076, 1983.

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

WILSON, E.O. The sociogenesis of insect colonies. **Science**, 228, p. 1489-1495, 1985.

YAO, M.; ROSENFELD, J.; ATTRIDGE, S.; SIDHU, S.; AKSENOV, V.; ROLLO, C.D. The ancient chemistry of avoiding risks of predation and disease. **Evolutionary Biology**. v. 36, p. 267–281, 2009.