



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de São José do Rio Preto

Nara Cristina Chiarini Pena Barbosa

Integrando diferentes abordagens genéticas para a compreensão dos cupins: delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* (Holmgren, 1910) (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), filogeografia da espécie *N. jaraguae* no bioma Mata Atlântica e filogenia das espécies do gênero *Nasutitermes* Dudley, 1890

São José do Rio Preto
2018

Nara Cristina Chiarini Pena Barbosa

Integrando diferentes abordagens genéticas para a compreensão dos cupins: delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* (Holmgren, 1910) (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), filogeografia da espécie *N. jaraguae* no bioma Mata Atlântica e filogenia das espécies do gênero *Nasutitermes* Dudley, 1890

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadores: CNPq-Proc.140534/2014-8
CAPES-Proc.88881.135711/2016-01
FAPESP-Proc.2013/20068-9

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Adriana Coletto Morales-Corrêa e Castro
Co-orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Lilian Madi-Ravazzi

São José do Rio Preto
2018

Barbosa, Nara Cristina Chiarini Pena.

Integrando diferentes abordagens genéticas para a compreensão dos cupins : delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* (Holmgren, 1910) (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), filogeografia da espécie *N. jaraguae* no bioma Mata Atlântica e filogenia das espécies do gênero *Nasutitermes* Dudley, 1890 / Nara Cristina Chiarini Pena Barbosa. -- São José do Rio Preto, 2018

113 f. : il., tabs.

Orientador: Adriana Coletto Morales-Corrêa e Castro

Coorientador: Lilian Madi-Ravazzi

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Genética animal. 2. Térmita - Mata Atlântica. 3. Filogeografia.
4. Filogenia. I. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. II. Título.

CDU – 591.15

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

Nara Cristina Chiarini Pena Barbosa

Integrando diferentes abordagens genéticas para a compreensão dos cupins: delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* (Holmgren, 1910) (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), filogeografia da espécie *N. jaraguae* no bioma Mata Atlântica e filogenia das espécies do gênero *Nasutitermes* Dudley, 1890

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biociências, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadores: CNPq-Proc.140534/2014-8
CAPES - Proc.88881.135711/2016-01
FAPESP - Proc.2013/20068-9

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Adriana Coletto Morales-Corrêa e Castro
UNESP – Câmpus de Jaboticabal
Orientadora

Prof^a. Dr^a Claudia Marcia Aparecida Carareto
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

Prof^a. Dr^a. Héliida Ferreira da Cunha
UEG – Anápolis

Prof. Dr. Ives Haifig
UFU – Monte Carmelo

Prof^a. Dr^a. Mary Massumi Itoyama
UNESP – Câmpus de São José do Rio Preto

São José do Rio Preto
09 de março de 2018

Dedico este trabalho, e as conquistas decorrentes dele, à minha família.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, às pessoas que contribuíram diretamente para a realização desse trabalho. À Profa. Adriana Coletto Morales-Corrêa e Castro, por ser não apenas minha orientadora, mas uma amiga, que mais uma vez aceitou o desafio do novo e esteve presente nas horas mais difíceis e com as palavras certas, sendo fundamental para o meu crescimento profissional. Agradeço à Profa. Eliana Marques Canello e toda a equipe do Museu de Zoologia da USP, que enriquecem nossos trabalhos com sua vasta experiência e nos proporcionam momentos de descontração em campo e nos congressos. À Profa. Lilian Madi-Ravazzi, pela coorientação e apoio. Agradeço ainda ao Programa de Pós-graduação em Biociências, e a todos os funcionários do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (UNESP/IBILCE) e da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP/FCAV), pela estrutura e suporte, bem como à Profa. Janete Aparecida Desidério e ao Prof. Manoel Victor Franco Lemos, por cederem os equipamentos e o espaço do Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada, necessários a realização deste trabalho. Ao Prof. Edward Vargo e à toda equipe do *Rollins Urban and Structural Entomology Facility*, pela atenção, carinho e paciência e à *Texas A&M University*, pela estrutura disponibilizada durante a realização do doutorado sanduíche. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa regular (processo nº 140534/2014-8), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa no Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (processo nº 88881.135711/2016-01) e à Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio financeiro do projeto (processo nº 2013/20068-9).

Por último, mas não menos importante, agradeço àqueles que me apoiaram durante todos esses anos. Agradeço aos meus pais, Honorato e Maria do Carmo, por todo o amor dispensado a mim e por nunca medirem esforços para que eu alcançasse meus objetivos e realizasse meus sonhos, e aos meus irmãos, José Henrique, Márcia Cristina e José Renato e meus cunhados, irmãos de

coração, por todo o apoio, conselhos e incentivo. Ao meu namorado, Pedro Henrique, por toda a compreensão, paciência e incentivo, principalmente nos momentos em que nada parecia dar certo, e a toda sua família, por sempre desejarem meu sucesso. Aos meus sobrinhos, Davi e José Lucas, pelos momentos de descontração em meio à falta de tempo. Aos amigos do LaBE, Amanda, Maria Cecília, Thaís, Rullian e Rafael, pelos bolos e aflições compartilhadas. Às amigas de longa data, Josiane de Fátima, Gabriela e Josiane Pires, por todo apoio, mesmo que à distância. Às amigas Samara e Bruna, pelos infinitos documentos entregues na seção de pós, as caminhadas na represa e todo o companheirismo. Às melhores *roomates*, Jussara, Josiane e Joelma, que dividiram não apenas uma casa, mas suas vidas comigo, e transformaram quatro meses numa amizade para a vida toda, fazendo parte da minha “família americana”. Agradeço também à Catalina e Nick (e não podia faltar a cachorra Luna), que fizeram eu me sentir em casa, mesmo estando tão longe e perdida, e a todos que fizeram do momento mais desafiador da minha vida, um momento inesquecível. Agradeço também àqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho e que eu não tenha citado para não estender esses agradecimentos, mas que certamente recebem meu reconhecimento e gratidão.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

O gênero *Nasutitermes* contém 257 espécies descritas, sendo considerado o gênero com a maior riqueza de espécies e a maior distribuição geográfica, entretanto, sua taxonomia ainda é bastante confusa. Este gênero é apontado como dominante no bioma Mata Atlântica e possui várias espécies que se distribuem por toda a região, como a espécie *Nasutitermes jaraguae*, a qual é morfológicamente muito semelhante a outras espécies que ocorrem nas mesmas localidades. Dessa forma, este trabalho teve como objetivos diferenciar, por meio de ferramentas moleculares, espécies do Grupo *N. jaraguae*; definir os processos responsáveis pelo padrão de distribuição da variabilidade genética da espécie *N. jaraguae* e entender as relações filogenéticas e os processos de diversificação das espécies do gênero *Nasutitermes*. As análises de delimitação de espécies do Grupo *N. jaraguae* foram realizadas com o gene mitocondrial COII e mostraram que os caracteres morfológicos, diagnósticos para a identificação das espécies analisadas, tanto reuniram espécimes geneticamente distintos, como separaram espécimes geneticamente semelhantes. Este cenário reflete a discordância entre a separação de linhagens e os critérios utilizados para a delimitação de espécies por diferentes conceitos de espécies, bem como demonstra que estes podem representar a plasticidade fenotípica de uma mesma linhagem. Evidenciou-se sete unidades evolutivas distintas, as quais podem ser consideradas espécies com base nos conceitos filogenéticos e evolutivos de espécies. A análise filogeográfica de *N. jaraguae*, realizada com o gene COII, demonstrou a existência de três grupos haplotípicos bem estruturados, cujos haplótipos encontram-se geograficamente agrupados. A organização na distribuição geográfica dos haplogrupos pode ser explicada com base na hipótese de refúgios florestais do Plioceno-Pleistoceno, o que reforça o padrão de distribuição de espécies na Mata Atlântica observado para outros grupos biológicos, enquanto a distribuição dos haplótipos dentro dos haplogrupos pode ser explicada pela hipótese de gradientes ecológicos. As análises filogenéticas do gênero *Nasutitermes* foram realizadas com os genes COII, 16S rRNA e 12S rRNA e a região ITS2. Espécies com distribuição geográfica distante apareceram filogeneticamente relacionadas, indicando que a origem do gênero *Nasutitermes* é posterior a separação da Gondwana, com episódios de dispersão intercontinentais dentro do gênero, bem como eventos de especiação independentes nas regiões zoogeográficas. Foi possível ainda sugerir novas hipóteses sobre a diversificação de *Nasutitermes* e, dessa forma, compreender melhor a história evolutiva deste gênero.

Palavras-chave: Cupim. Mata Atlântica. COII. 16S rRNA. 12S rRNA. ITS2.

ABSTRACT

The genus *Nasutitermes* contains 257 described species, being the genus with the greatest species richness and the broadest geographical distribution, however, its taxonomy is confused still. This genus is considered as dominant in the Atlantic Forest biome and includes several species that are distributed throughout the region, such as *Nasutitermes jaraguae*, which is morphologically similar to other species that occur in the same localities. This study aimed to differentiate species of the Group *Nasutitermes jaraguae* through molecular tools; to define the processes by distribution pattern of the genetic variability of *N. jaraguae*, to understand the phylogenetic relationships and the diversification process of the *Nasutitermes* species. The analysis of species delimitation of the Group *N. jaraguae* was performed with the mitochondrial COII gene. The morphological diagnostic characters for the identification of the species analyzed both grouped genetically distinct specimens and separated specimens genetically similar. This scenario reflects the disagreement between the separation of lineages and the criteria used for the species delimitation by different species concepts, and demonstrates these may represent the phenotypic plasticity of the same lineage. It was evidenced seven distinct evolutionary units, which can represent species based on the phylogenetic and evolutionary concepts of species. The phylogeographic analysis of *N. jaraguae*, performed with the COII gene, demonstrated the existence of three well-structured haplotypic groups, whose haplotypes are geographically grouped. The organization in the geographic distribution of haplogroups can be explained based on the Pliocene-Pleistocene refuge hypothesis, which reinforces the pattern of species distribution in the Atlantic Forest observed for other biological groups, while the distribution of haplotypes within the haplogroups can be explained by the ecological gradient hypothesis. Phylogenetic analyzes of the genus *Nasutitermes* were performed with mitochondrial genes (COII, 16S rRNA and 12S rRNA) and a nuclear fragment (ITS2 region). Species with distant geographic distribution appeared phylogenetically nearby, indicating the origin of the genus *Nasutitermes* is posterior to Gondwana separation, with intercontinental dispersion episodes within the genus, as well as independent speciation events in the zoogeographic regions. It was also possible to suggest new hypotheses about the diversification of *Nasutitermes* and, in this way, to better understand its evolutionary history.

Keywords: Termite. Atlantic Forest. COII. 16S rRNA. 12S rRNA. ITS2.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Visão dorsal da cabeça de um espécime de <i>Nasutitermes jaraguae</i> , na qual podem ser observados aspectos morfológicos, como formato e coloração.	16
Figura 2. Mapa da distribuição das fitofisionomias na Mata Atlântica brasileira.	17
Figura 3. Localização geográfica aproximada das principais descontinuidades filogeográficas na Mata Atlântica.	19
Figura 4. Mapa de distribuição das amostras de <i>Nasutitermes jaraguae</i> utilizadas nas análises populacionais e filogeográficas.	34
Figura 5. Divisões geográficas consideradas para as análises filogenéticas.	39
Figura 6. Redes de haplótipos para o gene COII, formadas pelo Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> (<i>N. jaraguae</i> , <i>N. ehrhardti</i> , <i>Nasutitermes</i> sp. 1, <i>Nasutitermes</i> sp. 2, <i>Nasutitermes</i> sp. 3 e <i>Nasutitermes</i> sp. 4).	48
Figura 7. Inferência Bayesiana para o gene COII para o Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> (<i>N. jaraguae</i> , <i>N. ehrhardti</i> , <i>Nasutitermes</i> sp. 1, <i>Nasutitermes</i> sp. 2, <i>Nasutitermes</i> sp. 3 e <i>Nasutitermes</i> sp. 4).	49
Figura 8. Redes de haplótipos para o gene COII, formadas pelo Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> (<i>N. jaraguae</i> , <i>N. ehrhardti</i> , <i>Nasutitermes</i> sp. 1, <i>Nasutitermes</i> sp. 2, <i>Nasutitermes</i> sp. 3 e <i>Nasutitermes</i> sp. 4), evidenciando os grupos obtidos por inferência filogenética e distância genética, representada por retângulos coloridos.	52
Figura 9. Gráfico do teste de Mantel realizado para as populações de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	54
Figura 10. Rede de haplótipos da espécie <i>Nasutitermes jaraguae</i> para o gene COII.	55
Figura 11. Rede de haplótipos da espécie <i>Nasutitermes jaraguae</i> para o gene COII aninhada segundo a metodologia de Templeton, Boerwinkle e Sing (1987).	56
Figura 12. <i>Mismatch distribution</i> para os haplogrupos de <i>Nasutitermes jaraguae</i> . A - haplogrupo 1; B - haplogrupo 2; C - haplogrupo 3.	57
Figura 13. Inferência Bayesiana para a espécie <i>Nasutitermes jaraguae</i> . Valores nos nós indicam o tempo de divergência e a probabilidade posterior que sustentam os cladogramas.	58
Figura 14. Inferência Bayesiana para a espécie <i>Nasutitermes jaraguae</i> . (A) As cores indicam a fitofisionomia em que as amostras foram coletadas e os valores nos nós representam a probabilidade posterior bayesiana (>50). (B) As cores representam a localização dos espécimes e a possível origem geográfica dos ancestrais comuns. A escala indica o tempo em milhões de anos (Ma).	59
Figura 15. Inferência Bayesiana para o gênero <i>Nasutitermes</i> a partir dos dados concatenados (COII, 16S, 12S e ITS2), ressaltando os cladogramas mais basais.	61
Figura 16. Inferência Bayesiana para o gênero <i>Nasutitermes</i> a partir dos dados concatenados (COII, 16S, 12S e ITS2), ressaltando os cladogramas intermediários.	63
Figura 17. Inferência Bayesiana para o gênero <i>Nasutitermes</i> a partir dos dados concatenados (COII, 16S, 12S e ITS2), ressaltando os cladogramas mais internos.	64
Figura 18. Rotas de dispersão entre as regiões zoogeográficas inferidas com base na análise filogenética por inferência Bayesiana.	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies utilizadas na análise de delimitação de espécies do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	31
Tabela 2. Localidades amostradas nas análises populacionais e filogeográficas de <i>Nasutitermes jaraguae</i> , número de colônias amostradas em cada localidade (N) e número de identificação (<i>voucher</i>) da Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE).	32
Tabela 3. Espécies do gênero <i>Nasutitermes</i> e grupo externo utilizados nas análises filogenéticas; regiões zoogeográficas de ocorrência (Procheş e Ramdhani, 2012); número de identificação (<i>voucher</i>) da Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE) ou número de acesso no banco de dados <i>GenBank</i>	35
Tabela 4. <i>Primers</i> utilizados nos testes de amplificação dos genes empregados nas análises de delimitação de espécies do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> e análises filogeográficas, populacionais e filogenéticas.	40
Tabela 5. <i>Primers</i> desenhados para a amplificação de fragmentos menores do gene COII, suas respectivas sequências e posição em relação a uma sequência referência de <i>Nasutitermes corniger</i>	40
Tabela 6. Condições de amplificação dos genes utilizados nas análises de delimitação de espécies do Grupo <i>N. jaraguae</i> , análises filogeográficas e filogenéticas.	41
Tabela 7. Haplótipos presentes nas amostras representativas do Grupo <i>N. jaraguae</i> (<i>N. jaraguae</i> , <i>N. ehrhardti</i> , <i>Nasutitermes</i> sp. 1, <i>Nasutitermes</i> sp. 2, <i>Nasutitermes</i> sp. 3 e <i>Nasutitermes</i> sp. 4), número de espécimes que pertencem a cada haplótipo, número de identificação (<i>voucher</i>) que representam os indivíduos e respectivas espécies com base na identificação morfológica.	46
Tabela 8. Lista dos haplótipos que compõe as redes obtidas pelo TCS.	49
Tabela 9. Distância genética entre as espécies do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> , determinadas por morfologia.	50
Tabela 10. Distância genética entre as redes haplotípicas obtidas pelo TCS para os representantes do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	50
Tabela 11. Distância genética entre os clados obtidos pela análise filogenética por inferência Bayesiana para os representantes do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	51
Tabela 12. Parâmetros da estatística descritiva para as populações de <i>Nasutitermes jaraguae</i> com mais de uma colônia amostrada.	53
Tabela 13. Parâmetros significativos observados no teste de correlação entre a rede de haplótipos aninhada e a distribuição geográfica dos haplótipos e sua interpretação filogeográfica.	56
Tabela 14. Resultados dos testes de neutralidade para os haplogrupos de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	57

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Aspectos gerais de cupins e espécies de estudo.....	13
1.2 História biogeográfica da Mata Atlântica.....	16
1.3 Estudos genéticos.....	20
1.3.1 Delimitação de espécies com base em dados moleculares.....	20
1.3.2 Genética de populações e filogeografia.....	21
1.3.3 Reconstrução filogenética.....	25
2 OBJETIVOS.....	28
2.1 Objetivos gerais.....	28
2.2 Objetivos específicos.....	28
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Material biológico.....	30
3.1.1 Espécimes utilizados na análise de delimitação de espécies do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	30
3.1.2 Espécimes utilizados nas análises populacionais e filogeográficas de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	31
3.1.3 Táxons amostrados na análise filogenética do gênero <i>Nasutitermes</i>	34
3.2 Extração do DNA total.....	39
3.3 Amplificação dos genes mitocondriais e região nuclear.....	40
3.4 Purificação e sequenciamento.....	41
3.5 Análise das sequências.....	42
3.5.1 Delimitação de espécimes do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	42
3.5.2 Análise populacional e filogeográfica de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	43
3.5.3 Análise filogenética do gênero <i>Nasutitermes</i>	44
4 RESULTADOS.....	46
4.1 Delimitação de espécies do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	46
4.2 Análise populacional e filogeográfica de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	53
4.3 Análise filogenética do gênero <i>Nasutitermes</i>	60
5 DISCUSSÃO.....	66
5.1 Delimitação de espécies do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i>	66
5.2 Análise populacional e filogeográfica de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	69
5.3 Análise filogenética do gênero <i>Nasutitermes</i>	71
6 CONCLUSÕES.....	78
REFERÊNCIAS.....	80
APÊNDICE A - Amostras do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> utilizadas nesse estudo, seu número de identificação (<i>voucher</i>) na Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE), número de referência na Coleção de Isoptera do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) ou na Coleção de Isoptera do Laboratório de Termitologia (<i>LabTermes</i>) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Localidade de coleta, suas coordenadas geográficas e data de obtenção das amostras.....	99
APÊNDICE B - Distância genética entre os haplótipos do Grupo <i>Nasutitermes jaraguae</i> (<i>N. jaraguae</i> , <i>N. ehrhardti</i> , <i>Nasutitermes</i> sp. 1, <i>Nasutitermes</i> sp. 2, <i>Nasutitermes</i> sp. 3 e <i>Nasutitermes</i> sp. 4. A nomenclatura corresponde à utilizada na Tabela 7.	103
APÊNDICE C - Distância genética entre as populações de <i>Nasutitermes jaraguae</i>	111

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos gerais de cupins e espécies de estudo

Os cupins são insetos eussociais, ou seja, apresentam divisão reprodutiva do trabalho, sobreposição de gerações e cuidado cooperativo com a prole (WILSON, 1971). As castas apresentam adaptações morfológicas e funções distintas dentro da colônia, sendo os reprodutores capazes de se dispersar e reproduzir, enquanto os soldados são responsáveis pela defesa da colônia e os *helpers* (operários verdadeiros ou estágios imaturos) pelo forrageamento, alimentação dos imaturos e construção dos ninhos (ROISIN, 2000).

Apresentam grande importância ecológica, pois se alimentam de matéria orgânica vegetal em diferentes estágios de decomposição, participam dos processos de ciclagem de nutrientes e fixação de nitrogênio, bem como contribuem com a formação e areação do solo (BLACK; OKWAKOL, 1997; LAVELLE et al., 1997; DONOVAN; EGGLETON; BIGNELL, 2001). Apresentam ainda importante papel na base da cadeia alimentar, sendo consumidos por diversas espécies animais, como formigas, aranhas, aves e mamíferos (HIGASHI; ABE, 1997). Algumas espécies são consideradas pragas agrícolas e urbanas, de modo que apresentam também grande importância econômica (CONSTANTINO, 2002; FONTES; MILANO, 2002).

Os cupins normalmente constroem ninhos e esta característica de insetos sociais contribui com o desenvolvimento da colônia, pois os ninhos estão associados a proteção e a formação de um microclima adequado para o seu desenvolvimento (NOIROT; DARLIGTON, 2000). De acordo com o tipo de ninho e o hábito de forrageamento, os cupins podem ser classificados em *one-piece*, quando a colônia se alimenta e se desenvolve em um único pedaço de madeira, observado nas famílias Termopsidae, Kalotermitidae e em alguns Rhinotermitidae (*Prorhinotermes*); ou *multiple-piece*, nos quais os ninhos são construídos independentes da fonte de alimento, observado nas famílias Mastotermitidae, Rhinotermitidae, Hodotermitidae, Serritermitidae e Termitidae (KORB, 2008). Os ninhos podem ser classificados em (i) ninhos dentro de madeira, em que poucos pedaços de madeira são conectados por galerias subterrâneas; (ii) ninhos subterrâneos, quando construídos completamente abaixo do nível do solo; (iii) ninhos epígeos, construídos acima do nível do solo; (iv) ninhos arborícolas, construídos em troncos de árvores e ligados ao solo por galerias; e (v) inquilinos, quando espécies ocupam ninhos construídos por outras espécies (NOIROT, 1970; NOIROT; DARLIGTON, 2000). Esta diversidade de ninhos está associada à evolução

da vida social, com aspectos relacionados ao aumento da colônia, diversificação do alimento e estratégias de forrageamento (NOIROT; DARLIGTON, 2000).

Os cupins formam um grupo monofilético irmão ao grupo de baratas Cryptocercidae, sendo por isso agrupados atualmente não mais em uma ordem, mas alocados na infraordem Isoptera, dentro de Blattodea, a qual, junto de Mantodea, compõe o grupo Dictyoptera (LO et al., 2000, 2007; KLASS, 2003; KLASS; MEIER, 2006; INWARD; BECCALONI; EGGLETON, 2007; LEGENDRE et al., 2015). Em relação à diversidade e distribuição dos cupins, estes estão entre os artrópodes de solo mais abundantes dos ecossistemas tropicais, representando cerca de 10% da biomassa animal e até 95% da biomassa de insetos de solo (LAVELLE et al., 1997; BIGNELL, 2006; JOUQUET et al., 2011).

A infraordem Isoptera apresenta 3.154 espécies descritas, compreendendo extintas e atuais, distribuídas em 359 gêneros (CONSTANTINO, 2018). Considerando apenas as espécies atuais, a infraordem Isoptera compreende nove famílias, dentre elas a família Termitidae Latreille, 1802, na qual está inserida cerca de 70% das espécies de cupins (ENGEL, 2011; KRISHNA et al., 2013a). A grande diversificação de Termitidae está associada à sua capacidade de digerir lignocelulose, a mais abundante molécula orgânica dissolvida no solo (NORKRANS, 1963; DIXON et al., 1994). Esta família encontra-se distribuída por todas as regiões biogeográficas, especialmente florestas tropicais e savanas, as quais apresentam predominantemente membros da família Termitidae (EGGLETON, 2011).

A família Termitidae se divide em oito subfamílias (ENGEL, 2011), dentre elas está Nasutitermitinae Hare, 1937. Esta subfamília ocorre em todas as regiões biogeográficas e apresenta 619 espécies distribuídas em 81 gêneros, sendo a mais abundante da família (CONSTANTINO, 2018). Dentre os gêneros da subfamília Nasutitermitinae, encontra-se *Nasutitermes* Dudley, 1890, o qual é considerado o gênero com a maior riqueza de espécies e a maior distribuição geográfica, com 257 espécies descritas (JONES; EGGLETON, 2011; KRISHNA et al., 2013b; CONSTANTINO, 2018). Está distribuído em todas as regiões biogeográficas e algumas espécies ocorrem em mais de uma região, sendo 76 espécies encontradas na Região Neotropical, 19 na Região Australiana, uma na Região Neártica, 19 na Região da Etiópia, 118 na Região Oriental, 14 na Região Paleártica e 21 na Região da Papua-Nova Guiné (CONSTANTINO, 2018).

Nasutitermes ainda é um gênero de taxonomia bastante confusa, provavelmente há várias sinonímias entre suas espécies (E. Canello com. pess.) e a dificuldade na identificação morfológica de muitas espécies deste gênero resulta, em alguns

casos, em listas de morfoespécies em levantamentos. Também se pode sugerir que a existência de complexos de espécies crípticas seja bem provável. Além disso, há espécies que poderão ser transferidas para outros gêneros, como foi o caso de táxons transferidos recentemente para os gêneros *Cortaritermes* e *Sandsitermes* (CUEZZO; CARRIJO; CANCELLO, 2015; CUEZZO; CANCELLO; CARRIJO, 2017), de modo que as espécies atualmente incluídas no gênero *Nasutitermes* não representam um grupo monofilético (INWARD; VOGLER; EGGLETON, 2007). Este fato está relacionado à história taxonômica do gênero, uma vez que as espécies que possuíam soldados nasutos (aquelas que apresentam um prolongamento da cápsula cefálica onde está inserida a abertura da glândula frontal, denominado tubo frontal ou naso) foram alocadas inicialmente em um mesmo gênero, o qual corresponde ao que é conhecido hoje como a subfamília Nasutitermitinae (BOULOGNE et al., 2017).

O gênero *Nasutitermes* é apontado ainda como dominante no bioma Mata Atlântica e possui várias espécies que se distribuem por toda a região (CONSTANTINO; ACIOLI, 2006; CANCELLO et al., 2014). Entre elas, encontra-se a espécie *Nasutitermes jaraguae* (Holmgren, 1910), que ocorre em todo o Domínio Atlântico *sensu lato* (sl), já tendo sido registrada nos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Espírito Santo, Bahia (REIS; CANCELLO, 2007; CANCELLO et al., 2014), Rio de Janeiro (REIS; CANCELLO, 2007; TREVISAN; MARQUES; CARVALHO, 2008; CANCELLO et al., 2014), Minas Gerais (GALBIATI; DESOUZA; SCHOEREDER, 2005), Pernambuco (BANDEIRA et al., 2003; BANDEIRA; VASCONCELLOS, 2004), Paraíba (ERNESTO et al., 2014; ARAÚJO; SILVA; VASCONCELLOS, 2015), Rio Grande do Sul (FLORENCIO; DIEHL, 2006; DIEHL et al., 2014; DIEHL; DIEHL-FLEIG; JUNQUEIRA, 2015) e Goiás, onde foi identificada como *Nasutitermes cf. jaraguae* (SANTOS, 2008).

Até o momento, não se conhece o ninho de *N. jaraguae*, o que sugere que este seja subterrâneo. Esta espécie é encontrada forrageando em madeira ou dentro de galerias e estudos realizados para avaliar o nível de consumo de diferentes tipos de madeiras, em ambientes naturais, demonstraram que *N. jaraguae* tem preferência por madeiras mais macias (PERALTA et al., 2004; TREVISAN; MARQUES; CARVALHO, 2008).

Os soldados de *N. jaraguae* apresentam cerca de 5 mm, com coloração da cabeça entre amarelada e avermelhada (Figura 1), sendo morfológicamente muito semelhante a outras espécies que ocorrem nas mesmas localidades, como *N. ehrhardti*, *N. itapocuensis*, *N. auriantacus* e *N. auriantacoides*, bem como a algumas espécies ainda não nomeadas, tais como as morfoespécies aqui chamadas de *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2,

Nasutitermes sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4 e que serão investigadas neste estudo. Todas estas formam um grupo de espécies denominado Grupo *Nasutitermes jaraguae* (E. Canello com. pess.; “Laboratório de Ortopteroides MZUSP”, 2017).

Figura 1. Visão dorsal da cabeça de um espécime de *Nasutitermes jaraguae*, na qual podem ser observados aspectos morfológicos, como formato da cabeça e do naso e coloração.



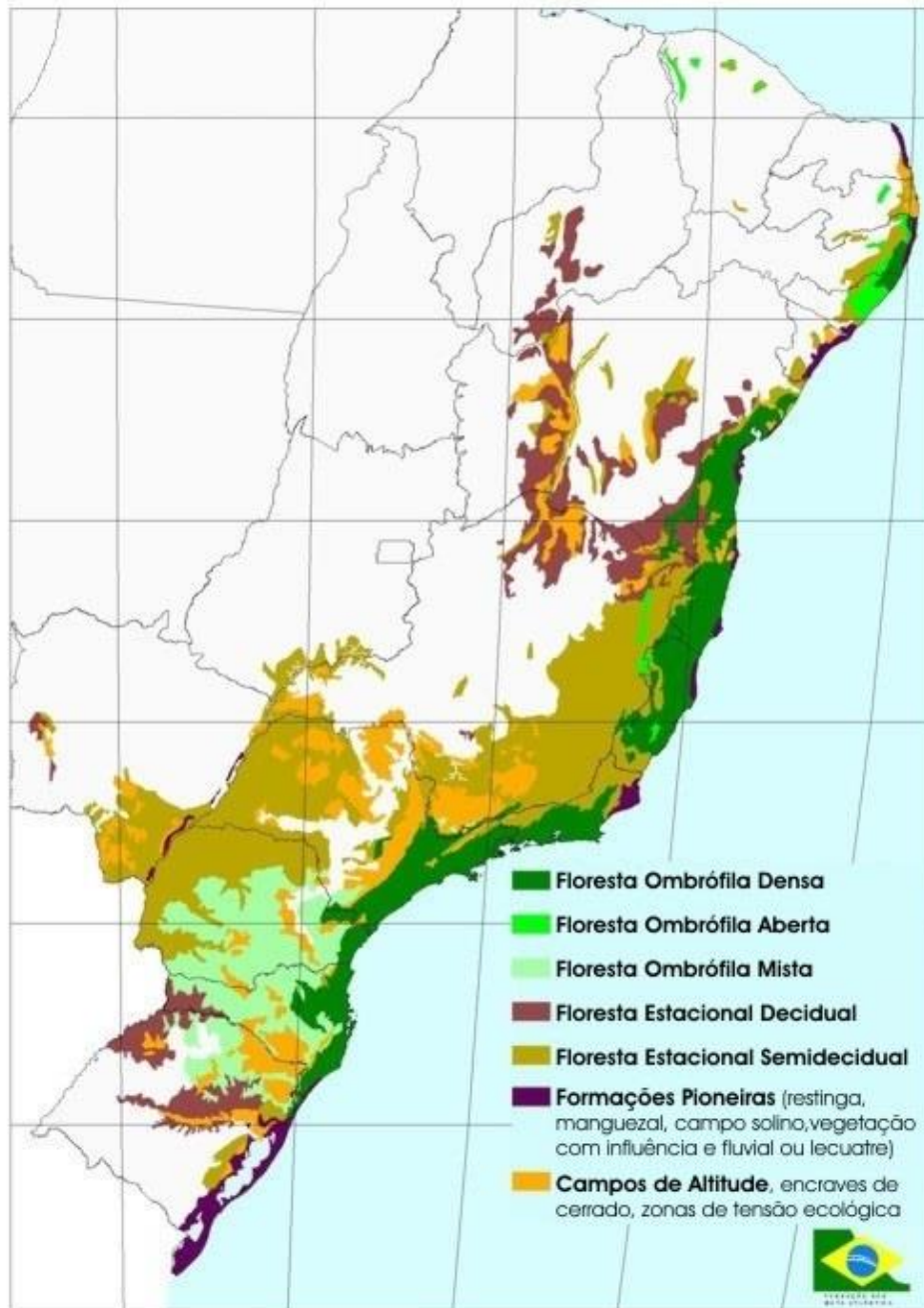
Fonte: Tiago Fernandes Carrijo.

1.2 História biogeográfica da Mata Atlântica

Como relatado anteriormente, a Mata Atlântica abriga várias espécies do gênero *Nasutitermes*, o qual é considerado como dominante neste bioma (CONSTANTINO; ACIOLI, 2006; CANCELLO et al., 2014). O bioma Mata Atlântica se estende por cerca de 3.300 km da costa brasileira e em pequenas áreas no Paraguai e Argentina (GALINDO LEAL; CÂMARA, 2003; TABARELLI et al., 2010). O Domínio Mata Atlântica é composto por diferentes fitofisionomias, sendo cerca de 79% de sua área coberta por formações florestais e o restante dividido entre zonas de tensão ecológica, encraves de cerrado, formações pioneiras e refúgios ecológicos (CAPOBIANCO, 2001) (Figura 2).

A Mata Atlântica é um dos 34 *hotspots* globais, ou seja, uma área de grande diversidade e endemismo e que apresenta alta vulnerabilidade, além disso, está entre um dos cinco *hotspots* com maior número de espécies endêmicas (MYERS et al., 2000; MITTERMEIER et al., 2004; BROOKS et al., 2006). Entretanto, é considerado um dos biomas mais degradados e ameaçados e, atualmente, aparece distribuído em remanescentes florestais, muitas vezes pequenos e distantes entre si, somando apenas cerca de 12% de sua extensão original (RIBEIRO et al., 2009).

Figura 2. Mapa da distribuição das fitofisionomias na Mata Atlântica brasileira.



Fonte: Digitalização do Mapa de vegetação do Brasil, FIBGE, 1993, escala 1.500.000 - Instituto Socioambiental/Fundação SOS Mata Atlântica.

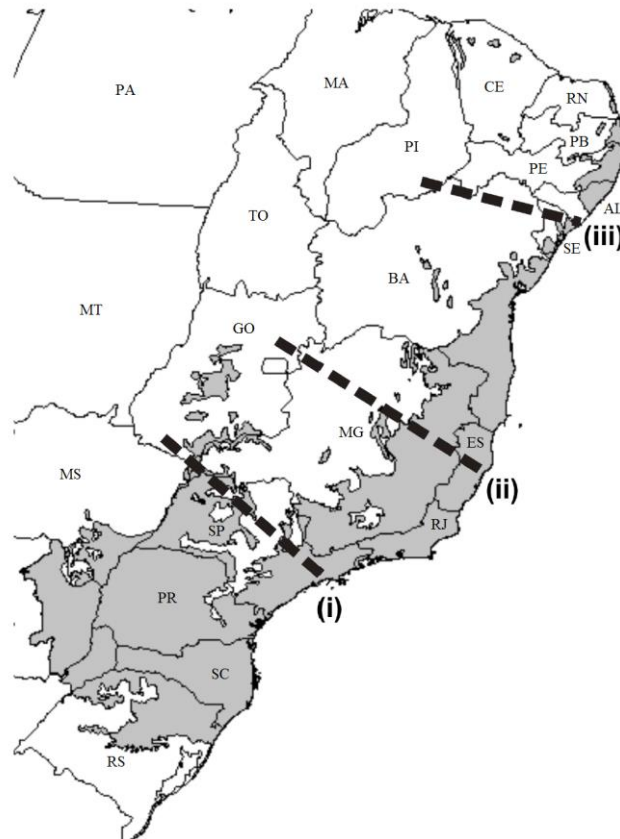
A formação da Mata Atlântica iniciou-se no Período Cretáceo, quando a América do Sul já se encontrava distante da África, o Oceano Atlântico apresentava características semelhantes às atuais e o clima, antes seco, tornava-se bastante úmido (MORLEY, 2000). Como aponta o registro fóssil, durante este período ocorreu a diversificação das angiospermas (a partir de 80 Ma), de modo que a presença de árvores próprias de florestas com dossel fechado indica a provável existência de uma floresta tropical na costa leste da América do Sul, ou seja, uma Mata Atlântica ancestral (MORLEY, 2000).

No final do Cretáceo, há 65 Ma, ocorreu um grande evento de extinção da biota, incluindo os dinossauros e cerca de 40% das espécies de plantas, devido à queda de um meteorito, entretanto, o clima predominantemente quente e úmido no final do Paleoceno e início do Eoceno, há cerca de 50 Ma, contribuiu com a recuperação da diversidade das angiospermas, assegurando a manutenção de florestas úmidas na América do Sul (MORLEY, 2000). Estas florestas cobriam todo o território, do Pacífico ao Atlântico, no entanto, o esfriamento e ressecamento global e os ciclos glaciais-interglaciais a partir do Plioceno (cerca de 5 Ma), levaram a expansão de áreas abertas savânicas, como a Diagonal de formações abertas, separando a Mata Atlântica das outras florestas sul-americanas (MORLEY, 2000).

O isolamento da Mata Atlântica resultou em um alto nível de endemismo devido à alta diversificação que ocorreu dentro de seus limites (DASILVA; PINTO-DA-ROCHA; SOUZA, 2016). Entretanto, a maioria das espécies animais e vegetais não são encontradas em toda a extensão da Mata Atlântica, sendo restritas a porções menores que podem ser delimitadas com base no padrão de endemismo de diversos grupos biológicos (DASILVA; PINTO-DA-ROCHA; SOUZA, 2016). Estudos filogeográficos tem mostrado a separação de espécies ou populações de diferentes grupos de organismos que ocorrem ao norte e ao sul da Mata Atlântica, tais como insetos (*Melipona quadrifasciata*, BATALHA-FILHO et al., 2010; *Dinoponera lucida*, RESENDE et al., 2010; dípteros, AMORIM; SANTOS, 2017), anfíbios (*Hypsiboas albomarginatus*, *H. semilineatus* e *H. faber*, CARNAVAL et al., 2009; complexo *Thoropa miliaris*, FITZPATRICK et al., 2009; grupo *Rhinella crucifer*, THOMÉ et al., 2010), aves (*Xiphorhynchus fuscus*, CABANNE; SANTOS; MIYAKI, 2007; CABANNE et al., 2008), mamíferos (*Metachirus nudicaudatus*, *Micoureus* spp., COSTA, 2003; *Bradypus variegatus*, MORAES-BARROS et al., 2006; *Cerdocyon thous*, TCHAICKA et al., 2007; *Desmodus rotundus*, MARTINS et al., 2009), répteis (*Gymnodactylus darwini*; PELLEGRINO et al., 2005; complexo *Bothrops jararaca*, GRAZZIOTIN et al., 2006) e plantas (*Dalbergia nigra*, RIBEIRO et al., 2011).

Ainda não é possível se determinar um padrão filogeográfico geral para os organismos da Mata Atlântica, porém os estudos citados apontam para a existência de três discontinuidades recorrentes, sendo (i) localizada na região norte do estado de São Paulo, (ii) observada na região norte de Minas Gerais e Espírito Santo, próximo ao Vale do Rio Doce e (iii) situada na região norte da Bahia e Alagoas (Figura 3) (BATALHA-FILHO; MIYAKI, 2011).

Figura 3. Localização geográfica aproximada das principais discontinuidades filogeográficas na Mata Atlântica.



Fonte: BATALHA-FILHO; MIYAKI (2011). A área em cinza corresponde ao território original da Mata Atlântica e as linhas pontilhadas (i, ii e iii) representam as discontinuidades observadas para diferentes grupos biológicos.

Estas discontinuidades podem ser explicadas pela Hipótese de Refúgios Florestais do Pliocenos-Pleistoceno (HAFFER, 1969; VANZOLINI; WILLIAMS, 1970; MAYR; O'HARA, 1986), a qual tem sido a mais utilizada para explicar a existência de áreas de endemismo na América do Sul. Segundo esta hipótese, alterações climáticas deixaram o clima mais frio e seco a partir do Plioceno e, especialmente, durante o Pleistoceno, levando a retração das áreas florestais e expansão das áreas abertas, o que resultou no isolamento das manchas florestais e consequente especiação das populações isoladas (HAFFER, 1969). A alteração do clima para um período mais quente e úmido permitiu a expansão das áreas florestais e a reconexão dos fragmentos, onde habitavam novas espécies decorrentes da especiação por isolamento ou populações geneticamente distintas devido à ausência de fluxo gênico (HAFFER, 1969). Posteriormente, assumiu-se que as oscilações climáticas ocorridas durante o Terciário também tiveram amplitude e duração suficientes para promover fragmentação florestal e especiação (HAFFER, 1993).

Embora poucos estudos tenham abordado hipóteses alternativas, os padrões de distribuição de espécies na Mata Atlântica podem estar relacionados também à outras

teorias de especiação em florestas tropicais (LARA; GEISE; SCHNEIDER, 2005). Dentre as teorias de especiação alopátrica está a Hipótese de Isolamento em Montanhas, a qual pressupõe que o isolamento de remanescentes florestais em montanhas durante períodos secos acarretou em divergência e especiação (MOREAU, 1966), como por exemplo na Serra do Espinhaço, Serra da Mantiqueira, Serra do Mar e Serra dos Órgãos (LARA; GEISE; SCHNEIDER, 2005). Outra teoria de especiação alopátrica é a Hipótese de Rios como Barreiras, observada principalmente na Amazônia, segundo a qual teria ocorrido especiação entre populações que se tornaram geograficamente isoladas por rios (WALLACE, 1852), tais como o Rio Jequitinhonha e o Rio Doce (LARA; GEISE; SCHNEIDER, 2005). Já a principal teoria baseada em especiação parapátrica é a Hipótese dos Gradientes Ecológicos, a qual assume que a seleção divergente entre gradientes ambientais é suficiente para que ocorra diferenciação e especiação em ambientes transicionais, como ecótonos e gradientes latitudinais, mesmo que não haja restrição completa do fluxo gênico (ENDLER, 1977; RICE; HOSTERT, 1993; SMITH et al. 1997; ORR; SMITH, 1998).

Dessa forma, a utilização de diferentes grupos biológicos como modelos para estudos filogeográficos permite a melhor compreensão dos processos responsáveis pelo padrão de distribuição das espécies. Entretanto, estudos biogeográficos com invertebrados ainda são escassos na Mata Atlântica, havendo pesquisas desenvolvidas apenas com abelhas (BATALHA-FILHO et al., 2010), vespas (SILVA; NOLL, MORALES-CORRÊA E CASTRO, 2018), formigas (RESENDE et al., 2010; CARDOSO et al., 2015), dípteros (AMORIM; SANTOS, 2017) e a espécie de cupim *Nasutitermes corniger*, a qual não apresentou diferenças genéticas que resultassem em estruturação entre as populações distribuídas ao longo da Mata Atlântica (SANTOS et al., 2017).

1.3 Estudos genéticos

1.3.1 Delimitação de espécies com base em dados moleculares

A espécie é uma unidade fundamental para a biologia, entretanto, existem diversos conceitos e definições, os quais consideram diferentes aspectos (biológicos, morfológicos, ecológicos, entre outros), que podem levar a diferenças na delimitação de uma espécie (MAYDEN, 1997; DE QUEIROZ, 2007). Dentre os muitos conceitos existentes, alguns levam em consideração a relação de ancestralidade-descendência, como o Conceito Evolutivo de Espécie, o qual sugere que espécies são linhagens que evoluem separadamente

de outras, com suas próprias tendências e histórias evolutivas (SIMPSON, 1951; WILEY, 1978; MAYDEN, 1997) e o Conceito Filogenético de Espécie, que apresenta diferentes classes, porém todas relacionadas com a sistemática filogenética ou cladística, de modo que espécies seriam resultantes de seleção natural, sendo as menores entidades biológicas que são diagnosticáveis e/ou monofiléticas (ROSEN, 1979; NELSON; PLATNICK, 1981; CRACRAFT, 1983; DONOGHUE, 1985; MISHLER, 1985; NIXON; WHEELER, 1990).

A biologia molecular tem sido uma ferramenta muito utilizada em estudos de reconhecimento e delimitação de espécies, considerando aspectos genéticos e filogenéticos. Recentemente, diversos estudos têm permitido a separação de espécies crípticas e a determinação da diversidade de espécies de cupins, por meio de genes mitocondriais e nucleares ou marcadores microssatélites (JENKINS et al., 2001; ROY et al., 2006, 2014; COPREN, 2007; MONAGHAN et al., 2009; HAUSBERGER et al., 2011; SCICCHITANO et al., 2017a).

1.3.2 Genética de populações e filogeografia

A genética de populações é uma área que diz respeito à origem, quantidade e distribuição da variação genética presente em populações e o destino desta variação no tempo e no espaço (TEMPLETON, 2011). Sequências variantes de um mesmo segmento de DNA (cópias homólogas) são denominadas haplótipos e podem ser geradas por meio de mutações ou por recombinação, de modo que a variação genética pode ser estudada por meio destes polimorfismos (FUTUYMA, 2005). Já a interação entre os eventos de mutação, deriva genética, fluxo gênico e seleção natural determinam as frequências alélicas nas populações ao longo do tempo e também no espaço, sendo o agrupamento de populações diferenciadas conhecido como estrutura populacional (HARTL; CLARK, 2010; TEMPLETON, 2011).

A área de estudos que se preocupa em compreender os princípios e explicar os processos que norteiam a distribuição geográfica de linhagens genealógicas é a filogeografia (AVISE, 2000). Por meio de estudos filogeográficos é possível elaborar hipóteses sobre os processos responsáveis pela formação da biota de uma região, uma vez que a estrutura populacional de uma espécie revela os eventos históricos sofridos não apenas por suas populações, mas por toda a biota e, desse modo, podem-se ainda detectar possíveis áreas de endemismo (AVISE, 1992; ALLENDORF; LUIKART; AITKEN, 2012). Para tal, grupos específicos de animais e plantas têm sido utilizados, sendo os processos extrapolados para

outros táxons, entretanto, a análise se torna mais sensível e eficiente quando incluídos táxons não relacionados entre si (SIGRIST; CARVALHO, 2008).

As análises filogeográficas eram realizadas inicialmente pela sobreposição de redes de haplótipos e mapas, buscando padrões entre a filogenia e a geografia (AVISE et al., 1987). Posteriormente, desenvolveu-se a análise de clados filogeograficamente aninhados (*Nested Clade Phylogeographic Analysis* - NCPA) (TEMPLETON; ROUTMAN; PHILLIPS, 1995), que foi o primeiro método a utilizar testes estatísticos, embora este não seja considerado um método de filogeografia estatística por muitos autores (KNOWLES; MADDISON, 2002). A NCPA é uma análise que permite quantificar as associações entre a geografia, o tempo e a rede de haplótipos, com base em uma rede haplotípica aninhada (TEMPLETON; ROUTMAN; PHILLIPS, 1995). Por meio da NCPA pode-se inferir uma relação de descendência entre os haplótipos, em que haplótipos ou clados aninhados que se localizam nas pontas serão sempre mais recentes que haplótipos ou clados que se encontram no interior da rede haplotípica (TEMPLETON, 2011). Além disso, a distribuição espacial pode ser correlacionada por meio da distância entre os clados (D_c), que mede quão espacialmente disperso um clado é, e da distância do clado aninhado (D_n), que quantifica quão distante um haplótipo ou clado está em relação aos haplótipos ou clados aos quais ele está evolutivamente mais relacionado (TEMPLETON, 2011). Assim, eventos passados como isolamento por distância, fragmentação alopátrica ou expansão de distribuição, podem ser inferidos com base nos valores significantes de D_c e D_n (TEMPLETON, 2011).

Estas inferências são então consideradas hipóteses que deverão ser testadas por meio de outros métodos (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2012). A indicação de fragmentação alopátrica pela NCPA pode corresponder a um evento de especiação ou a diferenciação das populações com uma descontinuidade geográfica abrupta entre elas (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2012) podendo ser testada por meio de análises filogenéticas ou da Análise de Variância Molecular (AMOVA) (COCKERHAM, 1969, 1973; WEIR; COCKERHAM, 1984; LONG, 1986), a qual separa a variância molecular em níveis hierárquicos e testa diferentes hipóteses de estruturação com base na estatística Φ , análoga a estatística F (WRIGHT, 1978). A expansão da distribuição inferida pela NCPA pode refletir um aumento na distribuição ou crescimento populacional (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2012), podendo ser testada por meio de uma análise de distribuição das diferenças (*mismatch distribution analysis*), a qual apresenta uma distribuição unimodal do número de diferenças entre pares de sequências para populações que exibirem crescimento populacional súbito, enquanto populações estáveis apresentam distribuições multimodais (ROGERS; HARPENDING, 1992). Efeitos da

expansão populacional também podem ser detectados por meio de testes de neutralidade (TAJIMA, 1989; FU; LI, 1993; FU, 1997), os quais podem indicar ainda seleção balanceadora, seleção diversificadora ou efeito Walund (RAMOS-ONSINS; ROZAS, 2002; HARTL; CLARK, 2010). Por sua vez, o isolamento por distância inferido pela NCPA pode ser confirmado pelo teste de Mantel (1967), o qual correlaciona a distância genética e a distância geográfica a fim de constatar se o fluxo gênico entre as populações diminui com o aumento da distância geográfica (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2012).

Análises filogeográficas podem ser realizadas ainda por meio de métodos estatísticos que utilizam abordagens de Máxima Verossimilhança ou Bayesiana para verificar a probabilidade de ocorrência de modelos alternativos, sugeridos com base em hipóteses *a priori* sobre o passado demográfico e evolutivo de uma espécie, bem como de eventos biogeográficos que podem ter influenciado estes (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2012). Desse modo, a modelagem de cenários populacionais alternativos é feita com base na teoria da coalescência e na comparação entre os dados observados e os padrões esperados, obtidos com os modelos (CUNHA; SOLÉ-CAVA, 2012).

Para os grupos de insetos sociais, as análises de estrutura populacional têm como unidade básica a colônia e não o indivíduo (THORNE et al., 1999; LEPAGE; DARLINGTON, 2000), de modo que, indivíduos morfologicamente heterogêneos por pertencerem a castas distintas, mas intimamente relacionados, formam colônias e estas compõem as populações (VARGO; HUSSENER, 2011). As colônias de cupins são fundadas, em sua maioria, por um par monogâmico, ou seja, um rei e uma rainha, sendo estas colônias classificadas como famílias simples (NUTTING, 1969; VARGO; HUSSENER, 2009). Existem também colônias que apresentam reprodutores secundários, os quais substituem ou suplementam os reprodutores primários, sendo as colônias formadas por múltiplas rainhas (poliginia) ou por múltiplos reis (poliandria) e classificadas em famílias estendidas ou mistas, quando os reprodutores secundários são, respectivamente, descendentes do casal real ou de diferentes casais (THORNE, 1985; ROISIN, 1993; VARGO; HUSSENER, 2011). Colônias de uma mesma espécie podem ainda apresentar sistemas de acasalamento distintos, contudo as razões dessa variação ainda não são bem compreendidas (VARGO; HUSSENER, 2011). Em relação ao gênero *Nasutitermes*, pesquisas com *N. corniger* e *N. nigriceps* vem demonstrando que a maior parte das colônias são formadas por um par monogâmico (ATKINSON; ADAMS, 1997; THOMPSON; HEBERT, 1998).

Estudos de genética populacional são comuns com espécies de cupins desde a década de 80, os quais objetivaram não apenas estimar a estrutura genética das populações,

mas também investigar o sistema de acasalamento das espécies e sua capacidade de dispersão, bem como delimitar o tamanho das colônias (REILLY, 1987; HUSSENER et al., 1998, 2005; THORNE et al., 1999; GOODISMAN; CROZIER, 2002; VARGO; HUSSENER; GRACE, 2003; VARGO, 2003; VARGO; CARLSON, 2006; YEAP; OTHMAN; LEE, 2011; BOOTH et al., 2012; HUANG et al., 2013; LUCHETTI; SCICCHITANO; MANTOVANI, 2013; FOURNIER et al., 2016). Até o momento, foram realizados estudos com três espécies do gênero *Nasutitermes*. Para *N. nigriceps*, foi observado fluxo gênico restrito entre três localidades da Jamaica e a predominância de colônias formadas por famílias simples (THOMPSON; HEBERT, 1998). Dois estudos com *N. takasagoensis* sugerem que esta espécie apresenta capacidade de se dispersar por alguns quilômetros, como entre ilhas do sul do Japão, porém grandes distâncias são suficientes para restringir o fluxo gênico e aumentar a distância genética, como observado entre populações do Japão e Taiwan (GARCÍA et al., 2002, 2004). Um estudo conduzido com colônias de *N. corniger* coletadas no Panamá mostrou que estas não apresentaram associação entre grau de relacionamento e agressividade dos espécimes, sugerindo que erros de reconhecimento, devido a presença de colônias com múltiplos reis e rainhas não relacionados, poderiam levar a formação de colônias com estruturas complexas (ADAMS; ATKINSON; BULMER, 2007). Outro estudo realizado com *N. corniger* mostrou uma alta estruturação genética entre populações distribuídas ao longo da América Central e do Sul, com haplótipos restritos a diferentes biomas (SANTOS et al., 2017).

Os cupins podem ser considerados como modelos excelentes para estudos filogeográficos, devido à forte dependência com o local de formação das colônias, e assim permitem a compreensão dos fatores geográficos que influenciam no padrão de dispersão não apenas do grupo, mas de todo o bioma ao qual está inserido. O padrão de distribuição de espécies do gênero *Reticulitermes* vem sendo amplamente investigado na América do Norte, Europa e Ásia, demonstrando a influência de glaciações e eventos geológicos na distribuição atual das espécies ou de suas populações (SZALANSKI et al., 2008; KUTNIK et al., 2004; PARK et al., 2006; TRIPODI et al., 2006; MCKERN et al., 2007; AUSTIN et al., 2008; LEFEBVRE et al., 2008, 2016; VELONÀ et al., 2010; DEDEINE et al., 2016; SCICCHITANO et al., 2017b). Estudos filogeográficos também foram desenvolvidos com espécies de *Coptotermes*, nos quais foram identificados os centros de origens de populações encontradas nos Estados Unidos, Porto Rico e Austrália (JENKINS et al., 2007) e na Ásia (LI et al., 2009), e também com espécies de *Heterotermes* nas Ilhas do Caribe (SZALANSKI et al., 2004), *Schedorhinotermes* na África (WILFERT et al., 2006), *Amitermes* na Austrália

(OZEKI et al., 2007), *Macrotermes* na Ásia (VEERA SINGHAM; OTHMAN; LEE, 2017) e *Kaloterme*s na Europa (SCICCHITANO et al., 2017a). Já o gênero *Nasutitermes* foi abordado em um estudo que englobou espécies encontradas na região tropical do Oceano Pacífico, no qual não foi possível afirmar se a origem do gênero seria anterior a separação de Gondwana ou se teriam havido eventos de dispersão para América do Sul e Austrália a partir do Velho Mundo (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000). Outro estudo com o gênero *Nasutitermes* demonstrou que a espécie *N. corniger* originou-se na América Central e se dispersou para a América do Sul, com novos haplótipos ocupando distintos biomas, como a Mata Atlântica, Cerrado e Caatinga (SANTOS et al., 2017).

1.3.3 Reconstrução filogenética

As relações entre os organismos podem ser inferidas por diferentes abordagens, tais como a abordagem fenética, a qual utiliza parâmetros de similaridade entre os organismos, como a distância genética, e não é baseada em um modelo evolutivo (PAGE; HOLMES, 1998). Já as abordagens cladísticas e estatísticas, por sua vez, estão pautadas em modelos evolutivos (PAGE; HOLMES, 1998), sendo Máxima Parcimônia, Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana as metodologias mais utilizadas para inferências filogenéticas.

A Máxima Parcimônia foi desenvolvida originalmente para dados morfológicos (HENNIG, 1966) e seleciona a árvore (ou árvores) que necessita do menor número de mudanças evolutivas, ou seja, a árvore mais parcimoniosa (PAGE; HOLMES, 1998). Nesta análise são considerados apenas os sítios informativos, ou seja, sítios que apresentam pelo menos dois tipos de nucleotídeos representados, sendo cada um deles exibido ao menos duas vezes na amostra (FITCH, 1977). Esta análise é livre de hipóteses pré-determinadas por modelos de substituição de nucleotídeos assumidos previamente, o que pode contribuir para que uma árvore mais próxima da verdadeira seja encontrada, quando a divergência entre as sequências é baixa (MIYAMOTO; CRACRAFT, 1991; NEI; KUMAR, 2000). Entretanto, quando o número de nucleotídeos analisados é muito pequeno e as sequências apresentam alta divergência ou substituições não homoplásicas, a análise de parcimônia pode gerar uma topologia incorreta (NEI; KUMAR, 2000), devido aos fenômenos de atração de ramos longos (HENDY; PENNY, 1989) e atração de ramos curtos (NEI, 1996).

A Máxima Verossimilhança analisa a probabilidade de diferentes topologias, considerando um conjunto de sequências e um modelo de substituição assumido

previamente, sendo escolhida a árvore que apresente a probabilidade máxima (NEI; KUMAR, 2000), ou seja, a árvore com maior probabilidade de ter dado origem aos dados analisados (PAGE; HOLMES, 1998). Dessa forma, uma topologia incorreta pode ser selecionada quando a taxa de substituição nucleotídica varia consideravelmente de um ramo para outro, mesmo com grandes conjuntos de dados (HUELSENBECK, 1995). Entretanto, a Máxima Verossimilhança é uma das metodologias mais robustas para reconstruções filogenéticas, uma vez que a inclusão de um modelo de substituição adequado ao conjunto de dados permite a correção de eventos mutacionais entre sequências que foram separadas há muito tempo ou estão evoluindo rapidamente (HOLDER; LEWIS, 2003).

A Inferência Bayesiana busca a árvore com maior probabilidade posterior, ou seja, considera a probabilidade de modo semelhante a Máxima Verossimilhança multiplicada pela probabilidade resultante de hipóteses inferidas *à priori*, como modelo e taxa de substituição de nucleotídeos, entre outras (HOLDER; LEWIS, 2003). Este método é amplamente utilizado nos dias de hoje, uma vez que fornece medidas de suporte mais rápido que a Máxima Verossimilhança (*bootstrap*) (HOLDER; LEWIS, 2003) bem como permite a inclusão de modelos complexos de evolução, como a estimativa de tempos de divergência (THORNE; KISHINO; PAINTER, 1998).

Em relação à filogenia do gênero *Nasutitermes*, até o momento foram desenvolvidos trabalhos baseados em dados moleculares apenas com grupos de regiões específicas ou contendo alguns representantes do gênero em trabalhos que abrangeram toda a família Termitidae ou a Infraordem Isoptera. Estudos voltados para o gênero *Nasutitermes* foram desenvolvidos com 17 espécies que ocorrem na região tropical do Oceano Pacífico, utilizando os genes mitocondriais COII e 16S (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000) e com 16 espécies presentes na Guiana Francesa, também por meio dos genes mitocondriais COII e 16S e do fragmento nuclear ITS2 (*Internal Transcribed Spacer*) (ROY et al., 2014).

Espécies australianas foram analisadas por meio dos genes mitocondriais COII e 16S em um estudo filogenético que englobou quatro espécies de *Nasutitermes* e três de *Tumulitermes*, os quais não foram recuperados como monofiléticos, sugerindo que as características morfológicas utilizadas para estabelecer as relações entre estas espécies não correspondem às relações filogenéticas (BERGAMASCHI et al., 2007). Posteriormente, 86 espécies australianas de Nasutitermitinae, sendo 45 de *Nasutitermes*, foram analisadas por meio dos genes mitocondriais COII, 16S e 12S e da região nuclear ITS1 (ARAB et al., 2017). Neste estudo foram observados eventos de evolução paralela, em que o hábito de construção

de ninhos e tipo de alimentação surgiram em diferentes momentos, o que é consistente com períodos de alterações climáticas e provavelmente contribuíram para o sucesso do grupo.

Trinta e um gêneros de ocorrência asiática das famílias Termitidae e Rhinotermitidae foram utilizados para uma análise filogenética, por meio do gene mitocondrial COII, e as 14 espécies de Nasutitermitinae não-mandibulados, sendo sete *Nasutitermes*, foram agrupadas em um clado monofilético, uma vez que esta subfamília abrigava também os mandibulados, pertencentes hoje a subfamília Syntermitinae (OHKUMA et al., 2004). A história evolutiva da família Termitidae foi inferida em diferentes estudos, primeiramente, foram analisadas 321 espécies, sendo 28 de *Nasutitermes*, por meio dos genes COII, 12S e 28S (INWARD; VOGLER; EGGLETON, 2007). Posteriormente, dois estudos utilizaram o genoma mitocondrial, sendo que o primeiro englobou sequências de 66 espécies da família Termitidae, das quais quatro eram do gênero *Nasutitermes*, e o segundo incluiu 384 amostras de Termitidae, sendo 44 *Nasutitermes* (BOURGUIGNON et al., 2015, 2017). Por fim, a análise filogenética da infraordem Isoptera foi reconstruída por meio dos genes COI, COII, Cyt b, 12S, 16S, 18S e 28S, englobando 40 espécies, das quais uma é do gênero *Nasutitermes* (LEGENDRE et al., 2008).

Contudo, a maioria das espécies utilizadas nos estudos citados não são coincidentes entre estes, o que inviabiliza a comparação e o entendimento mais amplo das relações filogenéticas entre as espécies do gênero *Nasutitermes* e dos eventos que levaram ao padrão de distribuição observado atualmente para este gênero, o qual acredita-se que seja decorrente de processos de diversificação, irradiação e dispersão, associados às condições ambientais regionais (EGGLETON; TAYASU, 2001; DAVIES et al., 2003). A princípio, foi proposta a hipótese da origem do gênero *Nasutitermes* na América do Sul, anteriormente a divisão de Gondwana, sugerindo uma separação inicial entre as espécies neotropicais e australianas, seguida das australianas e da Nova Guiné (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000). Entretanto, trabalhos mais recentes, utilizando uma visão geral da família, vem demonstrando que Termitidae se originou na África e sua diversificação é posterior a divisão de Gondwana (ENGEL; GRIMALDI; KRISHNA, 2009; BOURGUIGNON et al., 2015), ocorrendo, num primeiro momento, eventos de dispersão para América do Sul e Ásia há 35-23 Ma e, posteriormente, eventos de dispersão da América do Sul para Ásia e Austrália e da Ásia de volta para a África há 23-5 Ma, possivelmente por meio de troncos flutuantes (BOURGUIGNON et al., 2017). Dessa forma, este trabalho buscou reunir o maior número possível de táxons do gênero *Nasutitermes*, a fim de abranger sua amplitude de ocorrência, para assim, compreender o processo de diversificação geográfica de suas espécies.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

Este trabalho teve como objetivos gerais diferenciar, por meio de ferramentas moleculares, as espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*; definir os processos responsáveis pelo padrão de distribuição da variabilidade genética da espécie *N. jaraguae* e entender as relações filogenéticas e os processos de diversificação das espécies do gênero *Nasutitermes*.

2.2 Objetivos específicos

Com o intuito de atingir o objetivo geral de diferenciar as espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*, este trabalho propôs:

- verificar se as distintas espécies que compõem o Grupo *N. jaraguae*, definidas com base em caracteres morfológicos, podem ser consideradas unidades evolutivas diferentes;
- analisar a relação entre os haplótipos do Grupo *N. jaraguae* e a conectividade entre eles;
- avaliar a amplitude da distância genética entre os haplótipos do Grupo *N. jaraguae*.

A fim de atingir o objetivo geral de definir os processos responsáveis pelo padrão de distribuição da variabilidade genética da espécie *N. jaraguae*, este trabalho visou:

- caracterizar geneticamente as populações de *N. jaraguae*;
- analisar filogeograficamente as populações de *N. jaraguae*, estabelecendo uma correlação entre a variabilidade genética destas e sua distribuição espacial;
- analisar a relação filogenética entre os espécimes de *N. jaraguae* e determinar o tempo de divergência de seus haplótipos;
- propor eventos ocorridos que possam ter contribuído para a estruturação das populações de *N. jaraguae*;
- verificar se *N. jaraguae* se enquadra em modelos de distribuição biogeográfica para a Mata Atlântica já conhecidos para outros grupos.

Com o propósito de alcançar o objetivo geral de entender as relações filogenéticas e os processos de diversificação das espécies do gênero *Nasutitermes*, este trabalho pretendeu:

- propor uma filogenia molecular para as espécies do gênero *Nasutitermes*, utilizando uma abordagem estatística;
- compreender os processos que contribuíram com a distribuição atual das espécies do gênero *Nasutitermes* nas diferentes regiões zoogeográficas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material biológico

3.1.1 Espécimes utilizados na análise de delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*

Para a análise de delimitação de espécies foram utilizados espécimes identificados morfológicamente como *Nasutitermes jaraguae*, *Nasutitermes ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4. Estas espécies foram selecionadas por apresentarem grande similaridade morfológica entre si, mas com algumas diferenças sutis que as distinguem, como presença e quantidade de pelos e cerdas nos tergitos e formato do pronoto e da cabeça. Embora as espécies *N. auriantacus*, *N. auriantacoides* e *N. itapocuensis* também façam parte do Grupo *N. jaraguae*, estas não foram encontradas nas coletas recentes e assim, não puderam ser incluídas nas análises, pois as amostras disponíveis encontravam-se armazenadas em álcool 80% há mais de 40 anos, inviabilizando a análise molecular.

Foram utilizados espécimes coletados ao longo da Mata Atlântica entre 2014 e 2017, bem como espécimes provenientes de coletas anteriores (1993 a 2012), sendo todos identificados pela Profa. Dra. Eliana Marques Canello e depositados na Coleção de Isoptera do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), onde encontram-se armazenados, respectivamente, em álcool 100% e 80%. Foram utilizados também espécimes depositados em álcool 80% na Coleção de Isoptera do Laboratório de Termitologia (*LabTermes*) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), identificados pelo Prof. Dr. Alexandre Vasconcellos, Profa. Dra. Flávia Maria da Silva Moura e Msc. Matilde Vasconcelos Ernesto.

Posteriormente, as amostras receberam um número de identificação (*voucher*) na Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE) (Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista - FCAV-UNESP) (Tabela 1 e Apêndice A).

Tabela 1. Espécies utilizadas na análise de delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*.

Espécie	N	Voucher
<i>Nasutitermes jaraguae</i>	82	262, 265, 266, 432, 433, 434, 435, 436, 461, 462, 464, 466, 467, 484, 485, 516, 517, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 578, 579, 607, 609, 610, 611, 612, 626, 627, 628, 629, 688, 690, 691, 692, 694, 696, 698, 699, 700, 710, 717, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 735, 740, 741, 742, 744
<i>Nasutitermes ehrhardti</i>	6	552, 555, 558, 621, 739, 747
<i>Nasutitermes</i> sp. 1	11	424, 518, 554, 556, 557, 559, 560, 561, 623, 624, 738
<i>Nasutitermes</i> sp. 2	16	425, 519, 553, 562, 563, 564, 565, 566, 568, 571, 573, 574, 575, 576, 577, 620
<i>Nasutitermes</i> sp. 3	2	520, 542
<i>Nasutitermes</i> sp. 4	5	567, 569, 570, 572, 743

Espécies identificadas com base em caracteres morfológicos, número de espécimes utilizados (N) e números de identificação (*voucher*) da Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE).

3.1.2 Espécimes utilizados nas análises populacionais e filogeográficas de *Nasutitermes jaraguae*

Para as análises populacionais e filogeográficas, foram selecionados os espécimes identificados como *Nasutitermes jaraguae* pela análise de delimitação de espécies, ou seja, aqueles que pertenceram à mesma unidade evolutiva com base nos dados moleculares. Dessa forma, foram utilizados um total de 76 espécimes provenientes dos estados do Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (Tabela 2, Figura 4 e Apêndice A). A fim de se amostrar colônias distintas, as amostras foram coletadas a uma distância mínima de 50 metros umas das outras, sendo as colônias de cada localidade consideradas como populações.

Todos os espécimes foram utilizados para amplificação do gene mitocondrial COII, enquanto para a região ITS2 foram selecionados espécimes distribuídos ao longo da área de ocorrência da espécie e que correspondessem a haplótipos distintos para o gene COII (Tabela 2).

Tabela 2. Localidades amostradas nas análises populacionais e filogeográficas de *Nasutitermes jaraguae*, número de colônias amostradas em cada localidade (N) e número de identificação (*voucher*) da Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE).

Estado	Município	Localidade	N	Voucher
Rio Grande do Norte	Nísia Floresta	Floresta Nacional de Nísia Floresta	2	719, 720
	João Pessoa	Área de Preservação Permanente Mata do Buraquinho	1	728
Paraíba	João Pessoa	Universidade Federal da Paraíba	1	612
	Mamanguape	Reserva Biológica Guaribas	2	610, 611
Pernambuco	Brejo da Madre de Deus	Reserva Particular do Patrimônio Natural Estadual Fazenda Bituri	2	725, 726
Alagoas	Ibateguara	Usina Serra Grande	1	721
	Boa Nova	-	1	710
	Ilhéus	Mata da Esperança	3	262, 516, 609
Bahia	Itambé	-	1	696
	Maracás	Ferbasa	2	723, 724
	Poções	-	6	435, 688, 690, 691, 692, 694
	Vitória da Conquista	Fazenda Raul Ferraz	1	467
	Alfenas	Sítio Vale do Sol	1	729
Minas Gerais	Juiz de Fora	Reserva Biológica Municipal do Poço D'Anta	2	628, 629
	Morro da Água Quente	-	1	526
	Santa Bárbara	-	5	524, 525, 537, 562, 627
	Afonso Cláudio	-	1	432
Espírito Santo	Linhães	Reserva Biológica de Sooretama	4	265, 434, 527, 528
	Santa Teresa	Reserva Augusto Ruschi	1	735
Rio de Janeiro	Santa Maria Madalena	Parque Estadual do Desengano	2	740, 742
	Santa Maria Madalena	Horto (Cede Parque Estadual do Desengano)	1	744

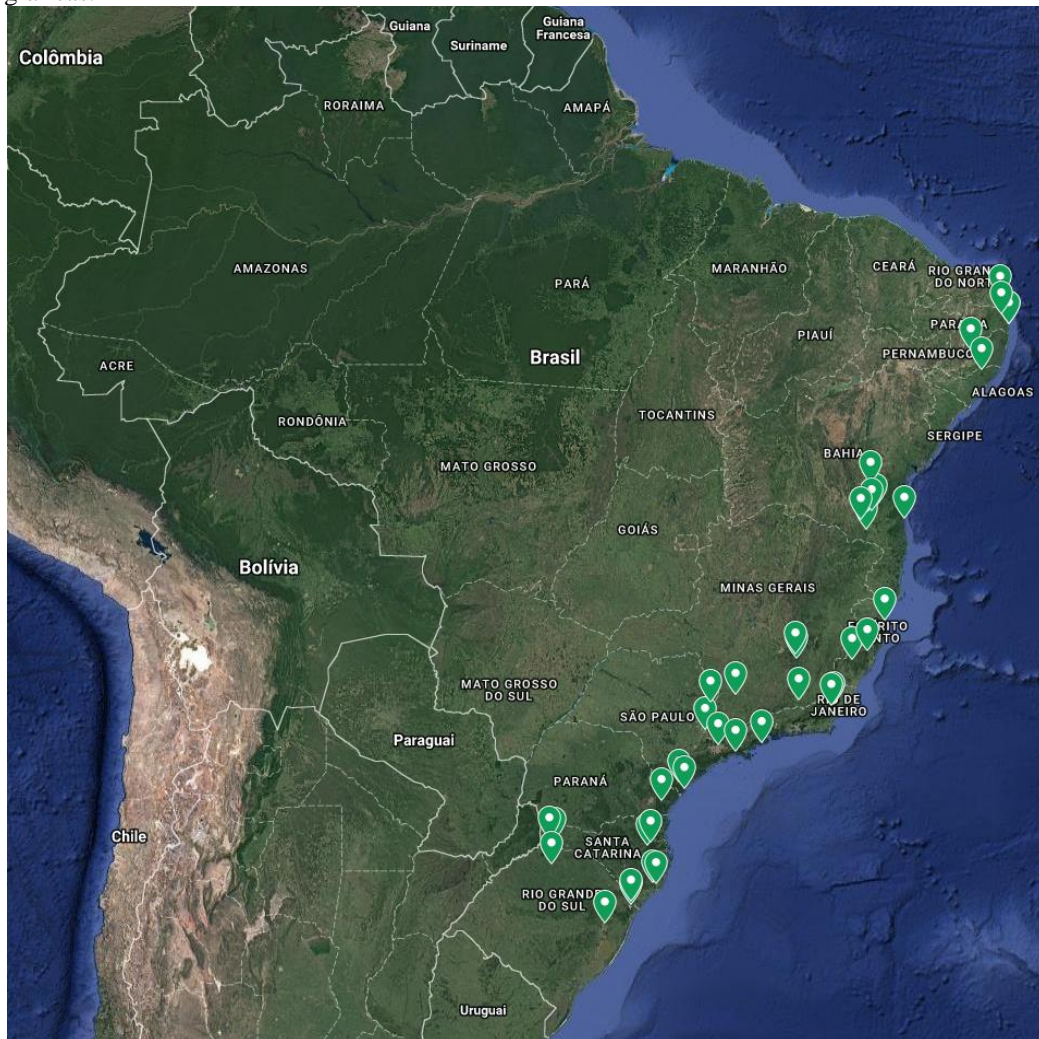
Amostras destacadas em negrito tiveram a região ITS2 analisadas além do gene mitocondrial COII.
 Continua.

Tabela 2. Continuação.

Estado	Município	Localidade	N	Voucher
São Paulo	Cajati	-	1	529
	Campinas	Área de Relevante Interesse Ecológico Mata de Santa Genebra	2	547 , 548
	Cananéia	Parque Estadual da Ilha do Cardoso	7	436, 461, 462, 484, 485, 579, 607
	São Paulo	Parque Estadual da Cantareira, Núcleo Engordador	1	698
	Salesópolis	Estação Biológica de Boracéia	1	699
	Ubatuba	Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Picinguaba	3	464, 466, 717
	Vargem Grande do Sul	Horto	1	700
Paraná	Morretes	-	2	266, 433
Santa Catarina	Apiúna	-	1	530
	Cunha-Porã	-	1	546
	Indaial	-	1	578
	Iraceminha	-	1	536
	Orleans	-	1	532
	Tubarão	-	1	531
Rio Grande do Sul	Boa Vista das Missões	-	1	545
	Cambará do Sul	Parque Nacional de Aparados da Serra	5	521 , 533 , 539, 540, 543
	Cambará do Sul	-	3	517, 534, 544
	São Leopoldo	-	2	522, 535

Amostras destacadas em negrito tiveram a região ITS2 analisadas além do gene mitocondrial COII.

Figura 4. Mapa de distribuição das amostras de *Nasutitermes jaraguae* utilizadas nas análises populacionais e filogeográficas.



3.1.3 Táxons amostrados na análise filogenética do gênero *Nasutitermes*

Esta análise englobou 70 espécies e 54 morfoespécies do gênero *Nasutitermes* (Tabela 3). Foram utilizadas amostras depositadas em álcool 100% na coleção de Isoptera do MZUSP, bem como sequências disponíveis no banco de dados *GenBank* (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Como grupo externo e para fins de calibração das árvores, foram utilizados dois gêneros também pertencentes à subfamília Nasutitermitinae (*Cortaritermes* e *Sandsitermes*), dois gêneros da subfamília Termitinae (*Amitermes* e *Neocapritermes*), dois gêneros da subfamília Syntermitinae (*Embiratermes* e *Syntermes*), todos pertencentes à família Termitidae, e um gênero da família Rhinotermitidae (*Heterotermes*) (Tabela 3). Os representantes do grupo externo foram selecionados com base em relações filogenéticas apresentadas com o gênero *Nasutitermes* (INWARD; VOGLER; EGGLETON, 2007).

Tabela 3. Espécies do gênero *Nasutitermes* e grupo externo utilizados nas análises filogenéticas; regiões zoogeográficas de ocorrência (Procheş e Ramdhani, 2012); número de identificação (*voucher*) da Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE) ou número de acesso no banco de dados *GenBank*.

Espécies	Região Zoogeográfica	Local de coleta	COII	16S	12S	ITS2	Referências
<i>Nasutitermes acajutlae</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical + Caribe	Guiana Francesa	KC631022	KF724760	-	KF724834	Roy et al. (2014)
<i>Nasutitermes acangussu</i> Bandeira e Fontes, 1979	Neotropical	Brasil	144	144	144	144	LaBE
<i>Nasutitermes anamalaiensis</i> Snyder, 1933	Indo-Malásia	Índia	-	KU574659	-	-	Vidyashree et al.
<i>Nasutitermes aqulinus</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Brasil	427	427	427	427	LaBE
<i>Nasutitermes arborum</i> (Smeathman, 1781)	Afrotropical	Burundi	KY224603	KY224603	KY224603	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes banksi</i> Emerson, 1925	Neotropical	Brasil	145	145	145	145	LaBE
<i>Nasutitermes bikpelanus</i> Roisin e Pasteels, 1996	Nova-Guiné	Indonésia	KP026296	KP026296	KP026296	-	Bourguignon et al. (2015)
<i>Nasutitermes bivalens</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Brasil	137	137	137	137	LaBE
<i>Nasutitermes callimorphus</i> Mathews, 1977	Neotropical	Brasil	428	428	428	428	LaBE
<i>Nasutitermes carnarvonensis</i> (Hill, 1942)	Australiana	Austrália	KX011792	KX011714	KX011636	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes centraliensis</i> (Hill, 1925)	Australiana	Austrália	KX011808	-	KX011651	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes ceylonicus</i> (Holmgren, 1911)	Indo-Malásia	Sri Lanka	DQ442175	-	DQ441745	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes coalescens</i> (Mjöberg, 1920)	Australiana	Austrália	KX011783	KX011705	KX011628	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes corniger</i> (Motschulsky, 1855)	Neotropical + Caribe + Neártica	Brasil Guiana Francesa	156 -	156 -	156 -	- KF724765	LaBE Roy et al. (2014)
<i>Nasutitermes coxipoensis</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Guiana Francesa	KC630994	KF724737	-	KF724774	Roy et al. (2014)
<i>Nasutitermes dasyopsis</i> Thorne, 1989	Neotropical	Costa Rica	DQ442177	-	DQ441747	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes diabolus</i> (Sjöstedt, 1907)	Afrotropical	R. D. Congo	KY224393	KY224393	KY224393	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes dixoni</i> (Hill, 1932)	Australiana	Austrália	KX011842	KX011759	KX011681	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes ehrhardtii</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Brasil	558/424	558/424	558/424	558/424	LaBE
<i>Nasutitermes ephratae</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical + Caribe	Brasil	146	146	146	146	LaBE
<i>Nasutitermes eucalypti</i> (Mjöberg, 1920)	Australiana	Austrália	DQ442182	-	DQ441752	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes exitiosus</i> (Hill, 1925)	Australiana	Austrália	-	EF078995	-	-	Bergamaschi et al. (2007)
<i>Nasutitermes exitiosus</i> (Hill, 1925)	Australiana	Austrália	KY224624	KY224624	KY224624	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes fulleri</i> Emerson, 1928	Afrotropical	Guiana Francesa	DQ442183	-	DQ441753	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes fumigatus</i> (Brauer, 1865)	Australiana	Austrália	KX011830	KX011747	KX011671	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes gaigei</i> Emerson, 1925	Neotropical	Brasil	147	147	147	147	LaBE
<i>Nasutitermes glabritergus</i> Snyder e Emerson, 1949	Neotropical	Costa Rica	DQ442184	-	DQ441754	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes globiceps</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Brasil	22	57	56	22	LaBE
<i>Nasutitermes graveolus</i> (Hill, 1925)	Australiana + Nova-Guiné	Austrália	KY224439	KY224439	KY224439	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes guayanae</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical + Caribe	Brasil	130	115	115	115	LaBE
<i>Nasutitermes indicola</i> (Holmgren and Holmgren, 1917)	Indo-Malásia	Índia	-	KU574660	-	-	Vidyashree et al.
<i>Nasutitermes infuscatus</i> (Sjöstedt, 1902)	Afrotropical	Quênia	DQ442186	-	DQ441756	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes johraguae</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Brasil	521/530/578	521/530/578	521/530/578	521/530/578	LaBE
<i>Nasutitermes jehoranicus</i> (John, 1925)	Indo-Malásia	Tailândia/Japão	AB109491	-	-	-	Ohkuma et al. (2004)
<i>Nasutitermes kemneri</i> Snyder e Emerson, 1949	Neotropical	Brasil	458	458	458	458	LaBE
<i>Nasutitermes kinoshitai</i> (Hozawa, 1915)	Paleártica	Taiwan	-	KT372052	-	-	Liang e Li
<i>Nasutitermes lacustris</i> (Bugnion, 1912)	Indo-Malásia	Sri Lanka	DQ442187	-	DQ441757	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes latifrons</i> (Sjöstedt, 1896)	Afrotropical	R. D. Congo	KY224631	KY224631	KY224631	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes longinasus</i> (Holmgren, 1913)	Indo-Malásia	Malásia	-	AB037356	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes longipennis</i> (Hill, 1915)	Australiana	Borneo	DQ442189	-	DQ441759	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes longipennis</i> (Hill, 1915)	Australiana	Austrália	KY224483	KY224483	KY224483	-	Bourguignon et al. (2017)

Continua.

Tabela 3. Continuação.

Espécies	Região Zoogeográfica	Local de coleta	COII	16S	12S	ITS2	Referências
<i>Nasutitermes longirostris</i> (Holmgren, 1913)	Indo-Malásia	Brunei	KY224397	KY224397	KY224397	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes lujae</i> (Wasmann, 1911)	Afrotropical	R. D. Congo	KY224441	KY224441	KY224441	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes macrocephalus</i> (Silvestri, 1903)	Neotropical	Brasil	148/426	148/426	148/426	148/426	LaBE
<i>Nasutitermes magnus</i> (Froggatt, 1898)	Australiana	Austrália	KX011787	KX011709	KX011632	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes major</i> (Holmgren, 1906)	Neotropical	Brasil	140	140	140	140	LaBE
<i>Nasutitermes matangensis</i> (Haviland, 1898)	Indo-Malásia + Wallaceana	Tailândia	KY224423	KY224423	KY224423	KY224423	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes matangensis matangensis</i> (Holmgren, 1913)	Indo-Malásia + Wallaceana	Tailândia/Japão	AB109489	-	-	-	Ohkuma et al. (2004)
<i>Nasutitermes mauritanus</i> (Wasmann, 1910)	Madagascar	República da Maurícia	-	EU253765	-	-	Legendre et al. (2008)
<i>Nasutitermes neoparvus</i> Thapa, 1982	Indo-Malásia	Brunei	KY224526	KY224526	KY224526	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes nigriceps</i> (Haldeman, 1854)	Neotropical + Caribe	Venezuela	AB037329	AB037346	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes novarumhebridarum</i> (Holmgren e Holmgren, 1915)	Nova-Guiné	Guiana Francesa	-	-	DQ441764	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes novarumhebridarum</i> (Holmgren e Holmgren, 1915)	Nova-Guiné	Papua Nova-Guiné	AB037325	AB037340	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes obscurus</i> (Holmgren, 1906)	Neotropical	Guiana Francesa	KC631008	KF724754	-	KF724806	Roy et al. (2014)
<i>Nasutitermes octopilis</i> Banks, 1918	Neotropical	Brasil	149	149	149	149	LaBE
<i>Nasutitermes parvonasutus</i> (Nawa, 1911)	Paleártica	Taiwan	FJ232062	-	-	-	Matsuura; Yashir
<i>Nasutitermes perparvus</i> Ahmad, 1965	Indo-Malásia	Tailândia/Japão	-	AB037354	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes perparvus</i> Ahmad, 1965	Indo-Malásia	Tailândia	AB109490	-	-	-	Ohkuma et al. (2004)
<i>Nasutitermes nr. perparvus</i> Ahmad, 1965	Indo-Malásia	Tailândia	KP026261	KP026261	KP026261	-	Bourguignon et al. (2015)
<i>Nasutitermes pinocchio</i> Roisin & Pasteels, 1996	Nova-Guiné	Indonésia	AB037336	AB037353	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes pluvialis</i> (Mjöberg, 1920)	Australiana	Austrália	KX011778	-	-	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes princeps</i> (Desneux, 1905)	Australiana + Nova-Guiné + Wallaceana	Indonésia	AB037334	AB037351	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes regularis</i> (Haviland, 1898)	Indo-Malásia	Indonésia	AB037338	AB037355	-	-	Miura et al. (2000)
<i>Nasutitermes rippertii</i> (Rambur, 1842)	Caribe	-	-	AY623091	-	-	Scheffrahn et al. (2005)
<i>Nasutitermes rotundatus</i> (Holmgren, 1906)	Neotropical	Brasil	630	630	630	630	LaBE
<i>Nasutitermes similis</i> Emerson, 1935	Neotropical	Brasil	3	15	15	15	LaBE
<i>Nasutitermes smithi</i> (Hill, 1942)	Australiana	Austrália	KX011781	KX011702	KX011625	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes surinamensis</i> (Holmgren, 1910)	Neotropical	Brasil	150	150	150	150	LaBE
<i>Nasutitermes takasagoensis</i> (Nawa, 1911)	Indo-Malásia + Paleártica	Japão	KP026260	KP026260	KP026260	-	Bourguignon et al. (2015)
<i>Nasutitermes torresi</i> (Hill, 1942)	Australiana + Nova-Guiné	Austrália	KX011776	KX011764	KX011620	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes triodiae</i> (Froggatt, 1898)	Australiana + Nova-Guiné	Austrália	NC018131	NC018131	NC018131	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes unduliceps</i> Mathews, 1977	Neotropical	Guiana Francesa	KC631009	KF724755	-	KF724809	Roy et al. (2014)
<i>Nasutitermes walkeri</i> (Hill, 1942)	Australiana	Guiana Francesa	AB037332	AB037349	AB037332	-	-
<i>Nasutitermes wheeleri</i> Emerson, 1925	Neotropical	Brasil	135	135	135	135	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 1	Neotropical	Brasil	518/552/ 555/561	518/552/ 555/561	518/552/ 555/561	518/552/ 555/561	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 2	Neotropical	Brasil	519/569	519/569	519/569	519/569	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 3	Neotropical	Brasil	520/541/542	520/541/542	520/541/542	520/541/542	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 4	Neotropical	Brasil	570/572	570/572	570/572	570/572	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 6	Neotropical	Brasil	138/613	138/613	138/613	138/613	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 7	Neotropical	Brasil	139	139	139	139	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 9	Neotropical	Brasil	141/614	141/614	141/614	141	LaBE

Continua.

Tabela 3. Continuação.

Espécies	Região Zoogeográfica	Local de coleta	COII	16S	12S	ITS2	Referências
<i>Nasutitermes</i> sp. 10	Neotropical	Brasil	-	142	-	-	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 13	Neotropical	Brasil	143	143	143	143	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 14	Neotropical	Brasil	151	152	152	152	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 15	Neotropical	Brasil	429	429	429	429	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 16	Neotropical	Brasil	-	430	-	430	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 17	Neotropical	Brasil	-	431	-	431	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 19	Neotropical	Brasil	615	615	615	615	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 20	Neotropical	Brasil	616	616	616	616	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 21	Neotropical	Brasil	617	617	617	617	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 22	Neotropical	Brasil	618	618	618	618	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 23	Neotropical	Brasil	622	622	622	622	LaBE
<i>Nasutitermes</i> sp. 24	Afrotropical	R. D. Congo	KY224431	KY224431	KY224431	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 25	Neotropical	Colômbia	KY224489	KY224489	KY224489	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 26	Neotropical	Guiana Francesa	KY224500	KY224500	KY224500	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 27	Indo-Malásia	Tailândia	KY224571	KY224571	KY224571	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 28	Indo-Malásia	Tailândia	KY224576	KY224576	KY224576	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 29	Indo-Malásia	Índia	KY224628	KY224628	KY224628	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 30	Indo-Malásia	Tailândia	KY224664	KY224664	KY224664	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 31	Indo-Malásia	Índia	KY224666	KY224666	KY224666	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 32	Neotropical	Colômbia	KY224678	KY224678	KY224678	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 33	Neotropical	Guiana Francesa	KY224704	KY224704	KY224704	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 34	Indo-Malásia	Tailândia	KY224707	KY224707	KY224707	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 35	Australiana	Austrália	KY224713	KY224713	KY224713	-	Bourguignon et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 36	Neotropical	Equador	DQ442178	-	DQ441748	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 37	Neotropical	Equador	DQ442179	-	DQ441749	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 38	Neotropical	Equador	DQ442180	-	DQ441750	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 39	Neotropical	Equador	DQ442181	-	DQ441751	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 40	Neotropical	Guiana Francesa	DQ442173	-	DQ441743	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 41	Madagascar	Madagascar	DQ442196	-	DQ441766	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 42	Madagascar	Madagascar	DQ442195	-	DQ441767	-	Inward et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 43	Indo-Malásia	Malásia	-	JQ429116	-	-	Bujang et al. 2013
<i>Nasutitermes</i> sp. 44	Neotropical	Bellevue	KC630992	KF724735	-	KF724771	Roy et al. (2014)
<i>Nasutitermes</i> sp. 45	Caribe	Ilhas do Caribe	-	KP253936	-	-	Kartzinel; Pringle (2015)
<i>Nasutitermes</i> sp. 46	Indo-Malásia	Malásia	AY940140	-	-	-	Jenkins et al.
<i>Nasutitermes</i> sp. 47	Neotropical	Costa Rica	EU236539	-	-	-	Warnecke et al. (2007)
<i>Nasutitermes</i> sp. 48	Paleártica	China	HQ012036	-	-	-	Huang et al. (2011)
<i>Nasutitermes</i> sp. 49	Madagascar	Madagascar	FJ818924	-	-	-	Monaghan et al. (2009)
<i>Nasutitermes</i> sp. 50	Madagascar	Madagascar	FJ818930	-	-	-	Monaghan et al. (2009)
<i>Nasutitermes</i> sp. 51	Madagascar	Madagascar	FJ818931	-	-	-	Monaghan et al. (2009)
<i>Nasutitermes</i> sp. 52	Madagascar	Madagascar	FJ818933	-	-	-	Monaghan et al. (2009)
<i>Nasutitermes</i> sp. 53	Australiana	Austrália	KX011818	KX011736	KX011661	-	Arab et al. (2017)
<i>Nasutitermes</i> sp. 54	Australiana	Austrália	-	KX011700	KX011622	-	Arab et al. (2017)

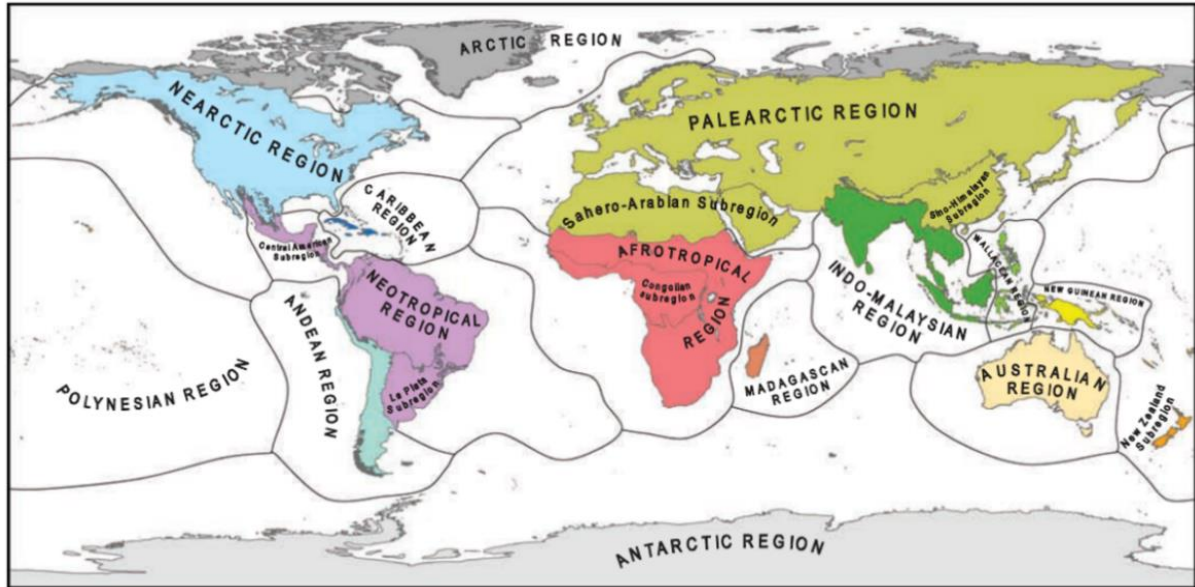
Continua.

Tabela 3. Continuação.

Espécies	Região Zoogeográfica	Local de coleta	COII	16S	12S	ITS2	Referências
<i>Amitermes amifer</i> Silvestri, 1901	Neotropical	Brasil	212	212	212	212	LaBE
<i>Cortaritermes intermedius</i> Banks, 1919	Neotropical	Brasil	619	619	619	-	LaBE
		Guiana Francesa	-	-	-	KF724787	Roy et al. (2014)
<i>Cortaritermes</i> sp.	Neotropical	Brasil	549/550/551	549/550/551	549/550/551	-	LaBE
<i>Embiratermes brevinasus</i> (Emerson & Banks, 1957)	Neotropical	Brasil	225	225	225	225	LaBE
<i>Heterotermes tenuis</i> (Hagen, 1858)	Neotropical		KU925233	KU925233	KU925233	KX954176	Bourguignon et al. (2016)
<i>Neocapritermes opacus</i> (Hagen, 1858)	Neotropical	Brasil	242	242	242	242	LaBE
<i>Sandsitermes robustus</i> (Holmgren, 1906)	Neotropical	Brasil	LaBE	136	136	136	LaBE
<i>Syntermes spinosus</i> (Latreille, 1804)	Neotropical	Brasil	258	258	258	258	LaBE

As áreas de ocorrência das espécies foram determinadas com base no tratado de Krishna et al. (2013b) e no catálogo online de Constantino (2018), de acordo com as divisões zoogeográficas apresentadas por Procheş e Ramdhani (2012) (Figura 5).

Figura 5. Divisões geográficas consideradas para as análises filogenéticas.



Fonte: PROCHEŞ; RAMDHANI (2012).

3.2 Extração do DNA total

O DNA total foi extraído da cabeça dos soldados, preferencialmente, ou dos operários quando necessário. Para as amostras armazenadas em álcool absoluto, o DNA foi obtido pelo método de extração descrito por Liu e Beckenbach (1992). Já para as amostras armazenadas em álcool 80%, ou seja, em condições não adequadas para a preservação do material genético, foram testados métodos adicionais, a fim de verificar qual o método mais eficiente nestas condições. Foram realizadas extrações de DNA por meio do conjunto de reagentes *DNA, RNA, and Protein Purification NucleoSpin Tissue* (Macherey-Nagel), *DNeasy Tissue Kit* (Qiagen), *Wizard® Genomic DNA Purification Kit* (Promega), como também pelo método descrito por Bruford et al. (1992) (adaptado por David Vieites) e *Gentra Puregene Protocol* (adaptado), este último utilizado no laboratório do Prof. Dr. Edward Vargo durante a realização do doutorado sanduíche na *Texas A&M University*, EUA. O método descrito por Liu e Beckenbach (1992) foi selecionado para as extrações, pois foi o que resultou na maior quantidade de DNA, embora este se encontrasse fragmentado.

3.3 Amplificação dos genes mitocondriais e região nuclear

Um fragmento do gene mitocondrial COII foi utilizado nas análises de delimitação de espécies do Grupo *N. jaraguae*, enquanto que para as análises populacionais e filogeográficas de *N. jaraguae*, utilizou-se também a região ITS2 (*Internal Transcribed Spacer*) do rDNA nuclear (Tabela 4). Para as amostras armazenadas em álcool 80%, cujo DNA obtido apresentou-se muito degradado, foram desenhados novos *primers* para o gene COII (Tabela 5), a fim de se obter fragmentos menores da região de estudo. As sequências obtidas para os espécimes armazenados em álcool 100% foram utilizadas como molde, empregando-se a ferramenta *Primer3Plus* (UNTERGASSER et al., 2007). A formação de dímeros foi verificada por meio da ferramenta *Multiple Primer Analyzer - Thermo Scientific Web Tools* (<https://goo.gl/YU7BA7>).

Tabela 4. *Primers* utilizados nos testes de amplificação dos genes empregados nas análises de delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* e análises filogeográficas, populacionais e filogenéticas.

Região	Primer	Sequência (5'-3')	Comprimento aproximado
ITS2			
Forward	ITS2F ¹	TGTGAACTGCAGGACACAT	400 pb
Reverse	ITS2Rnas ²	GCTTAAATTCAGMGGGTAGTC	
COII			
Forward	F-Leu ³	TCTAATATGGCAGATTAGTGC	730 e 780 pb
	Modified A-tLeu ⁴	CAG ATA AGT GCA TTG GAT TT	
Reverse	R-Lys ³	GAGACCAGTACTTGTCTTCAGTCATC	
	B-tLys ^{5,6}	GTT TAA GAG ACC AGT ACT TG	
16S			
Forward	16SF ⁷	TTACGCTGTTATCCCTAA	400 e 780 pb
Reverse	16SAr ⁸	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	
	16S-R4 ⁴	TCTGGTTTTTCAAGAAATGA	
12S			
Forward	SR-J-14199 ⁹	TACTATGTTACGACTTAT	450 pb
Reverse	SR-N-14594 ⁹	AAACTAGGATTAGATACCC	

¹Jenkins et al. (2001); ²Roy et al. (2014); ³Whiting (2002); ⁴Miura, Roisin e Matsumoto (2000); ⁵Liu e Beckenbach (1992); ⁶Simon et al. (1994); ⁷Kambhampati (1995); ⁸Xiong e Kocher (1991); ⁹Kambhampati e Smith (1995).

Tabela 5. *Primers* desenhados para a amplificação de fragmentos menores do gene COII, suas respectivas sequências e posição em relação a uma sequência referência de *Nasutitermes corniger*.

Região	Primer	Sequência (5'-3')	Posição em <i>N. corniger</i> ³
Frag 1	Modified A-tLeu ¹	CAGATAAGTGCATTGGATTT	3022-3042
	COII_Frag1_R	ATCGTCTGGTTTGYT	3455-3441
Frag 2	COII_Frag2_F	ATCTTCTTCCAAGAY	3356-3370
	COII_Frag2_R	KCTTCAGTATCAYTGG	3616-3601
Frag 3	COII_Frag3_F	GAYGAAATCCACAACC	3557-3572
	COII_Frag3_R	CGAGAATCTCATTTGG	3850-3835
Frag 4	COII_Frag4_F	CTACCAAYAAAYTCACC	3725-3741
	B-tLys ²	GTTTAAGAGACCAGTACTTG	4017-3998

¹Miura, Roisin e Matsumoto (2000); ²Liu e Beckenbach (1992); ³Simon et al. (1994); ³Número de acesso no *Genbank*: NC_026115.

Para as demais espécies, utilizadas na análise filogenética, foram amplificados fragmentos dos genes mitocondriais COII, 16S rRNA e 12S rRNA e a região ITS2 do rDNA nuclear por meio de conjuntos de *primers* (Tabela 4) e condições de amplificação específicas (Tabela 6).

Tabela 6. Condições de amplificação dos genes utilizados nas análises de delimitação de espécies do Grupo *N. jaraguae*, análises filogeográficas e filogenéticas.

Região gene	Desnaturação inicial	Desnaturação	Anelamento	Extensão	Extensão final	Número de ciclos
ITS2 ¹	96 (5 min)	96 (30 s)	50 (1 min)	72 (1 min 30 s)	72 (5 min)	45
COII ¹	94 (3 min)	94 (30 s)	45 (1 min)	72 (3 min)	72 (10 min)	35
COII ²	94 (2 min)	94 (1 min)	45-53 (30 s)	72 (1 min 15 s)	72 (7 min)	40
16S ¹	94 (3 min)	94 (30 s)	45 (1 min)	72 (3 min)	72 (10 min)	35
16S ²	94 (2 min)	94 (1 min)	50 (1 min)	72 (1 min 15s)	72 (7 min)	40
12S ³	95 (3 min)	95 (30 s)	40 (1 min)	72 (1 min)		10
		95 (30 s)	50 (1 min)	72 (1 min)	72 (7 min)	25

Condições descritas por:

¹Roy et al. (2014), para o conjunto de *primers* ITS2F e ITS2Rnas; Modified A-tLeu e B-tLys; 16SF e 16S-R4

²Legendre et al. (2008) para o conjunto de *primers* F-Leu e R-Lys; Modified A-tLeu e COII_Frag1_R; COII_Frag2_F e COII_Frag2_R; COII_Frag3_F e COII_Frag3_R; COII_Frag4_F e B-tLys; 16SF e 16SAr

³Kambhampati e Smith (1995)

As reações de PCR ocorreram em um volume final de 25 µL, sendo 12,5 µL de 2X *GoTaq*[®] *Green Mastex Mix* ou 2X *GoTaq*[®] *Colorless Mastex Mix* (Promega), 0,4 µM de cada *primer* e 2,5-10 uL de DNA total (~50 ng). Estas foram realizadas no Laboratório de Genética de Bactérias e Biotecnologia Aplicada (Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, Faculdade de Ciências Agrária e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista - FCAV-UNESP), em termociclador PTC-100 (MJ ResearchTM), enquanto a amplificação das amostras armazenadas em álcool 80% foi realizada no *Rollins Urban and Structural Entomology Facility* (Departamento de Entomologia, *Texas A&M University*, EUA), em termociclador T100TM (Bio-Rad).

3.4 Purificação e sequenciamento

Os produtos de PCR foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 1% e corados com brometo de etídio (1ng/mL) a fim de confirmar a amplificação. Os produtos foram então purificados por meio do kit *Wizard*[®] *SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega) ou com as enzimas Exo-SAP (*Exonuclease I* e *Shrimp Alkaline Phosphatase*). O sequenciamento foi realizado em sequenciador automático *ABI 3730 XL DNA Analyzer* (*Applied Biosystems*, Foster City, California - CA) no Centro de Recursos Biológicos (CREBIO), na FCAV-UNESP ou em sequenciador automático *ABI 3500 DNA Analyzer*

(Applied Biosystems, Foster City, California - CA) no *Rollins Urban and Structural Entomology Facility* (Departamento de Entomologia, *Texas A&M University*, EUA), utilizando o conjunto de reagentes *Big Dye* (Perkin-Elmer).

3.5 Análise das sequências

3.5.1 Delimitação de espécimes do Grupo *Nasutitermes jaraguae*

As sequências do fragmento do gene mitocondrial COII das espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4) (Tabela 1) foram lidas com o programa CodonCode Aligner v.5.1.5 (*CodonCode Corporation*) e editadas no programa BioEdit v.7.2.6.1 (HALL, 1999), no qual foram geradas as sequências consensus. O alinhamento das sequências foi efetuado com o software MUSCLE (EDGAR, 2004; MCWILLIAM et al., 2013). O número de haplótipos foi obtido com o software DnaSP v.5.10 (LIBRADO; ROZAS, 2009) e a distância genética entre os haplótipos foi obtida com o programa MEGA v.6.06 (TAMURA et al., 2013). Uma rede de haplótipos foi construída com o software TCS v.1.21 (CLEMENT; POSADA; CRANDALL, 2000).

A filogenia por inferência Bayesiana foi reconstruída com o pacote BEAUti e BEAST v.1.8.2 (DRUMMOND et al., 2012), considerando a taxa de substituição nucleotídica igual a $1,87 \times 10^{-9} \pm 1,05 \times 10^{-11}$ (VELONÀ et al., 2010). Para tal, foram realizadas 100 milhões de simulações MCMC, utilizando o modelo *tree prior Speciation: Yule process* (YULE, 1925; GERNHARD, 2008). O modelo de substituição nucleotídica mais adequado foi HKY+I+G, obtido com o programa jModelTest v.3.0, utilizando-se *Bayesian Information Criterion* (POSADA; CRANDALL, 1998). A espécie *Nasutitermes corniger* foi utilizada como grupo externo. Os resultados dos programas jModelTest e BEAST foram obtidos por meio do servidor CIPRES Science Gateway v.3.3 (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010). Os parâmetros foram checados no software Tracer v.1.6 (RAMBAUT et al., 2016). A árvore de máxima credibilidade dos clados foi obtida utilizando-se o software TreeAnnotator v.1.8.2 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2015), considerando o valor do *burn-in* igual a 10% do total de árvores geradas no BEAST, sendo esta visualizada e editada com o software FigTree v.1.4.2 (RAMBAUT, 2016).

3.5.2 Análise populacional e filogeográfica de *Nasutitermes jaraguae*

As sequências do fragmento do gene mitocondrial COII e da região ITS2 dos espécimes identificados na análise de delimitação de espécies como *N. jaraguae* foram lidas com o programa CodonCode Aligner v.5.1.5 (*CodonCode Corporation*), editadas no programa BioEdit v.7.2.6.1 (HALL, 1999), no qual foram geradas as sequências consensus e alinhadas com o software MUSCLE (EDGAR, 2004; MCWILLIAM et al., 2013).

Com o programa DnaSP v.5.10.01 (LIBRADO; ROZAS, 2009) foram realizadas as análises descritivas, obtendo-se o número de sítios polimórficos (S) e de haplótipos (h), diversidade haplotípica (Hd), diversidade nucleotídica (π) e o número médio de diferenças nucleotídicas (k) para cada população. A composição nucleotídica e a distância genética entre as populações foram obtidas através do programa MEGA v.6.06 (TAMURA et al., 2013) e a distância, em linha reta, entre as localidades foi estimada por meio da ferramenta disponível no *Google My Maps*. O teste de Mantel (1967), que correlaciona duas matrizes (distância genética e distância geográfica), foi realizado com o programa TFPGA v.1.3 (MILLER, 1997). Neste, são testadas permutações aleatórias entre linhas e colunas das matrizes, gerando coeficientes de correlação e um resultado significativo é inferido se ao menos 95% das estatísticas geradas aleatoriamente forem maiores ou menores do que o valor observado (z-values).

Uma rede de haplótipos foi construída com o software TCS v.1.21 (CLEMENT; POSADA; CRANDALL, 2000) e os cladogramas aninhados segundo a metodologia de Templeton, Boerwinkle e Sing (1987). A correlação entre os cladogramas aninhados e a localização geográfica dos haplótipos foi analisada por meio do programa GeoDis v.2.6 (POSADA; CRANDALL; TEMPLETON, 2000), sendo os índices testados na chave de inferência filogenética (TEMPLETON, 2004) disponibilizada pelo mesmo programa (darwin.uvigo.es/software/geodis.html).

A filogenia por inferência Bayesiana foi reconstruída com o pacote BEAUti e BEAST v.1.8.2 (DRUMMOND et al., 2012) a fim de se obter o tempo de divergência entre os grupos de haplótipos. As espécies *Nasutitermes corniger*, *Hospitalitermes hospitalis*, *Amitermes amifer*, *Neocapritermes opacus*, *Embiratermes brevinasus*, *Syntermes spinosus* e *Reticulitermes flavipes* foram utilizadas como grupo externo. Para calibrar o relógio molecular foram utilizadas as datações fósseis de $18 \pm 2,5$ Ma (WARE; GRIMALDI; ENGEL, 2010) para *Nasutitermes*, $30 \pm 2,5$ Ma para Nasutitermitinae (BOURGUIGNON et al., 2015), $55 \pm 2,5$ Ma para Termitidae (THORNE; GRIMALDI; KRISHNA, 2000; WARE;

GRIMALDI; ENGEL, 2010) e $65,5 \pm 2,5$ Ma para o clado que agrupa Termitidae e Rhinotermitidae (BOURGUIGNON et al., 2015), sem inferência de monofilia em nenhum dos pontos. Foram realizadas 500 milhões de simulações MCMC, utilizando o modelo *tree prior Coalescent: Constant Size* (KINGMAN, 1982). O processo de distribuição geográfica foi inferido com o *trait* discreto de localização. O modelo de substituição nucleotídica mais adequado foi HKY+G+I, obtido com o programa jModelTest v.3.0, utilizando-se *Bayesian Information Criterion* (POSADA; CRANDALL, 1998). Os resultados dos programas jModelTest e BEAST foram obtidos por meio do servidor CIPRES Science Gateway v.3.3 (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010). Os parâmetros foram checados no software Tracer v.1.6 (RAMBAUT et al., 2016) e a árvore de máxima credibilidade dos clados foi obtida utilizando-se o software TreeAnnotator v.1.8.2 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2015), considerando o valor do *burn-in* igual a 10% do total de árvores geradas no BEAST. A árvore foi visualizada e editada com o software FigTree v.1.4.2 (RAMBAUT, 2016).

A Análise de Variância Molecular (AMOVA) foi obtida por meio do programa Arlequin v.3.5.1.3 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010), e a estrutura populacional foi testada com base nas localidades amostradas e nos haplogrupos obtidos na rede de haplótipos gerada pelo TCS e na inferência Bayesiana. Foram realizados testes de neutralidade para os haplogrupos, a fim de determinar se estes acompanham o modelo de evolução neutra. Os testes D de Tajima (TAJIMA, 1989) e Fs de Fu (FU, 1997) foram obtidos com software Arlequin v.3.5.1.3 (EXCOFFIER; LISCHER, 2010), enquanto para os testes D* e F* de Fu e Li (FU; LI, 1993) e *mismatch distribution* foi empregado o programa DnaSP v.5.10.01 (LIBRADO; ROZAS, 2009).

3.5.3 Análise filogenética do gênero *Nasutitermes*

As sequências foram lidas com o programa CodonCode Aligner v.5.1.5 (*CodonCode Corporation*) e editadas no programa BioEdit v.7.2.6.1 (HALL, 1999), no qual foram geradas as sequências consensus. Os alinhamentos foram realizados com o software MUSCLE (EDGAR, 2004; MCWILLIAM et al., 2013). O software MEGA v.6.06 (TAMURA et al., 2013) foi utilizado para a quantificação dos sítios variáveis e invariáveis. A saturação dos dados foi testada com o software DAMBE v.6.0.48 (XIA, 2013) por meio do teste de saturação das substituições de Xia e colaboradores (XIA et al., 2003; XIA; LEMEY, 2009).

As análises filogenéticas foram realizadas considerando-se os dados concatenados. Para a reconstrução filogenética por inferência Bayesiana foi utilizado o pacote BEAUti e BEAST v.1.8.2 (DRUMMOND et al., 2012), sendo esta construída a partir de uma árvore inicial de máxima verossimilhança gerada com o software RAxLM v.8.2.10 (STAMATAKIS, 2014), com 1000 interações de *bootstrap*, ambas por meio do servidor CIPRES Science Gateway v.3.3 (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010). O modelo de substituição nucleotídica mais adequado para cada gene foi obtido com o programa jModelTest v.3.0, utilizando-se *Bayesian Information Criterion* (POSADA; CRANDALL, 1998) também por meio do servidor CIPRES SCIENCE GATEWAY V.3.3 (MILLER; PFEIFFER; SCHWARTZ, 2010). Os modelos empregados foram GTR+I+G para os genes COII e 12S, HKY+G+I para 16S e HKY+G para ITS2. Para calibrar o relógio molecular foram utilizadas as datações fósseis de $30 \pm 2,5$ Ma para Nasutitermitinae (BOURGUIGNON et al., 2015), $55 \pm 2,5$ Ma para Termitidae (THORNE; GRIMALDI; KRISHNA, 2000; WARE; GRIMALDI; ENGEL, 2010) e $65,5 \pm 2,5$ Ma para o clado que agrupa Termitidae e Rhinotermitidae (BOURGUIGNON et al., 2015), sem inferência de monofilia em nenhum dos pontos. Foram realizadas 350 milhões de simulações MCMC, utilizando o modelo *tree prior Speciation: Yule process* (YULE, 1925; GERNHARD, 2008). Os parâmetros foram checados no software Tracer v.1.6 (RAMBAUT et al., 2016) e a árvore de máxima credibilidade dos clados foi obtida utilizando-se o software TreeAnnotator v.1.8.2 (RAMBAUT; DRUMMOND, 2015), considerando o valor do *burn-in* igual a 10% do total de árvores geradas no BEAST. As árvores foram visualizadas e editadas com o software FigTree v.1.4.2 (RAMBAUT, 2016).

4 RESULTADOS

4.1 Delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*

A delimitação das espécies do Grupo *N. jaraguae* é uma etapa importante para se determinar quais espécimes representam uma mesma unidade evolutiva, cuja história pode ser contada por estudos genéticos populacionais e filogeográficos. A fim de analisar se as espécies identificadas morfológicamente como *N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4 compartilham haplótipos, estes foram caracterizados. Foram obtidos 78 haplótipos, num total de 122 espécimes analisados, sendo dois compartilhados por *N. ehrhardti* e *Nasutitermes* sp. 1 e três por *Nasutitermes* sp. 2 e *Nasutitermes* sp. 4 (Tabela 7).

Tabela 7. Haplótipos presentes nas amostras representativas do Grupo *N. jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4), número de espécimes que pertencem a cada haplótipo, número de identificação (*voucher*) que representam os indivíduos e respectivas espécies com base na identificação morfológica.

Haplótipos	N	Voucher
H1	1	262 (<i>N. jaraguae</i>)
H2	1	265 (<i>N. jaraguae</i>)
H3	1	266 (<i>N. jaraguae</i>)
H4	1	432 (<i>N. jaraguae</i>)
H5	1	433 (<i>N. jaraguae</i>)
H6	2	434, 527 (<i>N. jaraguae</i>)
H7	1	435 (<i>N. jaraguae</i>)
H8	4	436, 461, 462, 530 (<i>N. jaraguae</i>)
H9	2	464, 467 (<i>N. jaraguae</i>)
H10	1	466 (<i>N. jaraguae</i>)
H11	1	484 (<i>N. jaraguae</i>)
H12	1	485 (<i>N. jaraguae</i>)
H13	2	516, 609 (<i>N. jaraguae</i>)
H14	6	517, 521, 522, 535, 540, 545 (<i>N. jaraguae</i>)
H15	1	523 (<i>N. jaraguae</i>)
H16	3	524, 526, 537 (<i>N. jaraguae</i>)
H17	1	525 (<i>N. jaraguae</i>)
H18	1	528 (<i>N. jaraguae</i>)
H19	3	529, 532, 539 (<i>N. jaraguae</i>)
H20	3	531, 628, 744 (<i>N. jaraguae</i>)
H21	4	533, 534, 543, 544 (<i>N. jaraguae</i>)
H22	2	536, 546 (<i>N. jaraguae</i>)
H23	1	538 (<i>N. jaraguae</i>)
H24	1	541 (<i>N. jaraguae</i>)
H25	3	547, 548, 729 (<i>N. jaraguae</i>)
H26	1	578 (<i>N. jaraguae</i>)
H27	1	579 (<i>N. jaraguae</i>)
H28	1	607 (<i>N. jaraguae</i>)
H29	3	610, 726, 728 (<i>N. jaraguae</i>)
H30	1	611 (<i>N. jaraguae</i>)
H31	1	612 (<i>N. jaraguae</i>)
H32	1	626 (<i>N. jaraguae</i>)
H33	1	627 (<i>N. jaraguae</i>)

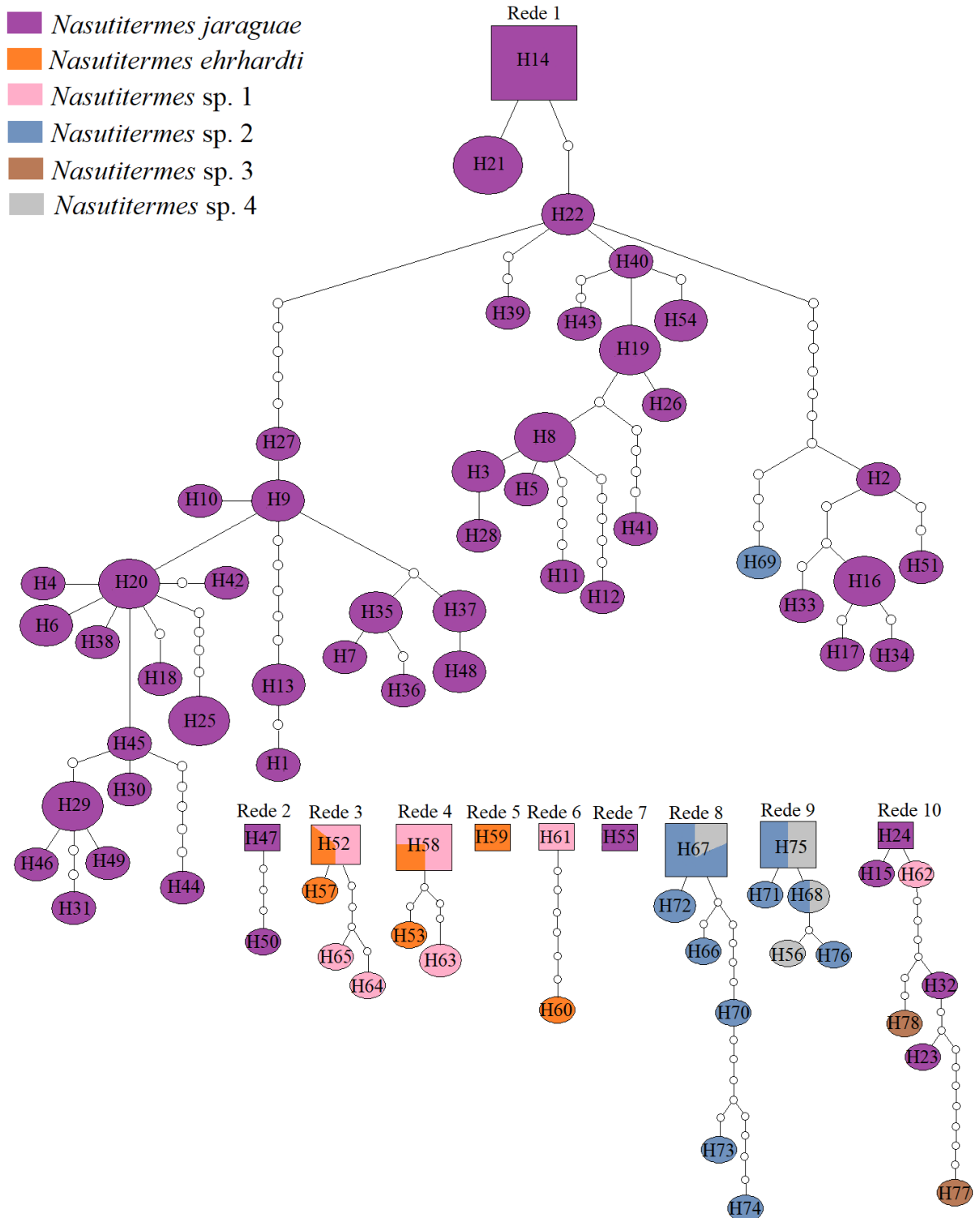
Continua.

Tabela 7. Continuação.

Haplótipos	N	Voucher
H34	1	629 (<i>N. jaraguae</i>)
H35	2	688, 690 (<i>N. jaraguae</i>)
H36	1	691 (<i>N. jaraguae</i>)
H37	2	692, 694 (<i>N. jaraguae</i>)
H38	1	696 (<i>N. jaraguae</i>)
H39	1	698 (<i>N. jaraguae</i>)
H40	1	699 (<i>N. jaraguae</i>)
H41	1	700 (<i>N. jaraguae</i>)
H42	1	710 (<i>N. jaraguae</i>)
H43	1	717 (<i>N. jaraguae</i>)
H44	1	719 (<i>N. jaraguae</i>)
H45	1	720 (<i>N. jaraguae</i>)
H46	1	721 (<i>N. jaraguae</i>)
H47	1	722 (<i>N. jaraguae</i>)
H48	2	723, 724 (<i>N. jaraguae</i>)
H49	1	725 (<i>N. jaraguae</i>)
H50	1	727 (<i>N. jaraguae</i>)
H51	1	735 (<i>N. jaraguae</i>)
H52	3	552 (<i>N. ehrhardti</i>); 624, 738 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H53	1	739 (<i>N. ehrhardti</i>)
H54	2	740, 742 (<i>N. jaraguae</i>)
H55	1	741 (<i>N. jaraguae</i>)
H56	1	743 (<i>Nasutitermes</i> sp. 4)
H57	1	747 (<i>N. ehrhardti</i>)
H58	4	555 (<i>N. ehrhardti</i>); 518, 554, 556 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H59	1	558 (<i>N. ehrhardti</i>)
H60	1	621 (<i>N. ehrhardti</i>)
H61	1	424 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H62	1	557 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H63	2	559, 560 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H64	1	561 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H65	1	623 (<i>Nasutitermes</i> sp. 1)
H66	1	425 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H67	5	519, 563, 564, 566 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2); 569 (<i>Nasutitermes</i> sp. 4)
H68	2	553 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2); 570 (<i>Nasutitermes</i> sp. 4)
H69	1	562 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H70	1	565 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H71	1	568 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H72	2	571, 573 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H73	1	574 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H74	1	575 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H75	4	576, 577 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2); 567, 572 (<i>Nasutitermes</i> sp. 4)
H76	1	620 (<i>Nasutitermes</i> sp. 2)
H77	1	520 (<i>Nasutitermes</i> sp. 3)
H78	1	542 (<i>Nasutitermes</i> sp. 3)

Uma rede de haplótipos foi construída a fim de verificar o relacionamento entre estes. Formaram-se 10 redes independentes devido ao rompimento entre as mesmas (Figura 6), o que significa que não é possível a ligação entre todos os haplótipos amostrados, a uma probabilidade de 95%, considerando-se um limite de 10 passos mutacionais entre eles (CLEMENT; POSADA; CRANDALL, 2000).

Figura 6. Redes de haplótipos para o gene COII, formadas pelo Grupo *Nasutitermes jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4).



Retângulos representam os haplótipos ancestrais, o tamanho do círculo reflete a frequência do haplótipo na amostra, cada linha sólida representa um passo mutacional que interliga dois haplótipos a uma probabilidade superior a 95% e pequenos círculos não nomeados correspondem a haplótipos intermediários faltantes. A coloração dos haplótipos indica a espécie por identificação morfológica.

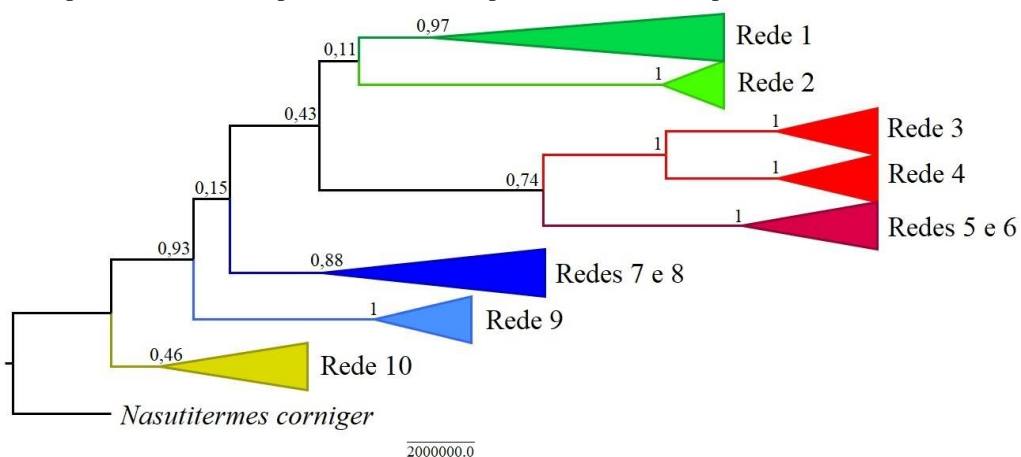
Os haplótipos pertencentes a espécie *N. jaraguae* ficaram distribuídos em quatro redes, sendo estas as Redes 1, 2, 7 e 10, formadas quase exclusivamente por esta espécie, entretanto na Rede 1 apareceu um espécime de *Nasutitermes* sp. 2 e a Rede 10 exibiu um espécime de *Nasutitermes* sp. 1 e dois de *Nasutitermes* sp. 3. As espécies *N. ehrhardti* e *Nasutitermes* sp. 1 apareceram misturadas em quatro redes (Redes 3, 4, 5 e 6), enquanto *Nasutitermes* sp. 2 e *Nasutitermes* sp. 4 se misturaram em duas redes, sendo estas as Redes 8 e 9 (Figura 6 e Tabela 8).

Tabela 8. Lista dos haplótipos que compõe as redes obtidas pelo TCS.

Rede	Haplótipos
Rede 1	H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, H11, H12, H13, H14, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22, H25, H26, H27, H28, H29, H30, H31, H33, H34, H35, H36, H37, H38, H39, H40, H41, H42, H43, H44, H45, H46, H48, H49, H51, H54, H69
Rede 2	H47, H50
Rede 3	H52, H57, H64, H65
Rede 4	H53, H58, H63
Rede 5	H59
Rede 6	H60, H61
Rede 7	H55
Rede 8	H66, H67, H70, H72, H73, H74
Rede 9	H56, H68, H71, H75, H76
Rede 10	H15, H23, H24, H32, H62, H77, H78

Ainda com o objetivo de verificar a relação entre os haplótipos, foi realizada uma análise filogenética por inferência Bayesiana, a qual apresentou clados que correspondem às redes observadas na rede haplotípica. Entretanto, alguns clados só foram monofiléticos quando unindo redes distintas, como as Redes 5 e 6 e as Redes 7 e 8, permitindo inferir que estas, juntas, representem uma única unidade evolutiva (Figura7).

Figura 7. Inferência Bayesiana para o gene COII para o Grupo *Nasutitermes jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4).



Os valores nos nós representam a probabilidade posterior e as cores clados monofiléticos, sugerindo uma mesma unidade evolutiva.

Com o intuito de mensurar as diferenças genéticas, várias análises de distância (NEI, 1978) foram executadas distintamente, sendo estas para todos os haplótipos dos espécimes do Grupo *N. jaraguae* (78 haplótipos), para as seis espécies determinadas por morfologia, para as 10 redes obtidas na rede haplotípica e para os sete clados obtidos na análise filogenética.

A distância genética média entre os haplótipos das espécies que formam o Grupo *N. jaraguae*, para o fragmento do gene COII, foi de 0,024, variando de >0,000 a 0,056 (Apêndice B). Entre as espécies determinadas por morfologia, a distância genética média foi de 0,034, variando de 0,019 a 0,043 (Tabela 9). Entretanto, alguns haplótipos que representam a mesma espécie, com base na morfologia, apresentaram distância genética alta, em geral superior a 0,030 (Apêndice B).

Tabela 9. Distância genética entre as espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*, determinadas por morfologia.

	1	2	3	4	5
1 - <i>N. jaraguae</i>	-				
2 - <i>N. ehrhardti</i>	0,043	-			
3 - <i>Nasutitermes</i> sp. 1	0,041	0,026	-		
4 - <i>Nasutitermes</i> sp. 2	0,027	0,040	0,038	-	
5 - <i>Nasutitermes</i> sp. 3	0,026	0,042	0,038	0,032	-
6 - <i>Nasutitermes</i> sp. 4	0,029	0,041	0,041	0,019	0,033

Considerando-se as redes de haplótipos obtidas pelo TCS, a distância genética média foi de 0,035 e variou de 0,014 a 0,049, sendo as menores distâncias observadas entre as Redes 3x4, 5x6 e 7x8 (Tabela 10).

Tabela 10. Distância genética entre as redes haplotípicas obtidas pelo TCS para os representantes do Grupo *Nasutitermes jaraguae*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Rede 1	-								
Rede 2	0,026	-							
Rede 3	0,042	0,041	-						
Rede 4	0,044	0,047	0,021	-					
Rede 5	0,046	0,041	0,049	0,048	-				
Rede 6	0,039	0,032	0,043	0,044	0,014	-			
Rede 7	0,026	0,028	0,041	0,038	0,046	0,041	-		
Rede 8	0,027	0,025	0,034	0,038	0,042	0,037	0,016	-	
Rede 9	0,03	0,023	0,042	0,048	0,046	0,031	0,031	0,028	-
Rede 10	0,029	0,029	0,042	0,038	0,042	0,035	0,029	0,029	0,029

A distância genética entre os clados obtidos pela análise filogenética foi elevada, variando de 0,023 a 0,045 com média de 0,033 (Tabela 11).

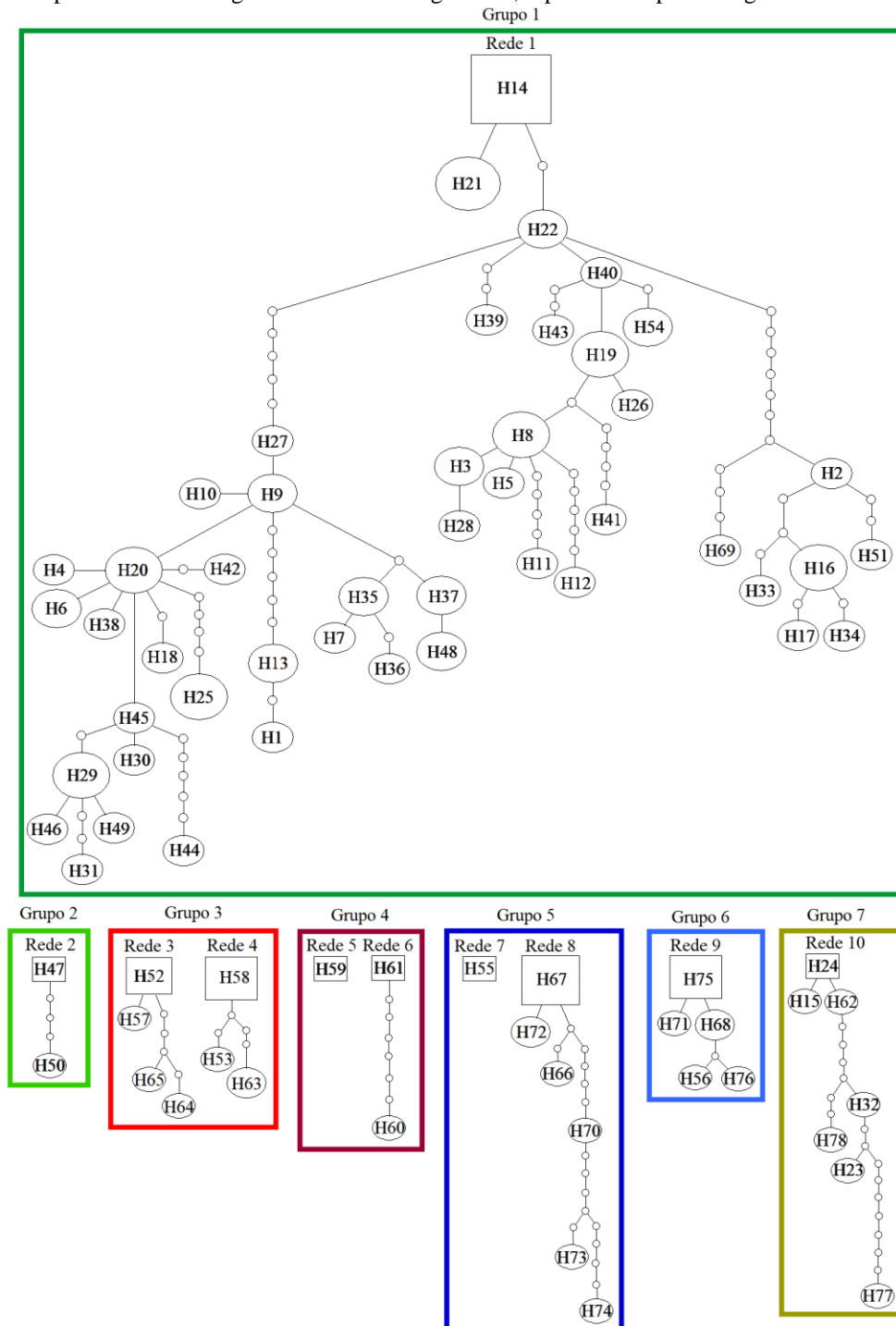
Tabela 11. Distância genética entre os clados obtidos pela análise filogenética por inferência Bayesiana para os representantes do Grupo *Nasutitermes jaraguae*.

	1	2	3	4	5	6
Grupo 1	-					
Grupo 2	0,026	-				
Grupo 3	0,043	0,044	-			
Grupo 4	0,042	0,035	0,025	-		
Grupo 5	0,024	0,025	0,038	0,040	-	
Grupo 6	0,030	0,023	0,045	0,036	0,028	-
Grupo 7	0,029	0,029	0,040	0,037	0,029	0,029

Dessa forma, considerando-se a distância genética entre os diferentes agrupamentos testados, os haplótipos podem ser dispostos em sete grupos distintos (Figura 8), que correspondem aos clados observados na análise filogenética (Figura 7). O primeiro reuniu cerca de 85% dos haplótipos representativos da espécie *N. jaraguae*, com distância genética média igual a 0,010 entre seus indivíduos, de modo que a Rede 1 (Tabela 8) pode ser considerada como representativa da espécie *N. jaraguae*, de acordo com os conceitos evolutivos e filogenéticos de espécie. O segundo grupo foi formado pela Rede 2 (Tabela 8), também com haplótipos representativos da espécie *N. jaraguae*, com distância genética de 0,005. Embora este grupo forme um clado monofilético com a Rede 1 (Figura 7), a distância genética entre estas redes foi de 0,026 (Tabela 10), confirmando a separação destas em dois grupos. O terceiro grupo foi formado por haplótipos representativos das espécies *N. ehrhardti* e *Nasutitermes* sp. 1, distribuídos nas Redes 3 e 4 (Tabela 8), as quais aparecem em dois clados monofiléticos na inferência Bayesiana. Embora a distância genética média deste grupo seja de 0,021, alguns haplótipos de redes distintas apresentam a distância genética baixa ($H63 \times H64 = 0,017$; $H63 \times H65 = 0,019$), o que sugere uma ligação entre elas, uma vez que valores similares foram observados dentro de outras redes. O mesmo aconteceu com o quarto grupo, também com haplótipos representativos das espécies *N. ehrhardti* e *Nasutitermes* sp. 1, que englobou as Redes 5 e 6 (Tabela 8), as quais formaram juntas um clado monofilético com distância genética média de 0,012. O quinto grupo reuniu as Redes 7 e 8 (Tabela 8), sendo a primeira formada por um haplótipo representativo da espécie *N. jaraguae* e a segunda por haplótipos representativos de *Nasutitermes* sp. 2 e *Nasutitermes* sp. 4. Embora estas redes sejam formadas por haplótipos representativos de espécies distintas, estes apresentaram distância genética média de 0,016 e juntos, formaram um clado monofilético, sendo por isso considerados um único grupo. O sexto grupo foi formado pela Rede 9 (Tabela 8), também com haplótipos representativos das espécies *Nasutitermes* sp. 2 e *Nasutitermes* sp. 4, com distância genética média de 0,003. O sétimo grupo reuniu os haplótipos representativos das

espécies *N. jaraguae* e *Nasutitermes* sp. 3 que ficaram dispostos na Rede 10 (Tabela 8), com a distância genética média de 0,007 (Figura 8).

Figura 8. Redes de haplótipos para o gene COII, formadas pelo Grupo *Nasutitermes jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4), evidenciando os grupos obtidos por inferência filogenética e distância genética, representada por retângulos coloridos.



Retângulos representam os haplótipos ancestrais, o tamanho do círculo reflete a frequência do haplótipo na amostra, cada linha sólida representa um passo mutacional que interliga dois haplótipos a uma probabilidade superior a 95% e pequenos círculos não nomeados correspondem à haplótipos intermediários faltantes. Os retângulos coloridos indicam a hipótese de separação das espécies baseada na rede de haplótipos associada à inferência filogenética e distância genética.

4.2 Análise populacional e filogeográfica de *Nasutitermes jaraguae*

Estudos de genética de populações e estudos filogeográficos permitem entender como a variabilidade genética se encontra distribuída nas populações de uma espécie e quais os processos responsáveis por essa distribuição. Assim, a composição nucleotídica e os parâmetros de estatística descritiva foram mensurados com o intuito de caracterizar as populações. O fragmento do gene mitocondrial COII apresentou uma proporção de A-T (T: 24,7%; C: 22,4%; A: 38,4%; G: 14,4%) superior a região nuclear ITS2 (T: 15,5%; C: 31,1%; A: 23,1%; G: 30,3%), concordando com o esperado para DNA mitocondrial de insetos (HOY, 2013). A região ITS2, analisada para 15 espécimes, não apresentou variação entre as sequências, possuindo somente um haplótipo, de modo que as demais análises foram efetuadas apenas com o gene COII. Os parâmetros da estatística descritiva mostraram uma alta diversidade haplotípica, sendo que em apenas quatro localidades não se observou variação haplotípica, mesmo tendo sido amostradas mais de uma colônia (Tabela 12).

Tabela 12. Parâmetros da estatística descritiva para as populações de *Nasutitermes jaraguae* com mais de uma colônia amostrada.

População	N	S	h	Hd	π	k
Nísia Floresta, RN	2	6	2	1,000	0,00952	6,00000
Mamanguape, PB	2	3	2	1,000	0,00476	3,00000
Brejo da Madre de Deus, PE	2	1	2	1,000	0,00159	1,00000
Ihéus, BA	3	2	2	0,667	0,00212	1,33333
Maracás, BA	2	0	1	-	-	-
Poções, BA	6	2	3	0,600	0,00108	0,66667
Juiz de Fora, MG	2	10	2	1,000	0,01587	10,00000
Santa Bárbara, MG	5	9	4	0,900	0,00613	3,80000
Linhares, ES	4	11	3	0,833	0,00908	5,66667
Santa Maria Madalena (Desengano), RJ	2	0	1	-	-	-
Campinas, SP	2	0	1	-	-	-
Cananéia, SP	7	19	5	0,857	0,00918	5,61905
Ubatuba, SP	3	10	2	0,667	0,01068	6,66667
Morretes, PR	2	2	2	1,000	0,00317	2,00000
Cambará do Sul (Aparados da Serra), RS	5	5	3	0,800	0,00349	2,20000
Cambará do Sul, RS	2	0	1	-	-	-
Total	76	48	34	0,957	0,00932	5,51053

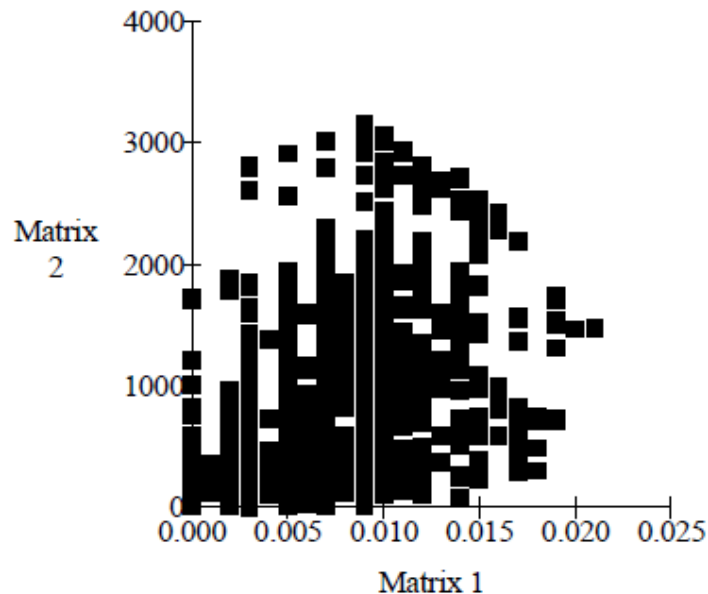
Número de colônias amostradas (N); Número de sítios polimórficos (S) e de haplótipos (h), diversidade haplotípica (Hd) e nucleotídica (π) e o número médio de diferenças nucleotídicas (k).

A distância genética entre as populações foi calculada com o intuito de verificar o nível de similaridade genética entre estas e apresentou um valor médio de 0,008 variando de 0,000 a 0,019 (Apêndice C).

O teste de Mantel foi realizado para verificar se a distância genética entre as populações está associada à sua localização. Este indicou uma correlação positiva ($r = 0,2826$;

$p = 0,00$), mas essa relação não foi linear (Figura 9), sugerindo que a localização não é o único fator responsável pela distribuição da variabilidade entre as populações, pois algumas populações distantes compartilham haplótipos similares.

Figura 9. Gráfico do teste de Mantel realizado para as populações de *Nasutitermes jaraguae*.

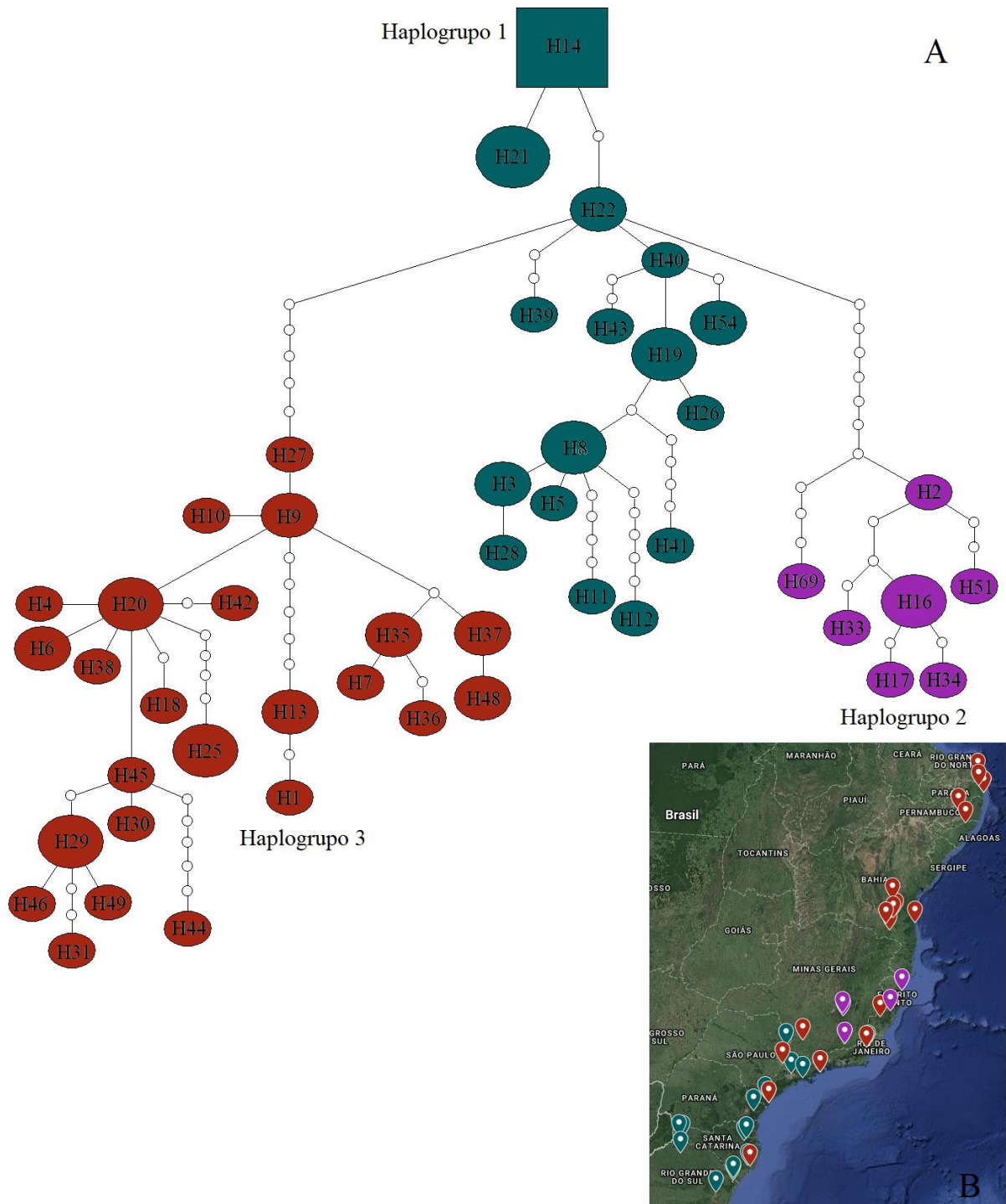


Matrix 1 = distância genética entre as populações; Matrix 2 = distância geográfica entre as populações.

A rede de haplótipos, construída a fim de verificar o relacionamento entre estes, mostrou a presença de três grandes grupos (Figura 10). Os haplótipos pertencentes a cada grupo encontram-se geograficamente agrupados, de modo que o primeiro, representado em verde na Figura 10, encontra-se distribuído do Rio Grande do Sul a São Paulo, o segundo, em roxo, está restrito aos estados de Minas Gerais e Espírito Santo e o terceiro, em vermelho, ocorre de Santa Catarina ao Rio Grande do Norte.

O teste de correlação entre a rede de haplótipos aninhada (Figura 11) e a localização destes haplótipos apresentou parâmetros significativos que indicaram fluxo gênico restrito por distância entre clados aninhados de menor nível e expansão de área no passado entre os clados de nível mais elevado (Tabela 13). Em outras palavras, o teste indicou a expansão no passado para os três grandes grupos haplotípicos observados e fluxo restrito entre algumas localidades dentro destes grupos, confirmando a correlação entre distância genética e geográfica apontada pelo teste de Mantel.

Figura 10. Rede de haplótipos da espécie *Nasutitermes jaraquae* para o gene COII.



(A). O retângulo representa o haplótipos ancestral e o tamanho dos círculos refletem a frequência dos haplótipos na amostra. Cada linha sólida representa um passo mutacional que interliga dois haplótipos a uma probabilidade superior a 95%. Pequenos círculos não nomeados correspondem aos haplótipos intermediários faltantes. A coloração dos haplótipos representa a distribuição geográfica observada no mapa (B).

Figura 11. Rede de haplótipos da espécie *Nasutitermes jaraguae* para o gene COII, aninhada segundo a metodologia de Templeton, Boerwinkle e Sing (1987).

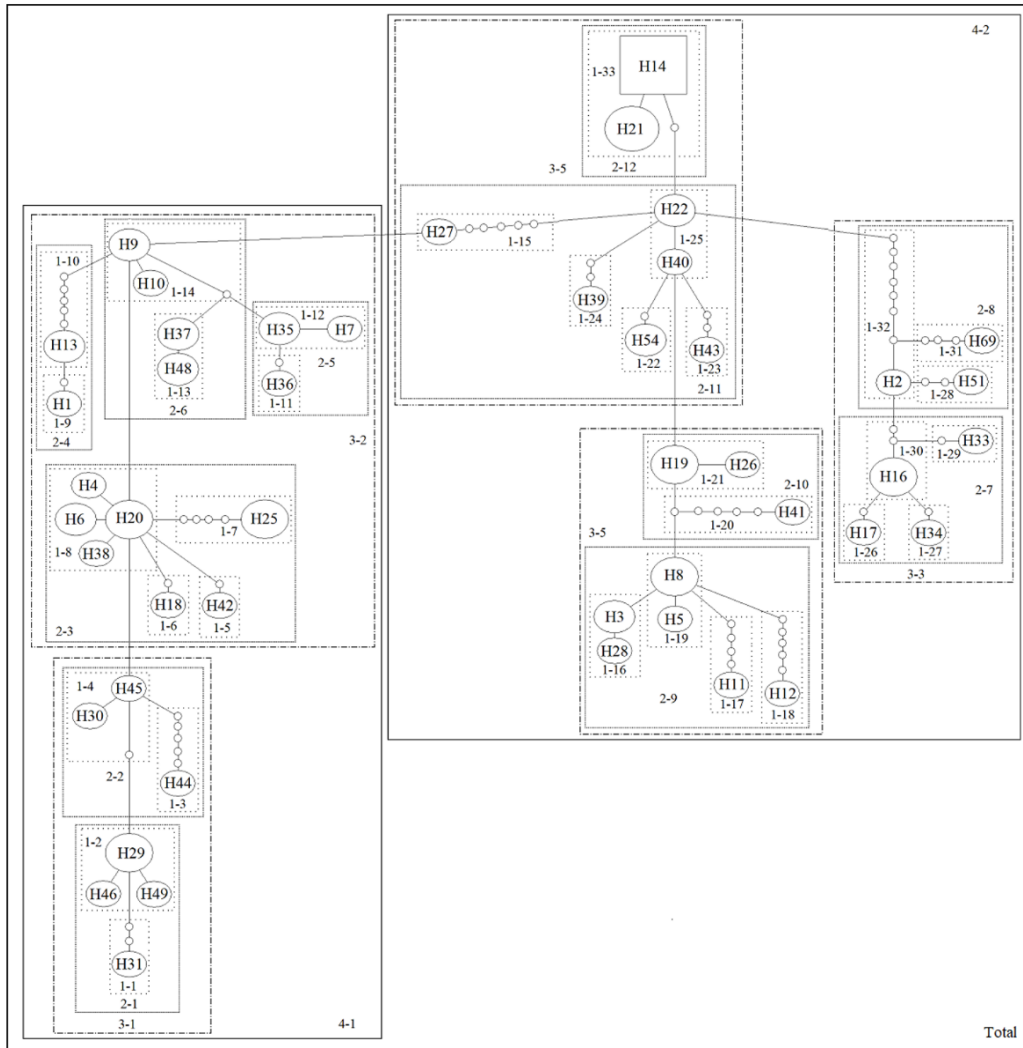


Tabela 13. Parâmetros significativos observados no teste de correlação entre a rede de haplótipos aninhada e a distribuição geográfica dos haplótipos e sua interpretação filogeográfica.

Clado	Subconjunto	Parâmetros significativos	Inferência filogeográfica
2-3	1-7 (extremidade)	Dc<	Fluxo gênico restrito por distância
3-2	2-4 (extremidade)	Dc> (interior x extremidade)	Fluxo gênico restrito por distância
	2-5 (extremidade)	Dc<	
3-4	2-9 (extremidade)	Dc<; Dn<	Fluxo gênico restrito por distância
3-5	2-12 (extremidade)	Dc> (interior x extremidade)	Fluxo gênico restrito por distância
		Dc<; Dn<	
4-1	3-1 (extremidade)	Dc>; Dn< (interior x extremidade)	Expansão de área gradual no passado
	3-2 (interior)	Dc<; Dn<	
4-2	3-3 (extremidade)	Dc> (interior x extremidade)	Expansão de área gradual no passado
	3-4 (extremidade)	Dc<; Dn>	
Total	4-2 (interior)	Dc<	Expansão de área

Dc = distância entre os cladogramas; Dn = distância do clado aninhado.

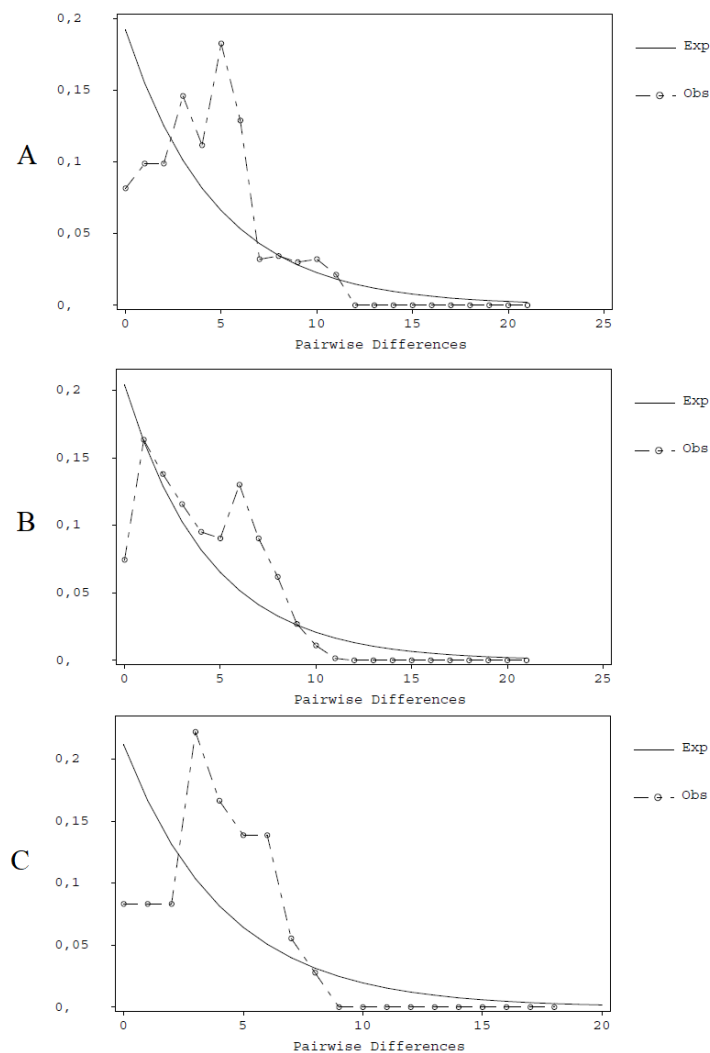
Os testes de neutralidade e *mismatch distribution* foram realizados a fim de confirmar se os haplogrupos apresentam indícios de expansão populacional. Os testes de neutralidade não apresentaram resultados significativos (Tabela 14), de modo que não foi possível inferir se os haplogrupos seguiram o modelo de evolução neutra com tamanho populacional constante ou se há indícios de expansão populacional.

Tabela 14. Resultados dos testes de neutralidade para os haplogrupos de *Nasutitermes jaraguae*.

	D de Tajima	Fs de Fu	D* de Fu e Li	F* de Fu e Li
Haplogrupo 1	-1.17263 (p = 0,10)	-2.26897 (p = 0,17)	-2,21023 (p > 0,05)	-2,27464 (p > 0,05)
Haplogrupo 2	-0.82485 (p = 0,21)	-1.26209 (p = 0,35)	-1,48755 (p > 0,10)	-1,68695 (p > 0,10)
Haplogrupo 3	-1.35735 (p = 0,08)	-0.67935 (p = 0,29)	-1,63301 (p > 0,10)	-1,74600 (p > 0,10)

Entretanto, a análise de *mismatch distribution* apresentou curva unimodal para os haplogrupos 2 e 3 (Figura 12B e C), indicando expansão populacional.

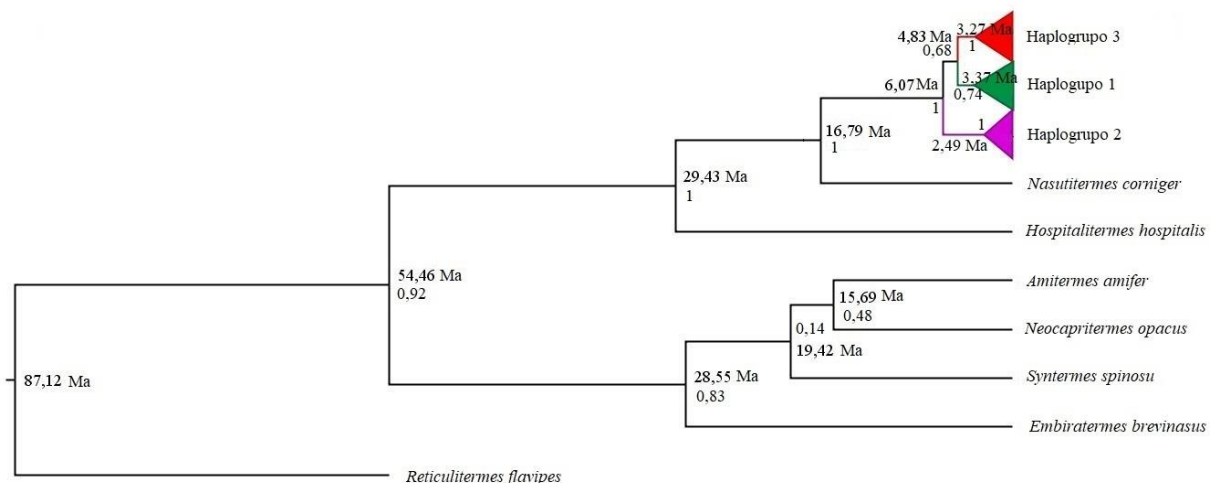
Figura 12. *Mismatch distribution* para os haplogrupos de *Nasutitermes jaraguae*. A - haplogrupo 1; B - haplogrupo 2; C - haplogrupo 3.



A AMOVA apresentou valores de F_{ST} significativos e elevados para as amostras organizadas por localidades ($F_{ST} = 0,63551$; $p < 0,01$) e por haplogrupos ($F_{ST} = 0,59864$; $p < 0,01$), ambos testados sem hierarquia. Em relação a distribuição da variação, 63,55% se encontra entre as localidades e 36,45% dentro delas, enquanto 59,86% está contida entre os haplogrupos e 40,14% dentro destes.

A reconstrução filogenética por meio da inferência Bayesiana foi utilizada a fim de entender o relacionamento dos haplogrupos e inferir uma possível rota de dispersão. O haplogrupo 2 foi o primeiro a divergir, em cerca de 6 Ma e iniciou sua diferenciação a partir de 2,49 Ma. Os haplogrupos 1 e 3 divergiram em cerca de 4,8 Ma e se diversificaram a partir de 3,37 Ma e 3,27 Ma, respectivamente (Figura 13).

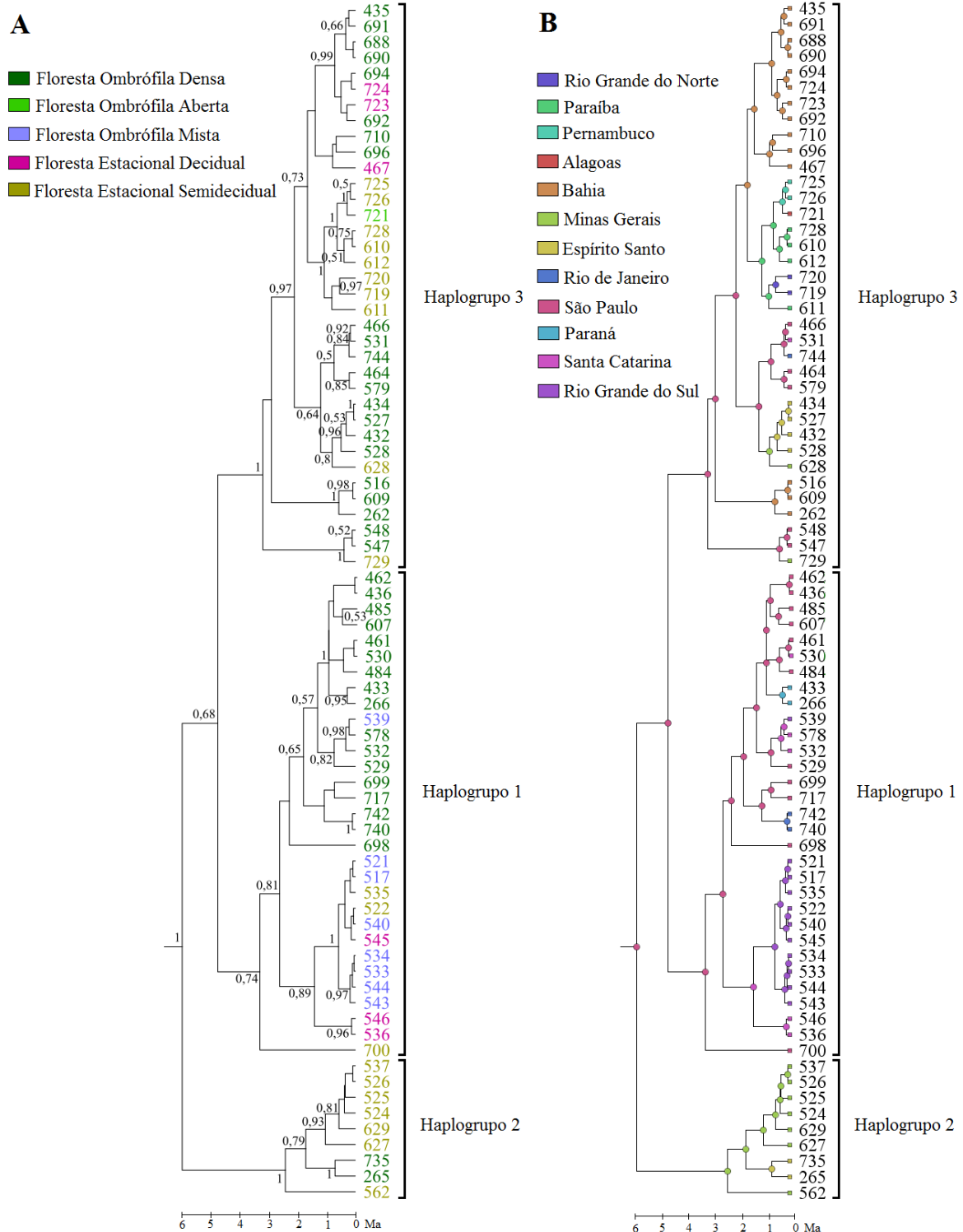
Figura 13. Inferência Bayesiana para a espécie *Nasutitermes jaraguae*. Valores nos nós indicam o tempo de divergência e a probabilidade posterior que sustenta o clado.



Foi possível observar uma associação entre o relacionamento filogenético dos espécimes e sua fitofisionomia de ocorrência (Figura 14A). O haplogrupo 1 apresentou um clado formado por espécimes oriundos de Floresta Ombrófila Densa e um único espécime de Floresta Ombrófila Mista e outro clado contendo espécimes provenientes de Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Decidual e Floresta Estacional Semidecidual. O haplogrupo 2 foi formado por espécimes de Floresta Estacional Semidecidual e dois espécimes de Floresta Ombrófila Densa, os quais foram mais relacionados. Já o haplogrupo 3 foi formado por espécimes oriundos de Floresta Ombrófila Densa, Floresta Estacional Decidual e Floresta Estacional Semidecidual, estando os espécimes de diferentes fitofisionomias majoritariamente agrupados em clados distintos (Figura 14A).

Pôde-se perceber também uma associação entre o relacionamento filogenético dos espécimes em cada haplogrupo e sua localização geográfica (Figura 14B).

Figura 14. Inferência Bayesiana para a espécie *Nasutitermes jaraguae*. (A) As cores indicam a fitofisionomia em que as amostras foram coletadas e os valores nos nós representam a probabilidade posterior bayesiana (>0,50). (B) As cores representam a localização dos espécimes e a possível origem geográfica dos ancestrais comuns. A escala indica o tempo em milhões de anos (Ma).



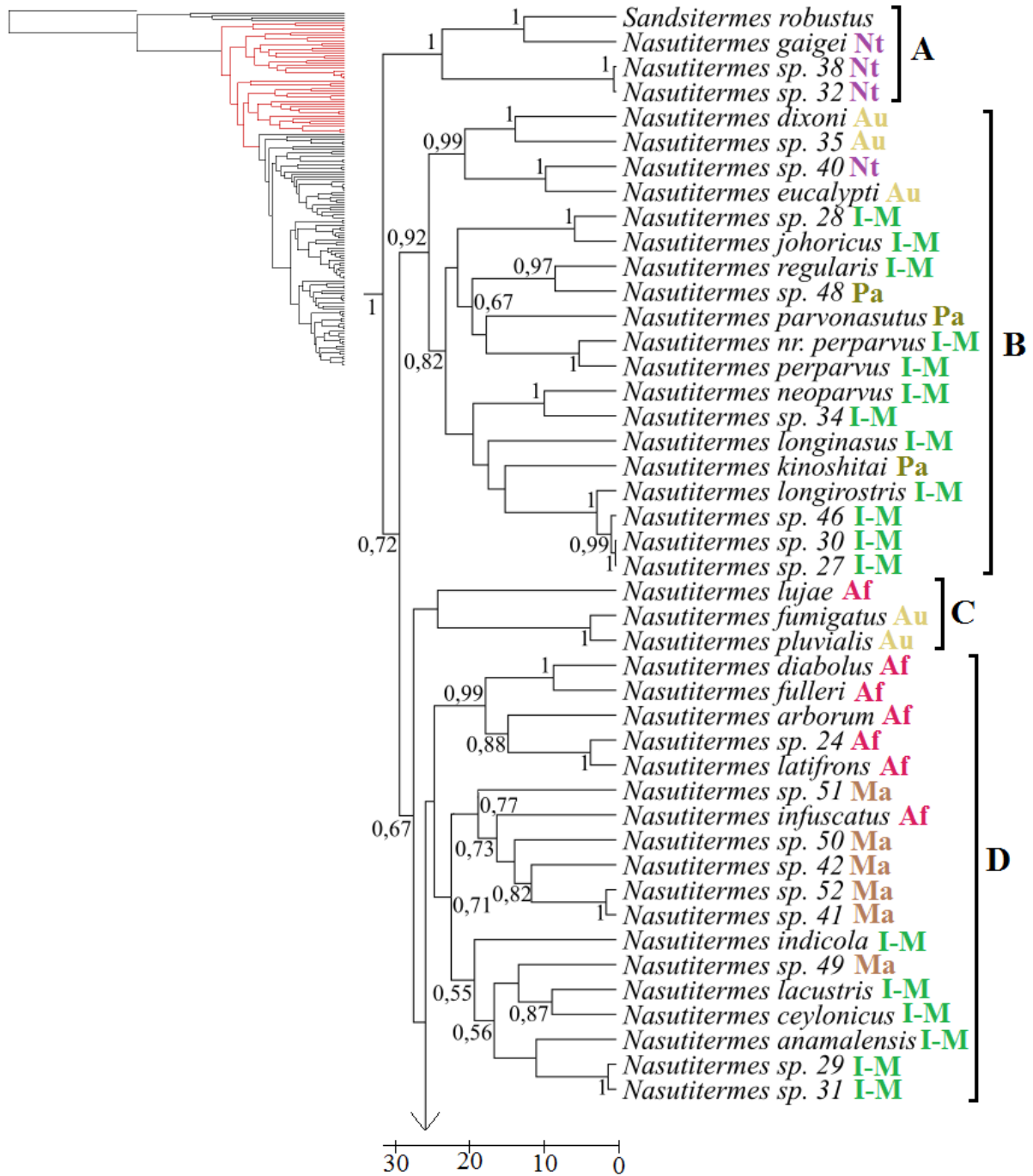
A região Sudeste (São Paulo) foi estimada como o centro de origem de todos os haplogrupos (Figura 14B). Assim, no haplogrupo 1 teriam ocorrido eventos de dispersão para a região Sul (2,69 e 0,98 Ma) e diversificação pelo Sudeste (a partir de 1,86 Ma). No haplogrupo 2, sugere-se uma diversificação pelo Sudeste a partir de 2,49 Ma, com dispersão para Minas Gerais (6,07 Ma) e então para o Espírito Santo (1,78 Ma). Já a distribuição dos espécimes do haplogrupo 3 teria ocorrido por diversificação na região Sudeste (a partir de 2,35 Ma) e eventos de dispersão independentes, para a região Nordeste (2,97 e 2,18 Ma) e para a região Sul (0,23 Ma), com posterior diversificação.

4.3 Análise filogenética do gênero *Nasutitermes*

A fim de caracterizar os genes utilizados nas análises filogenéticas para o gênero *Nasutitermes*, foram mensurados o número de sítios variáveis e invariáveis nos dados separados e concatenados, bem como realizado um teste de saturação com os dados separados para validar sua adequação às análises propostas. Foram obtidas sequências de 682 pb para o fragmento do gene COII (351 sítios conservados e 331 sítios variáveis), 807 pb para o fragmento do gene 16S (339 sítios conservados e 468 sítios variáveis), 440 pb para o fragmento do gene 12S (291 sítios conservados e 149 sítios variáveis) e 438 pb para a região ITS2 (277 sítios conservados e 161 sítios variáveis). Os dados concatenados apresentaram 2.367 pb, sendo 1.258 sítios conservados e 1.109 sítios variáveis. O teste de saturação de Xia e colaboradores (XIA et al., 2003; XIA; LEMEY, 2009) mostrou pequena saturação ($Iss < Iss.c$; $p < 0,05$) para todos os fragmentos, de modo que os dados se encontram apropriados para análises filogenéticas aqui realizadas.

A análise Bayesiana resultou em cladogramas que agruparam, em sua maioria, espécies oriundas de uma mesma região (Figuras 15 a 17), considerando-se as divisões zoogeográficas de Procheş e Ramdhani (2012) (Figura 4). O início da diversificação da subfamília Nasutitermitinae foi datada em 32,02 Ma e foi possível observar que o gênero *Nasutitermes* não foi recuperado como monofilético, uma vez que os gêneros *Sandsitermes* e *Cortaritermes* apareceram internos ao clado de *Nasutitermes*. A espécie *C. intermedius* ficou alocada em um clado distinto das demais morfoespécies do gênero, posicionados mais internamente na árvore (Figura 17). Já a espécie *S. robustus* agrupou-se com as espécies também neotropicais *N. gagei*, *Nasutitermes* sp. 32 e *Nasutitermes* sp. 38 (Figura 15A), sendo este o clado mais basal de Nasutitermitinae, o qual se diversificou a partir de 23,91 Ma.

Figura 15. Inferência Bayesiana para o gênero *Nasutitermes* a partir dos dados concatenados (COII, 16S, 12S e ITS2), ressaltando os clados mais basais.



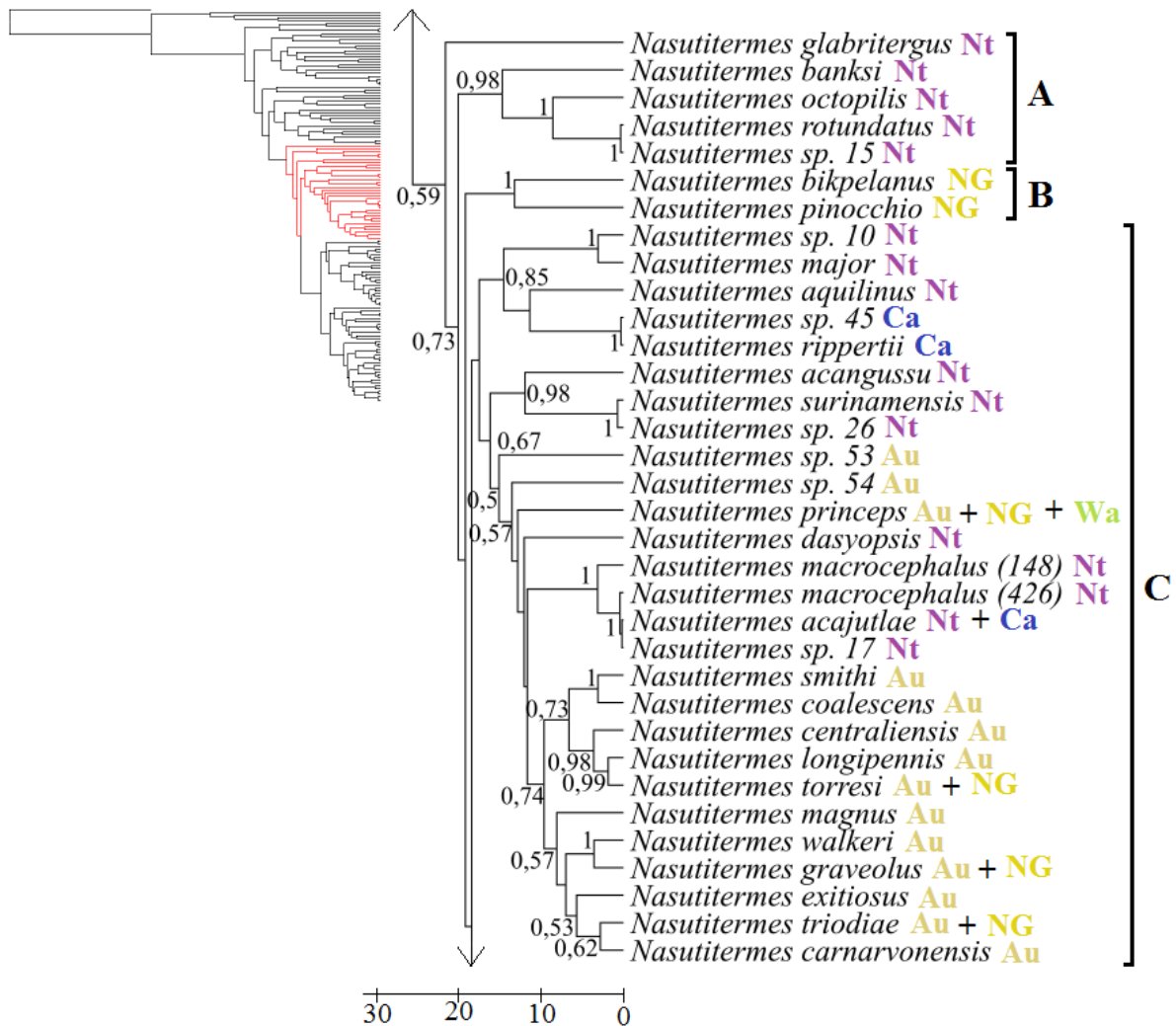
Os valores nos nós indicam a probabilidade posterior bayesiana (>0,50) e escala de tempo está representada em milhões de anos. Af: Região Afrotropical, Au: Região Australiana, I-M: Região Indo-Malásia; Ma: Região de Madagascar, Nt: Região Neotropical, Pa: Região Paleártica.

O segundo clado a divergir foi composto por dois clados menores, sendo um com diversificação a partir de 20 Ma, no qual foram agrupadas espécies da Região Australiana e pôde-se observar um evento de dispersão para a Região Neotropical há 9,7 Ma. O outro clado se diversificou há 23 Ma e reuniu espécies das Regiões Indo-Malásia e Paleártica, indicando eventos de dispersão da primeira para a segunda entre 17,84 e 8 Ma (Figura 15B).

O terceiro clado agrupou uma espécie da Região Afrotropical e duas espécies da Região Australiana (Figura 15C), enquanto o quarto clado, que se diversificou a partir de 24,98 Ma, reuniu espécies de diferentes regiões que, em sua maioria, foram agrupadas em clados internos distintos (Figura 15D). Neste foi possível observar eventos de dispersão da Região Afrotropical para a Região Indo-Malásia (19 Ma) e desta para Madagascar (13,42 Ma), bem como da Região Afrotropical para a Região de Madagascar (18,95 Ma) e desta de volta para a Região Afrotropical (16 Ma). Entretanto, a ausência de suporte entre alguns clados, não nos permitiu inferir o relacionamento entre os táxons com confiança.

Em um posicionamento intermediário na árvore filogenética, pôde-se observar clados que foram formados exclusivamente por espécies da Região Neotropical (Figura 16A) e da Nova Guiné (Figura 16B), indicando eventos de dispersão da Região Afrotropical para a Região Neotropical (22 Ma) e desta para Nova Guiné (13,5 Ma). Pôde-se observar também eventos de dispersão da Região Neotropical para o Caribe (11 Ma), por meio de um clado que reuniu espécies oriundas destas duas regiões, bem como eventos de dispersão da Região Neotropical para a Região da Nova Guiné (13,5 Ma) e Australiana (15-11 Ma), e desta para Wallaceana (13,13 Ma) e Nova Guiné (9,86 Ma), uma vez que outro clado agrupou espécies que ocorrem nas Regiões Australiana, Nova Guiné, Australiana + Nova Guiné e Australiana + Nova Guiné + Wallaceana (Figura 16C). Pôde-se observar uma separação entre as espécies australianas e neotropicais, embora o relacionamento entre todos os táxons não possa ser inferido com confiança devido a ausência de suporte entre alguns clados.

Figura 16. Inferência Bayesiana para o gênero *Nasutitermes* a partir dos dados concatenados (COII, 16S, 12S e ITS2), ressaltando os clados intermediários.



Os valores nos nós indicam a probabilidade posterior bayesiana (>0,50) e escala de tempo está representada em milhões de anos. Au: Região Australiana, Ca: Região do Caribe, Nt: Região Neotropical, NG: Região da Nova Guiné, Wa: Região Wallaceana.

O clado mais interno compreendeu espécies predominantemente da Região Neotropical (Figura 17), as quais se distribuíram em dois clados internos que divergiram há 13,87 Ma. Este clado contém ainda um ramo formado por espécies que ocorrem nas Regiões Indo-Malásia, Indo-Malásia + Wallaceana, Indo-Malásia + Paleártica, Nova Guiné e Madagascar, indicando eventos de dispersão da Região Neotropical para a Região Indo-Malásia (7,8 Ma) e desta para as Regiões Paleártica (2,35 Ma), Wallaceana (1,44 Ma) e da Nova Guiné e de Madagascar (0,99 Ma) (Figura 17).

Figura 17. Inferência Bayesiana para o gênero *Nasutitermes* a partir dos dados concatenados (COII, 16S, 12S e ITS2), ressaltando os clados mais internos.



Os valores nos nós indicam a probabilidade posterior bayesiana (>50) e escala de tempo está representada em milhões de anos. Ca: Região do Caribe, I-M: Região Indo-Malásia; Ma: Região de Madagascar, Ne: Região Neártica, Nt: Região Neotropical, NG: Região da Nova Guiné, Pa: Região Paleártica, Wa: Região Wallaceana.

Algumas espécies tiveram mais de um espécime incluído na análise com o objetivo de avaliar se o relacionamento filogenético destes confirmaria sua existência como uma única unidade evolutiva, uma vez que foram percebidas variações morfológicas entre eles. A espécie *N. macrocephalus* representada pelos *vouchers* 148 e 426, apresentou uma variação de coloração e foi observada a maior proximidade do espécime 426 com as espécies *N. acajutlae* e *Nasutitermes* sp. 17, estando o outro mais externo ao clado (Figura 16). As espécies *N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4, definidas na análise de delimitação de espécies, também tiveram mais de um espécime analisado, os quais formaram clados monofiléticos, em um clado bem suportado, juntamente à *Nasutitermes* sp. 19, *Nasutitermes* sp. 22, *Nasutitermes* sp. 23 e espécies do gênero *Cortaritermes* (Figura 17).

5 DISCUSSÃO

5.1 Delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*

A espécie *N. jaraguae* pertence a um grupo que reúne ao menos cinco espécies, as quais ocorrem na Mata Atlântica *sensu lato* e apresentam características morfológicas sutis que as distinguem, sendo, na maioria das vezes, difícil sua identificação devido aos poucos caracteres diagnósticos evidentes. Assim, os estudos genéticos aqui realizados buscaram testar novas ferramentas que pudessem verificar se as espécies identificadas morfológicamente como *N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4 representariam entidades evolutivas distintas e assim auxiliar os estudos morfológicos.

A distância genética entre as espécies previamente determinadas por morfologia foi elevada (superior a 2%, exceto entre *Nasutitermes* sp. 2 e *Nasutitermes* sp. 4), quando considerada a proposição do *Barcode* para a determinação de espécie diferentes, que estabelece valores de distância genética de 2 a 3% para o gene mitocondrial COI (HEBERT et al., 2003; HEBERT; RATNASINGHAM; WAARD, 2003). Dessa forma, observou-se um indício de que as características morfológicas utilizadas para a identificação destas espécies separam também indivíduos geneticamente distintos. Entretanto, não houve suporte filogenético para a sustentação destas entidades biológicas, pois os agrupamentos nas redes de haplótipos (Figura 6) e a análise filogenética (Figura 7) não corresponderam à separação determinada por morfologia.

Os espécimes identificados como *N. jaraguae* ficaram alocados em quatro redes de haplótipos (Figura 6), as quais corresponderam a clados monofiléticos distintos na árvore filogenética (Figura 7), o que mostra que os caracteres morfológicos utilizados para a determinação desta espécie reúnem espécimes geneticamente distintos. Este padrão pode ser explicado pela discordância que ocorre entre a separação de linhagens, decorrente de especiação causada por pressões evolutivas, e os critérios utilizados para a delimitação de espécies por diferentes conceitos de espécies (DE QUEIROZ, 2007). Assim, mesmo após a separação genética de uma linhagem, os critérios utilizados por conceitos ecológicos e biológicos, bem como caracteres morfológicos, podem não detectar diferenças entre estas, demandando tempo para que isto seja possível (DE QUEIROZ, 2007).

Por outro lado, para as espécies *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2 e *Nasutitermes* sp. 4, os caracteres morfológicos separaram espécimes que,

com base nas análises genéticas, provavelmente pertencem a mesma unidade evolutiva (Figura 8), demonstrando que os caracteres morfológicos utilizados podem representar a plasticidade fenotípica de uma mesma linhagem.

A rede de haplótipos construída com base em métodos de parcimônia resultou em 10 redes independentes, sendo então hipotetizadas unidades evolutivas para cada uma destas (Figura 6). A suposição de que indivíduos que apareçam em redes de haplótipos desconectadas representem unidades evolutivas distintas está embasada no princípio de que não é possível a ligação destes haplótipos, a uma probabilidade de 95%, pois existe uma probabilidade maior que 5% de que cada evento mutacional não seja único (CLEMENT; POSADA; CRANDALL, 2000). Entretanto esta suposição não foi sustentada pelo nível de distância genética entre os espécimes de *N. ehrhardti* e *Nasutitermes* sp. 1, pertencentes às Redes 3 e 4 (Apêndice B) e também pela análise filogenética, em que as Redes 6 e 8 não foram recuperadas como agrupamentos monofiléticos (Figura 7). Este fato pode estar relacionado ao número de haplótipos amostrado para cada unidade evolutiva, uma vez que para a construção de uma rede de haplótipos por métodos de parcimônia considera-se um limite de 10 passos mutacionais entre estes (CLEMENT; POSADA; CRANDALL, 2000). Dessa forma, uma amostragem insuficiente implica na inclusão de haplótipos hipotéticos intermediários acima do limite tolerado pela análise, fazendo com que a rede se rompa inevitavelmente. De modo que, para uma satisfatória afirmação utilizando ferramentas moleculares para a delimitação de espécies, se faz necessário uma amostragem suficientemente grande em que a amplitude de variação genética do táxon estudado esteja contemplada, para que hajam poucos haplótipos faltantes e que o rompimento da rede não seja um artefato disto, e sim uma medida confiável da existência de unidades evolutivas distintas.

Valores de distância genética vem sendo utilizados para a determinação de espécies, como proposto pela abordagem do *Barcode* (HEBERT et al., 2003; HEBERT; RATNASINGHAM; WAARD, 2003), porém esta pode ser associada a análises filogenéticas, tornando a resolução mais robusta. Assim, valores entre 1,07% a 4,99% no gene COII, associados à grupos monofiléticos com sustentação superior a 0,95 de probabilidade posterior, foram suficientes para definir que espécimes identificados morfológicamente como *Cubitermes* sp. *affinis subarquatus* na verdade eram um grupo de espécies crípticas (ROY et al., 2006). Neste estudo, embora a distância genética entre as Redes 3 e 4 tenha sido elevada (2,1%), alguns haplótipos que compõe estas redes apresentaram baixa distância genética entre si (H63 x H64 = 1,7%; H63 x H65 = 1,9%), indicando possíveis pontos de ligação não conectados pela ausência de haplótipos intermediários amostrados, uma vez que valores

similares de distância genética foram observados dentro de outras redes, como por exemplo entre os haplótipos H4 e H11 pertencentes à Rede 1 (Apêndice B). Além disso, as Redes 3 e 4 formaram um clado monofilético (Figura 7), sendo então sugerida a inclusão de ambas como uma única unidade evolutiva.

Dessa forma, considerando-se as redes de haplótipos obtidas por meio de métodos de parcimônia associadas à distância genética e às relações filogenéticas, sugeriu-se que as espécies identificadas morfologicamente como *N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4, na realidade representam sete unidades evolutivas distintas, denominadas aqui como grupos (Figura 8). Esta hipótese é reforçada pelos altos valores de distância genética entre os grupos sugeridos (média de 3,3%) e o nível de distância genética dentro destes (de 0,3% a 2,1%), o qual indica que a diversidade não está subestimada dentro destas entidades evolutivas inferidas (sete grupos) (Figura 8), como sugerido para espécies africanas de cupins, com distância intraespecífica em cerca de 6% (HAUSBERGER et al., 2011).

Diante disto, podemos concluir que a hipótese de delimitação de espécies que considerou os resultados da rede de haplótipos, associados à inferência Bayesiana e à distância genética, foi a que apresentou a maior sustentação e conseqüentemente, é a que melhor evidencia as unidades evolutivas, as quais podem ser consideradas como espécies distintas, de acordo com os conceitos evolutivo e filogenético de espécies (SIMPSON, 1951; WILEY, 1978; ROSEN, 1979; NELSON; PLATNICK, 1981; CRACRAFT, 1983; DONOGHUE, 1985; MISHLER, 1985; NIXON; WHEELER, 1990; MAYDEN, 1997). Assim, podemos concluir que os espécimes que formaram o Grupo 1 representam a espécie *N. jaraguae*, pois este reuniu a maioria dos espécimes identificados morfologicamente como *N. jaraguae* (Figura 8). Embora este grupo contenha um espécime de *Nasutitermes* sp. 2, identificado desta forma por ser muito menor e com mais pelos curtos nos tergitos (E. Canello, com. pessoal), a menor distância genética entre este e os espécimes que compõe a mesma rede é de apenas 0,008 (Apêndice B). De modo que esta variação morfológica deve ser contemplada quando se identificar esta espécie morfologicamente, pois geneticamente se trata da mesma unidade evolutiva.

Desta forma, a utilização integrada de aspectos morfológicos e genéticos podem trazer maior confiabilidade para a resolução de questões fundamentais dentro da biologia, como o da conceituação e delimitação de espécies, verificando se espécies determinadas por morfologia são realmente entidades independentes ou não, resgatando assim seu processo evolutivo.

5.2 Análise populacional e filogeográfica de *Nasutitermes jaraguae*

As populações de *N. jaraguae* apresentaram diversidade haplotípica elevada ($H_d = 0,957$) associada à baixa diversidade nucleotídica ($\pi = 0,00932$), o que indica que as populações sofreram um rápido crescimento a partir de uma população ancestral com baixo número efetivo, de modo que houve tempo suficiente para a recuperação da variabilidade haplotípica por mutação, mas não para o acúmulo de grandes diferenças entre estes haplótipos (AVISE, 2000). O mesmo já foi observado para outra espécie do gênero, *Nasutitermes corniger*, porém os genes analisados foram diferentes, de modo que os valores obtidos no presente estudo para *N. jaraguae*, por meio do gene mitocondrial COII, foram superiores aos verificados para o gene 16S rRNA de *N. corniger* (SANTOS et al., 2017). Isto era esperado, uma vez que a região da Citocromo Oxidase (COI e COII) está entre as regiões do DNA mitocondrial que acumulam as mutações mais rapidamente (HARTL; CLARK, 2010).

A distância genética entre as populações de *N. jaraguae* variou de 0,000 a 0,019 (Apêndice C), indicando a mesma composição de haplótipos em localidades próximas, como João Pessoa (PB) e Brejo Madre de Deus (PE) ou Maracás (BA) e Poções (BA), e composição haplotípica distinta entre espécimes de localidades distantes, como João Pessoa (PB) e Santa Bárbara (MG). Entretanto, a mesma composição haplotípica também foi observada entre localidades distantes, como Itambé (BA) e Tubarão (SC). Este padrão foi confirmado pelo teste de Mantel (Figura 9), que mostrou uma correlação positiva, mas não linear entre as distâncias genética e geográfica, sugerindo que, de modo geral, populações próximas são geneticamente mais semelhantes que populações distantes, porém alguns haplótipos, ou grupos de haplótipos, possuem ampla distribuição.

A rede de haplótipos (Figura 10) mostrou a existência de três haplogrupos, o que foi confirmado pela inferência Bayesiana (Figura 13). A análise de cladogramas filogeneticamente aninhados (NCPA) (Tabela 13) apontou fluxo gênico restrito por distância entre cladogramas aninhados de menor nível, ou seja, dentro de um mesmo haplogrupo, refletindo a distância genética mais alta entre haplótipos de localidades distantes, como Nísia Floresta (RN) e Ilhéus (BA) ($H_{44} \times H_1 = 0,010$) em relação a localidades mais próximas, como Nísia Floresta (RN) e João Pessoa (PB) ($H_{44} \times H_{31} = 0,003$) (Apêndice C). Esta análise apontou também expansão de área no passado entre os cladogramas de nível mais elevado, o que pôde ser confirmado pela relação entre diversidade haplotípica e nucleotídica (AVISE, 2000) e por meio da *mismatch distribution*, para os haplogrupos 2 e 3 (Figura 12), uma vez que curvas unimodais podem ser interpretadas como indícios de crescimento populacional ao longo do

tempo (SLATKIN; HUDSON, 1991; ROGERS; HARPENDING, 1992; MOUSSET; DEROME; VEUILLE, 2004).

A AMOVA, testada sem hierarquia, apresentou valores de F_{ST} significativos e elevados, tanto para as amostras organizadas por localidades ($F_{ST} = 0,63551$; $p < 0,01$) quanto por haplogrupos ($F_{ST} = 0,59864$; $p < 0,01$), o que comprova um alto nível de estruturação populacional, uma vez que valores superiores a 0,25 indicam diferenciação genética muito grande (WRIGHT, 1978) e aponta que esta estruturação está associada a distribuição geográfica, pois os haplótipos pertencentes a cada haplogrupo também encontraram-se geograficamente agrupados (Figura 10). O valor de F_{ST} para as amostras organizadas por localidade foi superior ao observado por haplogrupos e pode estar relacionada a quantidade de variação presente dentro das unidades testadas. Cada localidade teve de uma a seis colônias amostradas (Tabela 2), de modo que 36,45% da variação foi observada dentro das populações. Os haplogrupos, por sua vez, foram formados por haplótipos de distintas localidades, reunindo de nove a 36 amostras, de modo que a quantidade de variação dentro dos grupos foi superior (40,14%), diminuindo, consequentemente, a variação entre os grupos.

O padrão de distribuição observado para o haplogrupo 1, que ocorre do Rio Grande do Sul à São Paulo, e do haplogrupo 2, que está restrito aos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, correspondem a padrões já observados para outras espécies e pode ser explicado com base na hipótese de refúgios florestais do Plioceno-Pleistoceno (HAFFER, 1969; VANZOLINI; WILLIAMS, 1970; MAYR; O'HARA, 1986). Esta hipótese explica a existência de áreas de maior diversidade e endemismo, em decorrência de alterações climáticas que deixaram o clima mais frio e seco, o que levou a retração das áreas florestais e expansão das áreas abertas, resultando no isolamento das manchas florestais e consequente especiação das populações isoladas (HAFFER, 1969). Quando o clima se tornou mais quente e úmido novamente, ocorreu a expansão das áreas florestais e a reconexão dos fragmentos, onde habitavam novas espécies decorrentes da especiação por isolamento ou populações geneticamente distintas devido à ausência de fluxo gênico (HAFFER, 1969).

Esta hipótese tem explicado a existência de uma área de descontinuidade observada para répteis (GRAZZIOTIN et al., 2006), aves (CABANNE; SANTOS; MIYAKI, 2007; CABANNE et al., 2008), morcegos (MARTINS et al., 2009), anfíbios (CARNAVAL et al., 2009; THOMÉ et al., 2010) e abelhas (BATALHA-FILHO et al., 2010), localizada na região norte do estado de São Paulo e que concorda com o limite de distribuição entre os haplogrupos 1 e 2. Outra área de descontinuidade está localizada na região norte de Minas

Gerais e Espírito Santo, próximo ao Vale do Rio Doce e define a distribuição do haplogrupo 2, já tendo sido observada para aves (CABANNE; SANTOS; MIYAKI, 2007; CABANNE et al., 2008), anfíbios (THOMÉ et al., 2010), mamíferos (COSTA, 2003; MORAES-BARROS et al., 2006), répteis (PELLEGRINO et al., 2005) e plantas (RIBEIRO et al., 2011). A divergência inicial dos clados de *N. jaraguae* foi estimada em 6,07 Ma (Figura 13), ou seja, é anterior ao período de esfriamento e ressecamento global e os ciclos glaciais-interglaciais que se iniciaram a partir do Plioceno (cerca de 5 Ma), demonstrando a conectividade entre as áreas de distribuição dos dois haplogrupos. Entretanto, a diversificação do haplogrupo 1 ocorreu a partir de 3,37 Ma e do haplogrupo 2 a partir de 2,49 Ma (Figura 13), já no Plioceno, quando ocorria a retração das áreas florestais com isolamento dos fragmentos.

O haplogrupo 3 apareceu distribuído do Rio Grande do Norte à Santa Catarina, de forma contínua, não sendo o fluxo gênico restringido pelas áreas de descontinuidade citadas. Este fato pode estar associado à rota de dispersão sugerida para este haplogrupo, com base na inferência Bayesiana (Figura 14B). Os eventos de dispersão teriam ocorrido do Sudeste, já no Pleistoceno, de forma independente para a região Nordeste (2,97 e 2,18 Ma) e Sul (0,23 Ma). Assim, a colonização destas áreas seria posterior a separação dos fragmentos, e decorrente de ancestrais que já haviam sofrido os efeitos do isolamento geográfico anteriormente.

Dentro dos haplogrupos, pôde-se observar o agrupamento de espécimes provenientes de uma mesma fitofisionomia em clados bem suportados (Figura 14A). Essa diferenciação pode ser explicada pela Hipótese dos Gradientes Ecológicos, a qual assume que, mesmo sem a restrição completa do fluxo gênico, gradientes ambientais possam resultar em diferenciação devido à seleção divergente (ENDLER, 1977; RICE; HOSTERT, 1993; SMITH et al. 1997; ORR; SMITH, 1998).

5.3 Análise filogenética do gênero *Nasutitermes*

A análise filogenética mostrou que o gênero *Nasutitermes* não foi recuperado como monofilético, uma vez que os gêneros *Cortaritermes* e *Sandsitermes* ficaram alocados junto as espécies de *Nasutitermes*. Esta topologia era esperada, com base na história taxonômica do gênero, uma vez que, inicialmente, todas as espécies que possuíam soldados nasutos, o que corresponde ao que é conhecido hoje como a subfamília Nasutitermitinae, foram alocadas em um mesmo gênero (BOULOGNE et al., 2017), de modo que as espécies

atualmente incluídas no gênero *Nasutitermes* não representam um grupo monofilético (INWARD; VOGLER; EGGLETON, 2007).

Os espécimes de *N. macrocephalus* apresentaram maior proximidade com outras espécies que entre si (Figura 16), mostrando a necessidade de um estudo mais detalhado para a espécie, a fim de investigar possíveis eventos de especiação em localidades isoladas. Observou-se que os representantes das espécies determinadas na análise de delimitação de espécies do Grupo *N. jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4) foram recuperados como monofiléticos e formaram um clado bem sustentado, junto às espécies que não haviam sido incluídas neste Grupo, como *Nasutitermes* sp. 19, *Nasutitermes* sp. 22 e *Nasutitermes* sp. 23, bem como espécies do gênero *Cortaritermes* (Figura 17). Dessa forma, podemos concluir que outras espécies ainda não nominadas devam fazer parte do Grupo *N. jaraguae* e destacamos a necessidade de uma revisão dos caracteres morfológicos diagnósticos do gênero *Cortaritermes*, uma vez que estes não vem refletindo as relações filogenéticas entre suas espécies. Além disso, o gênero *Cortaritermes* não se apresentou monofilético (Figura 17) e o posicionamento de *C. intermedius* não foi o mesmo observado por Roy et al. (2014). Este resultado pode estar refletindo diferenças morfológicas marcantes entre as espécies, confirmando a necessidade de revisão dos gêneros (CUEZZO et al., 2015).

O relacionamento entre táxons distribuídos geograficamente distantes associado a recente divergência dos clados de Nasutitermitinae, a partir de 32,02 Ma (Figura 15 a 17), sugere que a origem do gênero *Nasutitermes* é posterior a separação da Gondwana, com episódios de dispersão intercontinentais dentro do gênero, bem como eventos de especiação independentes nas regiões zoogeográficas, como já proposto anteriormente para a família Termitidae (BOURGUIGNON et al., 2015). A hipótese mais recente que explica a dispersão dos cupins entre os continentes sugere que estas tenham sido levadas por espécies que se alimentavam de madeira, extintas atualmente, ou por meio de ninhos arborícolas ligados à troncos flutuantes (BOURGUIGNON et al., 2017).

A análise Bayesiana mostrou que os clados mais basais foram formados essencialmente por espécies das Regiões Neotropical, Indo-Malásia e Afrotropical. Embora o ramo mais basal seja formado por espécies da Região Neotropical, estas se associaram à um gênero distinto, *Sandsitermes* (Figura 15A). Além disso, estudos realizados no MZUSP vêm indicando que a espécie *N. gagei*, a qual aparece como táxon irmão de *Sandsitermes*, possivelmente seja transferida de gênero (E. Canello, com. pessoal). Dessa forma, este ramo

basal formado por espécies neotropicais pode não representar o gênero *Nasutitermes* e, conseqüentemente, não indicaria uma origem neotropical para ele.

No segundo ramo mais basal, as espécies *N. johoricus*, *N. longinaus*, *N. longirostris*, *N. neoparvus*, *N. perparvus*, *N. regularis*, *Nasutitermes* sp. 27, *Nasutitermes* sp. 28, *Nasutitermes* sp. 30, *Nasutitermes* sp. 34 e *Nasutitermes* sp. 46, que ocorrem na Região Indo-Malásia, apareceram relacionadas com as espécies *N. kinoshitai*, *N. parvonasutus* e *Nasutitermes* sp. 48 da Região Paleártica (Figura 15B), reunindo em um mesmo clado espécies que constroem ninhos em madeira, no solo ou arborícolas. Já as espécies *N. lacustres*, *N. ceylonicus*, *N. anamaliensis*, *N. indicola*, *Nasutitermes* sp. 29 e *Nasutitermes* sp. 31 da Região Indo-Malásia, construtoras de ninhos arborícolas ou subterrâneos, aparecem em um clado irmão com espécies da Região Afrotropical e de Madagascar. Assim, nossos dados não nos permitem afirmar se a origem do gênero *Nasutitermes* é na Região Afrotropical ou Indo-Malásia. Entretanto, este padrão coincide com os eventos de dispersão já observados para o gênero, da Região Afrotropical para a Indo-Malásia há cerca de 23 Ma e 19 Ma, respectivamente (BOURGUIGNON et al., 2017). Além disso, o posicionamento das espécies africanas como um dos ramos mais basais da árvore, associado ao fato de que as relações filogenéticas observadas não sugerem eventos de dispersão para a África (exceto pela presença de *N. infuscatus* em meio a um clado contendo espécies da Região de Madagascar, sugerindo um evento de dispersão de volta à Região Afrotropical há 16 Ma), seria um indício da origem africana do gênero *Nasutitermes* (BOURGUIGNON et al., 2017).

As espécies do complexo *N. matangensis*, *N. takasagoensis* e *Nasutitermes* sp. 43 da Região Indo-Malásia, construtoras de ninhos arborícolas, apareceram como grupo irmão de espécies neotropicais que divergiram a cerca de 7,38 Ma (Figura 17), confirmando uma rota de dispersão já conhecida, da América para a Ásia (BOURGUIGNON et al., 2017). O posicionamento de *N. matangensis* e *N. takasagoensis* em um clado distinto das demais espécies da Região Indo-Malásia é condizente com características biológicas e de comportamento (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000). O relacionamento entre alguns táxons já havia sido observado na literatura, contudo, este trabalho reuniu um maior número de espécies oriundas da Região Indo-Malásia, sendo possível observar as relações filogenéticas entre espécies que ainda não haviam sido analisadas simultaneamente pelos estudos de filogenia molecular realizados até o momento (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000; OHKUMA et al., 2004; INWARD; VOGLER; EGGLETON, 2007; BOURGUIGNON et al., 2017).

Nossos resultados indicam que a colonização de Madagascar pelo gênero *Nasutitermes* ocorreu da Região Afrotropical em um evento há cerca de 18,95 Ma (Figura 15D), reunindo em um mesmo clado as espécies *Nasutitermes* sp. 41, *Nasutitermes* sp. 42, *Nasutitermes* sp. 50, *Nasutitermes* sp. 51 e *Nasutitermes* sp. 52 juntamente à espécie *N. infuscatus* da Região Afrotropical. Esta rota de dispersão já foi observada para Macrotermitinae, em estudos realizados com fungos simbioss (NOBRE; EGGLETON; AANEN, 2010), podendo ser explicada pela hipótese de troncos flutuantes, pois *N. infuscatus* e as espécies que formam o clado irmão constroem ninhos arborícolas ou em madeira, de modo que possivelmente o ancestral comum desde clado também seria um construtor de ninhos arborícolas. Outros dois eventos de dispersão independentes teriam ocorrido da Região Indo-Malásia para Madagascar (Figura 1D) e Ilhas Maurício (Figura 17) há cerca de 13,42 Ma e 0,99 Ma, respectivamente. A espécie *Nasutitermes* sp. 49 estaria associada a uma rota de dispersão já observada para espécies da subfamília Termitinae (BOURGUIGNON et al., 2017), porém ainda não descrita para *Nasutitermes*. Por outro lado, a colonização das Ilhas Maurício por *N. mauritanus*, que se encontra em um clado formado por espécies que constroem ninhos arborícolas, teria ocorrido após um evento de dispersão de espécies da Região Indo-Malásia cujos ancestrais estariam na Região Neotropical, evento inédito até o momento.

As espécies que ocorrem na Região Wallaceana também são encontradas em outras regiões (Figuras 16A e 17). *N. matangensis* e *N. matangensis matangensis* ocorrem em Java, Kalimantan, Krakatau e Sumatra na porção Indo-Malásia da Indonésia e nas Ilhas Lombok e Sulawesi na porção Wallaceana da Indonésia, separadas pelo Estreito de Makassar. A data de formação do Estreito é controversa, variando do Cretáceo Inferior ao Quaternário (GUNTORO, 1999), mas muito provavelmente a distribuição do complexo *N. matangensis*, há cerca de 1,44 Ma, se deve à um evento de dispersão posterior a separação destas porções. Já a espécie *N. princeps*, construtora de ninhos arborícolas, ocorre tanto na Região Wallaceana como nas Regiões Australiana e da Nova Guiné, separadas pelo Mar de Banda, formado durante o Eoceno (PIGRAM; PANGGABEAN, 1983), mostrando que o isolamento dos continentes não representou uma barreira para a dispersão da espécie há 13,13 Ma, que colonizou estas áreas posteriormente a formação destas regiões.

As espécies de *Nasutitermes* que ocorrem na Região Paleártica, construtoras de ninhos arborícolas e de solo, se restringem à sub-região Sino-Himalaia e ocorrem também juntamente à Região Indo-Malásia (Figuras 15B e 17A), indicando uma rota da Região Indo-Malásia para a Região Paleártica em quatro eventos de dispersão distintos entre 17,84 e 2,35

Ma. Estes eventos não haviam sido descritos até o momento, uma vez que trabalhos anteriores consideraram essas duas regiões conjuntamente como Região da Ásia (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000; BOURGUIGNON et al., 2017).

As espécies provenientes da Região da Nova Guiné aparecem relacionadas às espécies das Regiões Indo-Malásia e da Austrália, ou restritas à Região da Nova Guiné. A espécie *N. novarumhebridarum*, que ocorre exclusivamente na Nova Guiné, constrói ninhos arborícolas e apareceu como espécie irmã de *N. mauritanus* de Madagascar, em um clado interno às espécies da Região Indo-Malásia, interno ao clado de espécies neotropicais (Figura 17). Este padrão sugere uma rota de dispersão da região Neotropical para a Região Indo-Malásia e posteriormente para a Região da Nova Guiné e de Madagascar, como já discutido anteriormente para a espécie *N. mauritanus*. Por outro lado, as espécies *N. bikipelanus* e *N. pinocchio*, construtoras de ninhos arborícolas, apareceram mais próximas de espécies neotropicais (Figura 15), indicando um novo evento de dispersão direto da América do Sul para Nova Guiné há 13,53 Ma. As espécies *N. triodie*, *N. graveolus* e *N. torresi* ocorrem também na Região Australiana e constroem, respectivamente, ninhos epígeos, arborícolas e epígeos. Estas duas regiões estão separadas desde o Paleozóico Superior-Mesozóico (PIGRAM; PANGGABEAN, 1984), de modo que a formação do Mar de Arafura não impediu a dispersão de espécies da Austrália para Nova Guiné, há cerca de 9,86 Ma. Uma topologia similar já foi observada para as espécies que ocorrem na Região da Nova-Guiné, sendo sugerida que este posicionamento reflita características, morfológicas, biológicas e de comportamento (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000).

As espécies australianas apareceram em sua maioria em um clado alocado em posição intermediária na árvore, juntamente a espécies da Região Neotropical (Figura 15). Este clado reuniu espécies construtoras de ninhos epígeos, subterrâneos e arborícolas, entretanto, já foi sugerido que seu ancestral comum poderia construir ninhos arborícolas (ARAB et al., 2017). Já as espécies *N. dixonii*, *Nasutitermes* sp. 35 e *N. eucalypti*, construtoras de ninhos subterrâneos, ficaram alocadas em clados basais, juntamente à espécie neotropical *Nasutitermes* sp. 40 como um clado irmão de espécies da Região Indo-Malásia (Figura 15). Este padrão corrobora os eventos de dispersão já propostos, da América do Sul para a Austrália, entre 15 Ma e 11 Ma e da Ásia para a Austrália há 20 Ma (BOURGUIGNON et al., 2017). Embora o posicionamento de *N. fumigatus* e *N. pluvialis* em um clado irmão de *N. lujae*, que ocorre na Região Afrotropical, sugira um novo evento de dispersão da África para a Austrália há 3,5 Ma, este clado não apresentou suporte estatístico. Além disso, estas espécies são reconhecidas como pertencentes a mesma linhagem australianas que divergiu da asiática há

cerca de 20 Ma (ARAB et al., 2017) e são construtoras de ninhos subterrâneos, o que seria um fator que poderia dificultar eventos de dispersão.

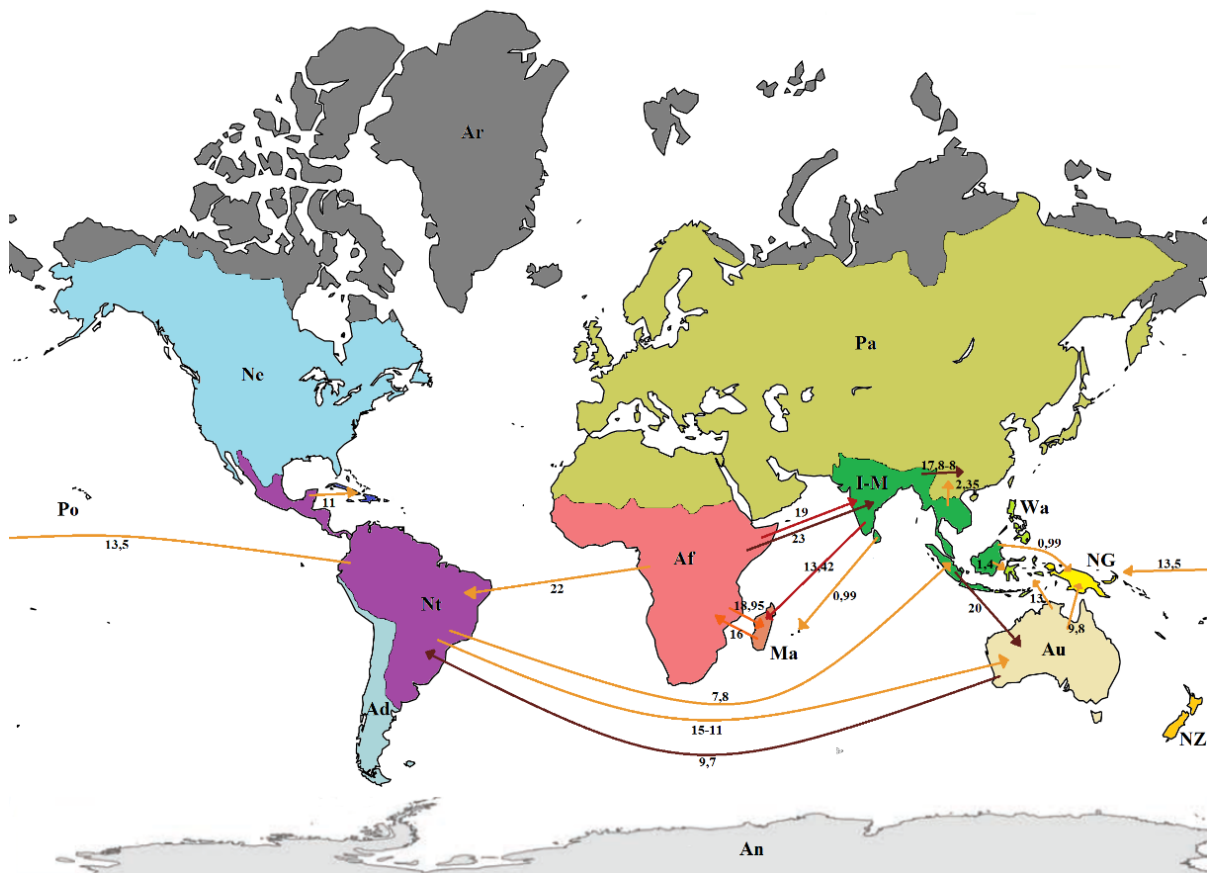
As espécies da Região Neotropical apareceram em sua maioria no clado mais interno da árvore e algumas em clados alocados em posição intermediária (Figuras 16 e 17), reunindo diversas espécies construtoras de ninhos arborícolas, já tendo sido sugerido que seu ancestral comum também construísse ninhos desse tipo (ARAB et al., 2017). De acordo com as análises realizadas, a data de diversificação do clado que reúne as espécies neotropicais, há cerca de 22 Ma, coincide com o único evento de dispersão da África para a América do Sul proposto até o momento (BOURGUIGNON et al., 2017), seguido por eventos de especiação independentes dentro do continente. Entretanto, a espécie *Nasutitermes* sp. 40 aparece no mesmo clado que as espécies construtoras de ninho de solo *N. dixonii*, *N. eucalypti* e *Nasutitermes* sp. 35 da Região Australiana (Figura 15B). Assim, podemos inferir que um novo evento de dispersão, da Austrália para a América do Sul ocorreu há cerca de 9,7 Ma. Algumas relações filogenéticas aqui apresentadas já haviam sido observadas anteriormente (MIURA; ROISIN; MATSUMOTO, 2000; ROY et al., 2014), entretanto este trabalho reuniu um maior número de espécies neotropicais, as quais ainda não haviam sido estudadas conjuntamente, permitindo o melhor entendimento das relações entre as espécies de *Nasutitermes* que ocorrem na Região Neotropical.

As espécies *N. acajutlae*, *N. corniger*, *N. ephratae*, *N. guayanae* e *N. nigriceps* ocorrem na Região do Caribe e estão distribuídas também na Região Neotropical, enquanto *N. rippertii* e *Nasutitermes* sp. 45 ocorrem exclusivamente na Região do Caribe e apareceram em um clado irmão de espécies da Região Neotropical, construtoras de ninhos arborícolas e subterrâneos (Figuras 16 e 17). Com base na grande diversidade de fósseis em âmbar Dominicano (KRISHNA; GRIMALDI, 2009), acredita-se que as espécies que ocorrem no Caribe sejam oriundas da América do Sul e sofreram uma rápida diversificação e ocupação de nichos nas ilhas Caribenhas (BOURGUIGNON et al., 2017). Entretanto, um estudo filogeográfico de *N. corniger*, única espécie de *Nasutitermes* com ocorrências nas Regiões Neotropical, do Caribe e Neártica apontam que a rota de dispersão da espécie ocorreu da América Central para a América do Sul (SANTOS et al., 2017).

Dessa forma, com base nos resultados aqui obtidos e as informações já descritas na literatura, podemos sugerir que o padrão de distribuição do gênero *Nasutitermes* está associado a quatro possíveis rotas de dispersão (Figura 18), sendo (i) Região Afrotropical para a Região Indo-Malásia e desta para as Regiões Paleártica e da Austrália e, posteriormente da Austrália para a Região Neotropical; (ii) Região Afrotropical para a Região Neotropical, de

onde ocorreram eventos de dispersão diretamente para as Regiões do Caribe, Nova Guiné e Australiana, com posterior dispersão para a Região da Nova Guiné e Wallaceana. Ainda da Região Neotropical teria ocorrido um evento de dispersão para a Região Indo-Malásia e desta para as Regiões Paleártica, Nova Guiné, Madagascar e Wallaceana, a qual pode ser explicada pela dispersão de troncos no oceano que continham ninhos arborícolas devido ao hábito construtor das espécies que formam seus clados; (iii) Região Afrotropical para a Região Indo-Malásia e desta para a Região de Madagascar, também por meio de troncos flutuantes (iv) Região Afrotropical para Madagascar e de Madagascar de volta para África.

Figura 18. Rotas de dispersão entre as regiões zoogeográficas inferidas com base na análise filogenética por inferência Bayesiana.



An: Antártica, Ar: Ártico, Af: Região Afrotropical, Au: Região Australiana, Ca: Região do Caribe, I-M: Região Indo-Malásia; Ma: Região de Madagascar, Ne: Região Neártica, Nt: Região Neotropical, NG: Região da Nova Guiné, Pa: Região Paleártica, Wa: Região Wallaceana.

Assim, os resultados apresentados mostraram que a inclusão de novas espécies de *Nasutitermes* em uma análise filogenética baseada em dados moleculares, não só corroboraram estudos anteriores, mas permitiram entender melhor o gênero *Nasutitermes*, a partir da inferência de novas rotas de dispersão, as quais ainda não haviam sido verificadas.

6 CONCLUSÕES

A partir das análises de delimitação de espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae*, podemos concluir que:

- as espécies *N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4, determinadas com base em caracteres morfológicos, não corresponderam à unidades evolutivas distintas;
- a hipótese de que redes de haplótipos desconectadas representam unidades evolutivas distintas não foi suportada pela análise filogenética, podendo representar um artifício da análise em decorrência do número de espécimes amostrados para cada espécie;
- a hipótese de delimitação de espécies que apresentou a maior sustentação e consequentemente, a que melhor evidenciou as unidades evolutivas, foi a que considerou a distância genética entre os haplótipos associada à probabilidade de conexão entre estes e suas relações filogenéticas;
- entre as espécies do Grupo *Nasutitermes jaraguae* analisadas foram determinadas sete unidades evolutivas distintas, as quais podem ser consideradas como espécies diferentes com base nos conceitos filogenético e evolutivo de espécies;
- a utilização conjunta de aspectos morfológicos e genéticos podem trazer maior confiabilidade para a resolução de questões fundamentais dentro da biologia, como o da conceituação e delimitação de espécies, verificando se espécies determinadas por morfologia são realmente entidades independentes ou não, resgatando assim seu processo evolutivo.

Com as análises filogeográficas de *Nasutitermes jaraguae* foi possível concluir que:

- as populações analisadas apresentaram grande diversidade haplotípica e se encontraram fortemente estruturadas, sendo observado três grupos de haplótipos, os quais estão geograficamente agrupados;
- o padrão de distribuição de dois haplogrupos (um distribuído de São Paulo ao Rio Grande do Sul e outro restrito aos estados de Minas Gerais e Espírito Santo) coincidiu com o já observado para diferentes grupos biológicos e pode ser explicado com base na hipótese de refúgios florestais do Plioceno-Pleistoceno;
- outro haplogrupo (distribuído do Rio Grande do Norte à Santa Catarina) não teve o fluxo gênico restringido pelas áreas de descontinuidade, uma vez que a colonização

destas áreas seria posterior a separação dos fragmentos, e decorrente de ancestrais que já haviam sofrido os efeitos do isolamento geográfico anteriormente;

- o padrão de distribuição dentro dos grupos de haplótipos pôde ser explicado por diferenciações geradas por seleção divergente entre gradientes ambientais, como diferentes fitofisionomias.

A análise filogenética das espécies do gênero *Nasutitermes* nos permitiu concluir que:

- a origem do gênero foi posterior a separação da Gondwana;
- o padrão de distribuição das espécies de *Nasutitermes* pode ser explicado por episódios de dispersão intercontinentais entre 23 Ma e 0,99 Ma, bem como eventos de especiação independentes nas regiões zoogeográficas;
- o gênero *Nasutitermes* não foi recuperado como monofilético, muito provavelmente devido a sua história taxonômica, em que inicialmente todas as espécies que possuíam soldados nasutos foram alocadas em um mesmo gênero, destacando assim a necessidade de revisão deste gênero.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, E. S.; ATKINSON, L.; BULMER, M. S. Relatedness, recognition errors, and colony fusion in the termite *Nasutitermes corniger*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 61, n. 8, p. 1195-1201, 2007.
- ALLENDORF, F. W.; LUIKART, G.; AITKEN, S. N. **Conservation and the genetics of populations**. 2nd ed. ed. Oxford: Blackwell Publishing, 2012.
- AMORIM, D.; SANTOS, C. M. Flies, endemism, and the Atlantic Forest: a biogeographical study using topographic units of analysis. **Australian Systematic Botany**, v. 30, n. 5-6, p. 439-469, 2017.
- ARAB, D. A.; NAMYATOVA, A.; EVANS, T. A.; CAMERON, S. L.; YEATES, D. K.; HO, S. Y. W.; LO, N. Parallel evolution of mound-building and grass-feeding in Australian nasute termites. **Biology Letters**, v. 13, n. 2, p. 1-5, 2017.
- ARAÚJO, V.; SILVA, M. P.; VASCONCELLOS, A. Soil-sampled termites in two contrasting ecosystems within the Semiarid Domain in Northeastern Brazil: abundance, biomass, and seasonal influences. **Sociobiology**, v. 62, n. 1, p. 70-75, 2015.
- ATKINSON, L.; ADAMS, E. S. The origins and relatedness of multiple reproductives in colonies of the termite *Nasutitermes corniger*. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v. 264, n. 1385, p. 1131-1136, 1997.
- AUSTIN, J. W.; SZALANSKI, A. L.; MCKERN, J. A.; GOLD, R. E. Molecular phylogeography of the subterranean termite *Reticulitermes tibialis* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal of Agricultural and Urban Entomology**, v. 25, n. 2, p. 63-79, 2008.
- AVISE, J. C. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. **Oikos**, v. 63, n. 1, p. 62-76, 1992.
- AVISE, J. C. **Phylogeography: the history and formation of species**. Cambridge: Harvard University Press, 2000. 447 pp.
- AVISE, J. C.; ARNOLD, J.; BALL, R. M.; BERMINGHAM, E.; LAMB, T.; NEIGEL, J. E.; REEB, C. A.; SAUNDERS, N. C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 18, n. 1, p. 489-522, 1987.
- BANDEIRA, A. G.; VASCONCELLOS, A. Efeitos de perturbações antrópicas sobre as populações de cupins (Isoptera) do Brejo dos Cavalos, Pernambuco. In: PORTO, K. C.; CABRAL, J. J. P.; TABARELLI, M. (Orgs.). **Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação**. Série Biodiversidade 9. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, 2004. cap. 11, p. 145-151.
- BANDEIRA, A. G.; VASCONCELLOS, A.; SILVA, MOABE, P.; CONSTANTINO, R. Effects of habitat disturbance on the termite fauna in a highland humid forest in the Caatinga Domain, Brazil. **Sociobiology**, v. 42, n. 1, p. 1-11, 2003.

BATALHA-FILHO, H.; MIYAKI, C. Y. Filogeografia da Mata Atlântica. **Revista da Biologia**, v. Especial Biogeografia, p. 31-34, 2011.

BATALHA-FILHO, H.; WALDSCHMIDT, A. M.; CAMPOS, L. A. O.; TAVARES, M. G.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Phylogeography and historical demography of the neotropical stingless bee *Melipona quadrifasciata* (Hymenoptera, Apidae): incongruence between morphology and mitochondrial DNA. **Apidologie**, v. 41, n. 5, p. 534-547, 2010.

BERGAMASCHI, S.; DAWES-GROMADZKI, T. Z.; LUCHETTI, A.; MARINI, M.; MANTOVANI, B. Molecular taxonomy and phylogenetic relationships among Australian *Nasutitermes* and *Tumulitermes* genera (Isoptera, Nasutitermitinae) inferred from mitochondrial COII and 16S sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 45, n. 3, p. 813-821, 2007.

BIGNELL, D. E. Termites as soil engineers and soil processors. In: KÖNIG, H.; VARMA, A. (Ed.). **Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates**. Berlin/Heidelberg: Springer, 2006. p. 183-220.

BLACK, H. I. J.; OKWAKOL, M. J. N. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of termites. **Applied Soil Ecology**, v. 6, n. 1, p. 37-53, 1997.

BOOTH, W.; BRENT, C. S.; CALLERI, D. V.; ROSENGAUS, R. B.; TRANIELLO, J. F. A.; VARGO, E. L. Population genetic structure and colony breeding system in dampwood termites (*Zootermopsis angusticollis* and *Z. nevadensis nuttingi*). **Insectes Sociaux**, v. 59, n. 1, p. 127-137, 2012.

BOULOGNE, I.; CONSTANTINO, R.; AMUSANT, N.; FALKOWSKI, M.; RODRIGUES, A. M. S.; HOUËL, E. Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. **Journal of Pest Science**, v. 90, n. 1, p. 19-37, 2017.

BOURGUIGNON, T.; LO, N.; CAMERON, S. L.; SOBOTNIK, J.; HAYASHI, Y.; SHIGENOBU, S.; WATANABE, D.; ROISIN, Y.; MIURA, T.; EVANS, T. A. The evolutionary history of termites as inferred from 66 mitochondrial genomes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 2, p. 406-421, 2015.

BOURGUIGNON, T.; LO, N.; ŠOBOTNÍK, J.; HO, S. Y. W.; IQBAL, N.; COISSAC, E.; LEE, M.; JENDRYKA, M. M.; SILLAM-DUSSES, D.; KŘÍŽKOVÁ, B.; ROISIN, Y.; EVANS, T. A. Mitochondrial phylogenomics resolves the global spread of higher termites, ecosystem engineers of the tropics. **Molecular biology and evolution**, v. 34, n. 3, p. 589-597, 2017.

BROOKS, T. M.; MITTERMEIER, R. A.; FONSECA, G. A. B. da; GERLACH, J.; HOFFMANN, M.; LAMOREUX, J. F.; MITTERMEIER, C. G.; PILGRIM, J. D.; RODRIGUES, A. S. L. Global biodiversity conservation priorities. **Science**, v. 313, n. 5783, p. 58-62, 2006.

- BRUFORD, M. W.; HANOTTE, O.; BROOKFIELD, J. F. Y.; BURKE, T. Single-locus and multilocus DNA fingerprinting. In: HOELZEL, A. R. (Ed.). **Molecular genetics analyses of populations: a practical approach**. Oxford: IRL Press, 1992. p. 225-269.
- CABANNE, G. S.; D'HORTA, F. M.; SARI, E. H. R.; SANTOS, F. R.; MIYAKI, C. Y. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematics implications. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, n. 3, p. 760-773, 2008.
- CABANNE, G. S.; SANTOS, F. R.; MIYAKI, C. Y. Phylogeography of *Xiphorhynchus fuscus* (Passeriformes, Dendrocolaptidae): vicariance and recent demographic expansion in southern Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 91, n. 1, p. 73-84, 2007.
- CANCELLO, E. M.; SILVA, R. R.; VASCONCELLOS, A.; REIS, Y. T.; OLIVEIRA, L. M. Latitudinal variation in termite species richness and abundance along the Brazilian Atlantic forest hotspot. **Biotropica**, v. 46, n. 4, p. 441-450, 2014.
- CAPOBIANCO, J. P. R. (Org.). **Dossiê Mata Atlântica 2001**. São Paulo: Iphis Gráfica e Editora, 2001. 409 p.
- CARDOSO, D. C.; CRISTIANO, M. P.; TAVARES, M. G.; SCHUBART, C. D.; HEINZE, J. Phylogeography of the sand dune ant *Mycetophylax simplex* along the Brazilian Atlantic Forest coast: remarkably low mtDNA diversity and shallow population structure. **BMC Evolutionary Biology**, v. 15, n. 106, p. 1-13, 2015.
- CARNAVAL, A. C.; HICKERSON, M. J.; HADDAD, C. F. B.; RODRIGUES, M. T.; MORITZ, C. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic Forest Hotspot. **Science**, v. 323, n. 5915, p. 785-789, 2009.
- CLEMENT, M.; POSADA, D.; CRANDALL, K. A. TCS: A computer program to estimate gene genealogies. **Molecular Ecology**, v. 9, n. 10, p. 1657-1659, 2000.
- COCKERHAM, C. C. Variance of gene frequencies. **Evolution**, v. 23, n. 1, p. 72, 1969.
- COCKERHAM, C. C. Analyses of gene frequencies. **Genetics**, v. 74, n. 4, p. 679-700, 1973.
- CONSTANTINO, R. The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. **Journal of Applied Entomology**, v. 126, n. 7-8, p. 355-365, 2002.
- CONSTANTINO, R. **On-line termite database**. 2018. Disponível em: <<http://164.41.140.9/catal/>>. Acesso em: 2 jan. 2018.
- CONSTANTINO, R.; ACIOLI, A. N. S. Termite diversity in Brazil (Insecta: Isoptera). In: MOREIRA, F. M. S.; SIQUEIRA, J. O.; BRUSSAARD, L. (Ed.). **Soil biodiversity in Amazonian and other Brazilian ecosystems**. Trowbridge: CABI Publishing, 2006. cap. 5, p. 117-128.

COPREN, K. A. Characterization of microsatellite loci in the western subterranean termite, *Reticulitermes hesperus*, and cross-amplification in closely related cryptic species. **Journal of insect science (Online)**, v. 7, n. 17, p. 1-5, 2007.

COSTA, L. P. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. **Journal of Biogeography**, v. 30, n. 1, p. 71-86, 2003.

CRACRAFT, J. Species concepts and speciation analysis. In: JOHNSTON, R. F. (Ed.). **Current ornithology**. vol. 1. Boston: Springer, 1983. cap. 6, p. 159-187.

CUEZZO, C.; CANCELLO, E. M.; CARRIJO, T. F. *Sandsitermes* gen. nov., a new nasute termite genus from South America (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Zootaxa**, v. 4221, n. 5, p. 562-574, 2017.

CUEZZO, C.; CARRIJO, T. F.; CANCELLO, E. M. Transfer of two species from *Nasutitermes* Dudley to *Cortaritermes* Mathews (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae). **Austral Entomology**, v. 54, n. 2, p. 172-179, 2015.

CUNHA, H. A.; SOLÉ-CAVA, A. M. Análise filogeográfica. In: MATIOLI, S. R.; FERNANDES, F. M. C. (Ed.). **Biologia molecular e evolução**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 2012. cap. 21, p. 197-213.

DASILVA, M. B.; PINTO-DA-ROCHA, R.; SOUZA, A. M. A história biogeográfica da Mata Atlântica: opiliões (Arachnida) como modelo para sua inferência. In: CARVALHO, C. J. B.; ALMEIDA, E. A. B. (Ed.). **Biogeografia da América do Sul - análise de tempo, espaço e forma**. 2. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. cap. 16, p. 221-238.

DAVIES, R. G.; EGGLETON, P.; JONES, D. T.; GATHORNE-HARDY, F. J.; HERNA, L. M. Evolution of termite functional diversity: analysis and synthesis of local ecological and regional influences on local species richness. **Journal of Biogeography**, v. 30, n. 6, p. 847-877, 2003.

DE QUEIROZ, K. Species concepts and species delimitation. **Systematic Biology**, v. 56, n. 6, p. 879-886, 2007.

DEDEINE, F.; DUPONT, S.; GUYOT, S.; MATSUURA, K.; WANG, C.; HABIBPOUR, B.; BAGNÈRES, A.-G.; MANTOVANI, B.; LUCHETTI, A. Historical biogeography of *Reticulitermes* termites (Isoptera: Rhinotermitidae) inferred from analyses of mitochondrial and nuclear loci. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 94, n. Part B, p. 778-790, 2016.

DIEHL, E.; DIEHL-FLEIG, E.; DE ALBUQUERQUE, E. Z.; JUNQUEIRA, L. K. Richness of termites and ants in the state of Rio Grande do Sul, Southern Brazil. **Sociobiology**, v. 61, n. 2, p. 145-154, 2014.

DIEHL, E.; DIEHL-FLEIG, E.; JUNQUEIRA, L. K. Absence of relationship among termite (Insecta: Isoptera) richness, functional groups and environmental variables in Southern Brazil. **EntomoBrasilis**, v. 8, n. 3, p. 168-173, 2015.

DIXON, R. K.; SOLOMON, A. M.; BROWN, S.; HOUGHTON, R. A.; TREXIER, M. C.; WISNIEWSKI, J. Carbon Pools and Flux of Global Forest Ecosystems. **Science**, v. 263, n. 5144, p. 185-190, 1994.

DONOGHUE, M. J. A critique of the biological species concept and recommendations for a phylogenetic alternative. **Bryologist**, v. 88, n. 3, p. 172-181, 1985.

DONOVAN, S. E.; EGGLETON, P.; BIGNELL, D. E. Gut content analysis and a new feeding group classification of termites. **Ecological Entomology**, v. 26, n. 4, p. 356-366, 2001.

DRUMMOND, A. J.; SUCHARD, M. A.; XIE, D.; RAMBAUT, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, n. 8, p. 1969-1973, 2012.

EDGAR, R. C. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, n. 5, p. 1792-1797, 2004.

EGGLETON, P. An introduction to termites: biology, taxonomy and functional morphology. In: BIGNELL, D. E.; ROISIN, Y.; LO, N. (Ed.). **Biology of termites: a modern synthesis**. Dordrecht: Springer, 2011. cap. 1, p. 1-26.

EGGLETON, P.; TAYASU, I. Feeding groups, lifestypes and the global ecology of termites. **Ecological Research**, v. 16, n. 5, p. 941-960, 2001.

ENDLER, J. A. **Geographic variation, speciation, and clines**. Princeton: Princeton University Press, 1977. 246 pp.

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

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

ERNESTO, M. V.; RAMOS, E. F.; MOURA, F. M. da S.; VASCONCELLOS, A. High termite richness in an urban fragment of Atlantic Forest in northeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 14, n. 3, p. 1-6, 2014.

EXCOFFIER, L.; LISCHER, H. E. L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**, v. 10, n. 3, p. 564-567, 2010.

FITCH, W. M. On the problem of discovering the most parsimonious tree. **The American Naturalist**, v. 111, n. 978, p. 223-257, 1977.

FITZPATRICK, S. W.; BRASILEIRO, C. A.; HADDAD, C. F. B.; ZAMUDIO, K. R. Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. **Molecular Ecology**, v. 18, n. 13, p. 2877-2896, 2009.

FLORENCIO, D. F.; DIEHL, E. Termitofauna (Insecta, Isoptera) em remanescentes de Floresta Estacional Semidecidual em São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 50, n. 4, p. 505-511, 2006.

FONTES, L. R.; MILANO, S. Termites as an urban problem in South America. **Sociobiology**, v. 40, n. 1, p. 103-151, 2002.

FOURNIER, D.; HELLEMANS, S.; HANUS, R.; ROISIN, Y. Facultative asexual reproduction and genetic diversity of populations in the humivorous termite *Cavitermes tuberosus*. **Proceedings of the Royal Society**, v. 283, n. 1832, p. 1-8, 2016.

FU, Y. X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. **Genetics**, v. 147, n. 2, p. 915-925, 1997.

FU, Y. X.; LI, W. H. Statistical tests of neutrality of mutations. **Genetics**, v. 133, n. 3, p. 693-709, 1993.

FUTUYMA, D. J. The origin of genetic variation. In: _____ (Ed.). **Evolution**. Sunderland: Sinauer Associates, 2005. p. 161-188.

GALBIATI, C.; DESOUZA, O.; SCHOEREDER, J. H. Diversity patterns in termite communities: Species-area relationship, alpha and beta diversity (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**, v. 45, n. 3, p. 925-936, 2005.

GALINDO LEAL, C.; CÂMARA, I. G. Atlantic forest hotspots status: an overview. In: _____ (Ed.). **The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook**. Washington: Island Press, 2003. p. 3-11.

GARCÍA, J.; MAEKAWA, K.; MIURA, T.; MATSUMOTO, T. Genetic distance between *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae) populations in Taiwan and the Yaeyama Islands, analyzed by amplified fragment length. **Entomological Science**, v. 7, n. 3, p. 245-249, 2004.

GARCÍA, J.; MAEKAWA, K.; MIURA, T.; MATSUMOTO, T. Population structure and genetic diversity in insular populations of *Nasutitermes takasagoensis* (Isoptera: Termitidae) analyzed by AFLP markers. **Zoological science**, v. 19, n. 10, p. 1141-1146, 2002.

GERNHARD, T. The conditioned reconstructed process. **Journal of Theoretical Biology**, v. 253, n. 4, p. 769-778, 2008.

GOODISMAN, M. A. D.; CROZIER, R. H. Population and colony genetic structure of the primitive termite *Mastotermes darwiniensis*. **Evolution**, v. 56, n. 1, p. 70-83, 2002.

GRAZZIOTIN, F. G.; MONZEL, M.; ECHEVERRIGARAY, S.; BONATTO, S. L. Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Ecology**, v. 15, n. 13, p. 3969-3982, 2006.

GUNTORO, A. The formation of the Makassar Strait and the separation between SE Kalimantan and SW Sulawesi. **Journal of Asian Earth Sciences**, v. 17, n. 1-2, p. 79-98, 1999.

HAFFER, J. Speciation in Amazonian Forest Birds. **Science**, v. 165, n. 3889, p. 131-137, 1969.

HAFFER, J. Time's cycle and time's arrow in the history of Amazonia. **Biogeographica**, v. 69, p. 15-45.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HARTL, D. L.; CLARK, A. G. **Princípios De Genética De Populações**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010. 660 p.

HAUSBERGER, B.; KIMPEL, D.; VAN NEER, A.; KORB, J. Uncovering cryptic species diversity of a termite community in a West African savanna. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 61, n. 3, p. 964-969, 2011.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings. Biological sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313-21, 2003.

HEBERT, P. D. N.; RATNASINGHAM, S.; WAARD, J. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. **Proceedings. Biological sciences**, v. 270, suplemento 1, p. S96-S99, 2003.

HENDY, M. D.; PENNY, D. A framework for the quantitative study of evolutionary trees. **Systematic Zoology**, v. 38, n. 4, p. 297-309, 1989.

HENNIG, W. **Phylogenetic systematics**. Urbana: University of Illinois Press, 1966. 280 pp.

HIGASHI, M.; ABE, T. Global diversification of termites driven by the evolution of symbiosis and sociality. In: **Biodiversity - an ecological perspective**. New York: Springer New York, 1997. p. 83-112.

HOLDER, M.; LEWIS, P. O. Phylogeny estimation: traditional and Bayesian approaches. **Nature Reviews Genetics**, v. 4, n. 4, p. 275-284, 2003.

HOY, M. A. Insect population ecology and molecular genetics. In: _____. **Insect molecular genetics**. San Diego: Academic Press, 2013. cap. 13, p. 591-659.

HUANG, Q.; LI, G.; HUSSENER, C.; LEI, C. Genetic analysis of population structure and reproductive mode of the Termite *Reticulitermes chinensis* Snyder. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, p. 1-12, 2013.

HUELSENBECK, J. P. Performance of phylogenetic methods in simulation. **Systematic Biology**, v. 44, n. 1, p. 17-48, 1995.

HUSSENER, C.; BRANDL, R.; EPPLER, C.; EPPLER, J. T.; KAIB, M. Variation between and within colonies in the termite: morphology, genomic DNA, and behaviour. **Molecular Ecology**, v. 7, n. 8, p. 983-990, 1998.

HUSSENER, C.; MESSENGER, M. T.; SU, N.-Y.; GRACE, J. K.; VARGO, E. L. Colony social organization and population genetic structure of an introduced population of Formosan subterranean termite from New Orleans, Louisiana. **Journal of economic entomology**, v. 98, n. 5, p. 1421-1434, 2005.

INWARD, D. J. G.; BECCALONI, G.; EGGLETON, P. Death of an order: a comprehensive molecular phylogenetic study confirms that termites are eusocial cockroaches. **Biology Letters**, v. 3, n. 3, p. 331-335, 2007.

INWARD, D. J. G.; VOGLER, A. P.; EGGLETON, P. A comprehensive phylogenetic analysis of termites (Isoptera) illuminates key aspects of their evolutionary biology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 44, n. 3, p. 953-967, 2007.

JENKINS, T. M.; DEAN, R. E.; VERKERK, R.; FORSCHLER, B. T. Phylogenetic analyses of two mitochondrial genes and one nuclear intron region illuminate European subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae) gene flow, taxonomy, and introduction dynamics. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 20, n. 2, p. 286-293, 2001.

JENKINS, T. M.; JONES, S. C.; LEE, C. Y.; FORSCHLER, B. T.; CHEN, Z.; LOPEZ-MARTINEZ, 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, n. 3, p. 612-621, 2007.

JONES, D. T.; EGGLETON, P. Global biogeography of termites: a compilation of sources. In: BIGNELL, D. E.; ROISIN, Y.; LO, N. (Ed.). **Biology of termites: a modern synthesis**. Dordrecht: Springer, 2011. cap. 17, p. 477-498.

JOUQUET, P.; TRAORÉ, S.; CHOOSAI, C.; HARTMANN, C.; BIGNELL, D. Influence of termites on ecosystem functioning. Ecosystem services provided by termites. **European Journal of Soil Biology**, v. 47, n. 4, p. 215-222, 2011.

KAMBHAMPATI, S. A phylogeny of cockroaches and related insects based on DNA sequence of mitochondrial ribosomal RNA genes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 92, n. 6, p. 2017-2020, 1995.

KAMBHAMPATI, S.; SMITH, P. T. PCR primers for the amplification of four insect mitochondrial gene fragments. **Insect Molecular Biology**, v. 4, n. 4, p. 233-236, 1995.

KINGMAN, J. F. C. The coalescent. **Stochastic Processes and their Applications**, v. 13, n. 3, p. 235-248, 1982.

KLASS, K-D. Relationships among the principal lineages of Dictyoptera inferred from morphological data. **Entomologische Abhandlungen**, v. 61, n. 2, p. 134-137, 2003.

KLASS, K.-D.; MEIER, R. A phylogenetic analysis of Dictyoptera (Insecta) based on morphological characters. **Entomologische Abhandlungen**, v. 63, n. 1-2, p. 3-50, 2006.

KNOWLES, L. L.; MADDISON, W. P. Statistical phylogeography. **Molecular Ecology**, v. 11, n. 12, p. 2623-2635, 2002.

KORB, J. The ecology of social evolution in Termites. In: KORB, J.; HEINZE, J. (Ed.). **Ecology of social evolution**. New York: Springer, 2008. p. 151-174.

KRISHNA, K.; GRIMALDI, D. Diverse Rhinotermitidae and Termitidae (Isoptera) in Dominican Amber. **American Museum Novitates**, n. 3640, p. 1-48, 2009.

KRISHNA, K.; GRIMALDI, D. A.; KRISHNA, V.; ENGEL, M. S. Treatise on the Isoptera of the world. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 1, n. 377, p. 1-200, 2013a.

KRISHNA, K.; GRIMALDI, D. A.; KRISHNA, V.; ENGEL, M. S. Treatise on the Isoptera of the world. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 5, n. 377, p. 1495-1987, 2013b.

KUTNIK, M.; UVA, P.; BRINKWORTH, L.; BAGNÈRES, A.-G. Phylogeography of two European *Reticulitermes* (Isoptera) species: The Iberian refugium. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 10, p. 3099-3113, 2004.

Laboratório de Ortopteroides MZUSP. [Desenvolvido por Tarik Godoy D. Plaza]. Disponível em: <<http://labcupim.wixsite.com/ortopteroidesmzusp/projetos-em-andamento>>. Acesso em: 20 jan. 2018.

LARA, M. C.; GEISE, L.; SCHNEIDER, C. J. Diversification of small mammals in the Atlantic forest of Brazil: testing the alternatives. In: LACEY, E. A.; MYERS, P. **Mammalian diversification: from chromosomes to phylogeography (a celebration of the career of James L. Patton)**. Berkeley, Los Angeles e London: University of California Press, 2005. p. 311-333.

LAVELLE, P.; BIGNELL, D.; LEPAGE, M.; WOLTERS, W.; ROGER, P.; INESON, P.; HEAL, O. W.; DHILLION, S. Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. **European Journal of Soil Biology**, v. 33, n. 4, p. 159-193, 1997.

LEFEBVRE, T.; CHÂLINE, N.; LIMOUSIN, D.; DUPONT, S.; BAGNÈRES, A.-G. From speciation to introgressive hybridization: the phylogeographic structure of an island subspecies of termite, *Reticulitermes lucifugus corsicus*. **BMC evolutionary biology**, v. 8, n. 38, p. 1-13, 2008.

LEFEBVRE, T.; VARGO, E. L.; ZIMMERMANN, M.; DUPONT, S.; KUTNIK, M.; BAGNÈRES, A.-G. Subterranean termite phylogeography reveals multiple postglacial colonization events in southwestern Europe. **Ecology and Evolution**, v. 6, n. 16, p. 5987-6004, 2016.

- LEGENDRE, F.; NEL, A.; SVENSON, G. J.; ROBILLARD, T.; PELLENS, R.; GRANDCOLAS, P. Phylogeny of Dictyoptera: dating the origin of cockroaches, praying mantises and termites with molecular data and controlled fossil evidence. **PLoS ONE**, v. 10, n. 7, p. 1-27, 2015.
- LEGENDRE, F.; WHITING, M. F.; BORDEREAU, C.; CANCELLO, E. M.; EVANS, T. A.; GRANDCOLAS, P. The phylogeny of termites (Dictyoptera: Isoptera) based on mitochondrial and nuclear markers: Implications for the evolution of the worker and pseudergate castes, and foraging behaviors. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 48, n. 2, p. 615-627, 2008.
- LEPAGE, M.; DARLINGTON, J. P. E. C. Population dynamics of termites. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (Ed.). **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. cap. 16, p. 333-361.
- LI, H.; YE, W.; SU, N.; KANZAKI, N. Phylogeography of *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) in Taiwan. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 102, n. 4, p. 684-693, 2009.
- LIBRADO, P.; ROZAS, J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**, v. 25, n. 11, p. 1451-1452, 2009.
- LIU, H.; BECKENBACH, A. T. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene among ten orders of insects. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 1, n. 1, p. 41-52, 1992.
- LO, N.; ENGEL, M. S.; CAMERON, S.; NALEPA, C. A.; TOKUDA, G.; GRIMALDI, D.; KITADE, O.; KRISHNA, K.; KLASS, K.-D.; MAEKAWA, K.; MIURA, T.; THOMPSON, G. J. Save Isoptera: a comment on Inward et al. **Biology letters**, v. 3, n. 5, p. 562-563, 2007.
- LO, N.; TOKUDA, G.; WATANABE, H.; ROSE, H.; SLAYTOR, M.; MAEKAWA, K.; BANDI, C.; NODA, H. Evidence from multiple gene sequences indicates that termites evolved from wood-feeding cockroaches. **Current Biology**, v. 10, n. 13, p. 801-804, 2000.
- LONG, J. C. The allelic correlation structure of Gainj and Kalam speaking people. I. The estimation and interpretation of Wright's F-statistics. **Genetics**, v. 112, n. 3, p. 629-647, 1986.
- LUCHETTI, A.; SCICCHITANO, V.; MANTOVANI, B. Origin and evolution of the Italian subterranean termite *Reticulitermes lucifugus* (Blattodea, Termitoidae, Rhinotermitidae). **Bulletin of entomological research**, v. 103, n. 6, p. 743-741, 2013.
- MANTEL, N. The Detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Nature**, v. 27, n. 2, p. 209-220, 1967.
- MARTINS, F. M.; TEMPLETON, A. R.; PAVAN, A. C.; KOHLBACH, B. C.; MORGANTE, J. S. Phylogeography of the common vampire bat (*Desmodus rotundus*): marked population structure, Neotropical Pleistocene vicariance and incongruence between nuclear and mtDNA markers. **BMC Evolutionary Biology**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2009.

- MAYDEN, R. L. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In: CLARIDGE, M. F.; DAWAH, H. A.; WILSON, M. R. (Ed.). **Species: the units of biodiversity**. London: Chapman & Hall, 1997. cap. 19, p. 381-423.
- MAYR, E.; O'HARA, R. J. The biogeographical evidence supporting the Pleistocene forest refuge hypothesis. **Evolution**, v. 40, n. 1, p. 55-67, 1986.
- MCKERN, J. A.; SZALANSKI, A. L.; AUSTIN, J. W.; MESSENGER, M. T.; MAHN, J.; GOLD, R. E. Phylogeography of termites (Isoptera) from Oregon and Washington. **Sociobiology**, v. 50, n. 2, p. 607-622, 2007.
- MCWILLIAM, H.; LI, W.; ULUDAG, M.; SQUIZZATO, S.; PARK, Y. M.; BUSO, N.; COWLEY, A. P.; LOPEZ, R. Analysis tool web services from the EMBL-EBI. **Nucleic Acids Research**, v. 41, n. W1, p. W597-W600, 2013.
- MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway v.3.3 Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: PROCEEDINGS OF THE GATEWAY COMPUTING ENVIRONMENTS WORKSHOP (GCE), 2010, New Orleans, p. 1-8.
- MILLER, M. P. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analyses of allozyme and molecular population genetic data. [S. I.]: Software de computador distribuído pelo autor, 1997. Disponível em: <<http://www.marksgeneticsoftware.net/tfpga.htm>>. Acesso em: 17 jan. 2018.
- MISHLER, B. D. The morphological, developmental, and phylogenetic basis of species concepts in bryophytes. **Bryologist**, v. 88, n. 3, p. 207-214, 1985.
- MITTERMEIER, R. A.; ROBLES-GIL, P.; HOFFMANN, M.; PILGRIM, J. D.; BROOKS, T. B.; MITTERMEIER, C. G.; LAMOREUX, J. L.; FONSECA, G. A. B. **Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered ecoregions**. Mexico City: Cemex, 2004. 390 pp.
- MIURA, T.; ROISIN, Y.; MATSUMOTO, T. Molecular phylogeny and biogeography of the nasute termite genus *Nasutitermes* (Isoptera: Termitidae) in the pacific tropics. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 17, n. 1, p. 1-10, 2000.
- MIYAMOTO, M. M.; CRACRAFT, J. Phylogenetic inference, DNA sequence analysis, and the future of molecular systematics. In: _____. (Ed.). **Phylogenetic analysis of DNA sequences**. New York: Oxford University Press, 1991. cap. 1, p. 3-17.
- MONAGHAN, M. T.; WILD, R.; ELLIOT, M.; FUJISAWA, T.; BALKE, M.; INWARD, D. J. G.; LEES, D. C.; RANAIVOSOLO, R.; EGGLETON, P.; BARRACLOUGH, T. G.; VOGLER, A. P. Accelerated species inventory on Madagascar using coalescent-based models of species delineation. **Systematic Biology**, v. 58, n. 3, p. 298-311, 2009.
- MORAES-BARROS, N.; SILVA, J. A. B.; MIYAKI, C. Y.; MORGANTE, J. S. Comparative phylogeography of the Atlantic forest endemic sloth (*Bradypus torquatus*) and the widespread three-toed sloth (*Bradypus variegates*) (Bracypodidae, Xenarthra). **Genetica**, v. 126, n. 1-2, p. 189-198, 2006.

MOREAU, R. E. **The bird faunas of Africa and its islands**. New York: Academic Press, 1966. 424 pp.

MORLEY, R. J. **Origin and Evolution of Tropical Rain Forests**. Chichester: John Wiley & Sons, 2000. xv+362 pp.

MOUSSET, S.; DEROME, N.; VEUILLE, M. A test of neutrality and constant population size based on the mismatch distribution. **Molecular Biology and Evolution**, v. 21, n. 4, p. 724-731, 2004.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v. 89, n. 3, p. 583-590, 1978.

NEI, M. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics. **Annual review of genetics**, v. 30, p. 371-403, 1996.

NEI, M.; KUMAR, S. **Molecular Evolution and Phylogenetics**. New York: Oxford University Press, 2000. 333 pp.

NELSON, G.; PLATNICK, N. I. **Systematics and biogeography: cladistics and vicariance**. New York: Columbia University Press, 1981. xi+567 pp.

NIXON, K. C.; WHEELER, Q. D. An amplification of the phylogenetic species concept. **Cladistics**, v. 6, n. 3, p. 211-223, 1990.

NOBRE, T.; EGGLETON, P.; AANEN, D. K. Vertical transmission as the key to the colonization of Madagascar by fungus-growing termites? **Proceedings of the Royal Society B**, v. 277, n. 1680, p. 359-365, 2010.

NOIROT, C. The nests of termites. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F. M. (Ed.), **Biology of Termites**. v. 2. New York: Academic Press, 1970. p. 73-125.

NOIROT, C.; DARLIGTON, J. P. E. C. Termites nest: architecture, regulation and defence. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (Ed.). **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000. cap. 6, p. 121-139.

NORKRANS, B. Degradation of Cellulose. **Annual Review of Phytopathology**, v. 1, n. 1, p. 325-350, 1963.

NUTTING, W. L. Flight and colony foundation. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F. M. (Ed.), **Biology of Termites**. v. 1. New York: Academic Press, 1969. p. 233-282.

OHKUMA, M.; YUZAWA, H.; AMORNSAK, W.; SORNNUWAT, Y.; TAKEMATSU, Y.; YAMADA, A.; VONGKALUANG, C.; SARNTHOY, O.; KIRTIBUTR, N.; NOPARATNARAPORN, N.; KUDO, T.; INOUE, T. Molecular phylogeny of Asian termites (Isoptera) of the families Termitidae and Rhinotermitidae based on mitochondrial COII sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 31, n. 2, p. 701-710, 2004.

ORR, M. R.; SMITH, T. B. Ecology and speciation. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 13, n. 12, p. 502-506, 1998.

OZEKI, M.; ISAGI, Y.; TSUBOTA, H.; JACKLYN, P.; BOWMAN, D. M. J. S. Phylogeography of an Australian termite, *Amitermes laurensis* (Isoptera, Termitidae), with special reference to the variety of mound shapes. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 42, n. 1, p. 236-247, 2007.

PAGE, R. D. M.; HOLMES, E. C. **Molecular evolution: a phylogenetic approach**. Oxford: Blackwell Science, 1998. 352 pp.

PARK, Y. C.; KITADE, O.; SCHWARZ, M.; KIM, J. P.; KIM, W. Intraspecific molecular phylogeny, genetic variation and phylogeography of *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Molecules and cells**, v. 21, n. 1, p. 89-103, 2006.

PELLEGRINO, K. C. M.; RODRIGUES, M. T.; WAITE, A. N.; MORANDO, M.; YASSUDA, Y. Y.; SITES JR, J. W. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 85, n. 1, p. 13-26, 2005.

PERALTA, R. C. G.; MENEZES, E. B.; CARVALHO, A. G.; AGUIAR-MENEZES, E. de L. Wood consumption rates of forest species by subterranean termites (Isoptera) under field conditions. **Revista árvore**, v. 28, n. 2, p. 283-289, 2004.

PIGRAM, C. J.; PANGGABEAN, H. Age of the Banda Sea, eastern Indonesia. **Nature**, v. 301, p. 231-234, 1983.

PIGRAM, C. J.; PANGGABEAN, H. Rifting of the Northern Margin of the Australian. **Tectonophysics**, v. 107, p. 331-353, 1984.

POSADA, D.; CRANDALL, K. A. MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, v. 14, n. 9, p. 817-818, 1998.

POSADA, D.; CRANDALL, K. A.; TEMPLETON, A. R. GeoDis: A program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes. **Molecular Ecology**, v. 9, n. 4, p. 487-488, 2000.

PROCHEŞ, Ş., RAMDHANI, S. The world's zoogeographical regions confirmed by cross-taxon analyses. **Bioscience**, v. 62, n. 3, p. 260-270, 2012.

RAMBAUT A. **FigTree v.1.4.2**. 2006-2016. Disponível em:
<<http://beast.bio.ed.ac.uk/FigTree>>. Acesso em: 5 mai. 2016.

RAMBAUT A, DRUMMOND AJ. **Tree Annotator v1.8.2**. 2002-2015. Disponível em: <<http://beast.bio.ed.ac.uk/TreeAnnotator>>. Acesso em: 5 mai. 2016.

RAMBAUT, A.; SUCHARD, M. A.; XIE, D.; DRUMMOND, A. J. **Tracer v1.6**. 2014. Disponível em: <<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>>. Acesso em: 5 mai. 2016. 43.

RAMOS-ONSINS, S. E.; ROZAS, J. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. **Molecular biology and evolution**, v. 19, n. 12, p. 2092-2100, 2002.

REILLY, L. M. Measurements of inbreeding and average relatedness in a termite population. **The American Naturalist**, v. 130, n. 3, p. 339-349, 1987.

REIS, Y. T.; CANCELLO, E. M. Riqueza de cupins (Insecta, Isoptera) em áreas de Mata Atlântica primária e secundária do sudeste da Bahia. **Iheringia. Série Zoologia**, v. 97, n. 3, p. 229-234, 2007.

RESENDE, H. C.; YOTOKO, K. S. C.; DELABIE, J. H. C.; COSTA, M. A.; CAMPIOLO, S.; TAVARES, M. G.; CAMPOS, L. A. O.; FERNANDES-SALOMÃO, T. M. Pliocene and Pleistocene events shaping the genetic diversity within the central corridor of the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 101, n. 4, p. 949-960, 2010.

RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; MARTENSEN, A. C.; PONZONI, F. J.; HIROTA, M. M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, v. 142, n. 6, p. 1141-1153, 2009.

RIBEIRO, R. A.; LEMOS-FILHO, J. P.; RAMOS, A. C. S.; LOVATO, M. B. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**, v. 106, n. 1, p. 46-57, 2011.

RICE, W. R.; HOSTERT, E. E. Laboratory experiments on speciation: what have we learned in 40 years. **Evolution**, v. 47, n. 6, p. 1637-1653, 1993.

ROGERS, A. R.; HARPENDING, H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. **Molecular Biology and Evolution**, v. 9, n. 3, p. 552-569, 1992.

ROISIN, Y. Diversity and evolution of caste patterns. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (Ed.). **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. cap. 5, p. 95-119.

ROISIN, Y. Selective pressures on pleometrosis and secondary polygyny: a comparison of termites and ants. In: KELLER, L. (Ed.). **Queen number and sociality in insects**. Oxford: Oxford Science Publications, 1993. p. 402-422.

ROSEN, D.E. Fishes from the uplands and intermontane basins of Guatemala: revisionary studies and comparative biogeography. **Bulletin American Museum of Natural History**, v. 162, p. 267-376, 1979.

ROY, V.; CONSTANTINO, R.; CHASSANY, V.; GIUSTI-MILLER, S.; DIOUF, M.; MORA, P.; HARRY, M. Species delimitation and phylogeny in the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) in French Guiana. **Molecular Ecology**, v. 23, n. 4, p. 902-920, 2014.

ROY, V.; DEMANCHE, C.; LIVET, A.; HARRY, M. Genetic differentiation in the soil-feeding termite *Cubitermes* sp. *affinis subarquatus*: Occurrence of cryptic species revealed by nuclear and mitochondrial markers. **BMC Evolutionary Biology**, v. 6, n. 102, p. 1-12, 2006.

SANTOS, A. F.; FERNANDES CARRIJO, T.; MARQUES CANCELLO, E.; COLETTI MORALES-CORRÊA E CASTRO, A. Phylogeography of *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae) in the Neotropical Region. **BMC Evolutionary Biology**, v. 17, n. 230, p. 1-12, 2017.

SANTOS, T. **Variação temporal da atividade de forrageio de cupins (Insecta, Isoptera) sobre iscas de papel higiênico em Hidrolândia, Goiás**. 2008. 51 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Evolução) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008.

SCICCHITANO, V.; DEDEINE, F.; MANTOVANI, B.; LUCHETTI, A. Molecular systematics, biogeography, and colony fusion in the European dry-wood termites *Kaloterme* spp. (Blattodea, Termitoidea, Kalotermitidae). **Bulletin of Entomological Research**, p. 1-9, 2017a.

SCICCHITANO, V.; DEDEINE, F.; BAGNÈRES, A-G.; LUCHETTI, A.; MANTOVANI, B. Genetic diversity and invasion history of the European subterranean termite *Reticulitermes urbis* (Blattodea, Termitoidea, Rhinotermitidae). **Biological Invasions**, v. 20, n. 1, p. 33-44, 2017b.

SIGRIST, M. S.; CARVALHO, C. J. B. Detection of areas of endemism on two spatial scales using Parsimony Analysis of Endemicity (PAE): the Neotropical region and the Atlantic Forest. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 4, p. 33-42, 2008.

SIMON, C.; FRATI, F.; BECKENBACH, A.; LIU, H.; FLOOK, P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 87, n. 6, p. 651-701, 1994.

SIMPSON, G. G. The species concept. **Evolution**, v. 5, n. 4, p. 285-298, 1951.

SILVA, M.; NOLL, F. B.; MORALES-CORRÊA E CASTRO, A. C. Phylogeographic analysis reveals high genetic structure with uniform phenotypes in the paper wasp *Protonectarina sylveirae* (Hymenoptera: Vespidae). **PLoS ONE**, v. 13, n. 3, p. e0194424, 2018.

SLATKIN, M.; HUDSON, R. R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. **Genetics**, v. 129, n. 2, p. 555-562, 1991.

SMITH, T. B.; WAYNE, R. K.; GIRMAN, D. J.; BRUFORD, M. W. A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. **Science**, v. 276, n. 5320, p. 1855-1857, 1997.

- STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, v. 30, n. 9, p. 1312-1313, 2014.
- SZALANSKI, A. L.; AUSTIN, J. W.; MCKERN, J. A.; SCHEFFRAHN, R. H.; OWENS, C. B.; MESSENGER, M. T. Molecular phylogeography of *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) termites from Florida. **Sociobiology**, v. 52, n. 3, p. 619-632, 2008.
- SZALANSKI, A. L.; SCHEFFRAHN, R. H.; AUSTIN, J. W.; KRECEK, J.; SU, N.-Y. Molecular phylogeny and biogeography of *Heterotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) in the West Indies. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 97, n. 3, p. 556-566, 2004.
- TABARELLI, M.; AGUIAR, A. V.; RIBEIRO, M. C.; METZGER, J. P.; PERES, C. A. Prospects for biodiversity conservation in the Atlantic Forest: lessons from aging human-modified landscapes. **Biological Conservation**, v. 143, n. 10, p. 2328-2340, 2010.
- TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**, v. 123, n. 3, p. 585-595, 1989.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.
- TCHAICKA, L.; EIZIRIK, E.; OLIVEIRA, T. G.; CANDIDO JR, J. F.; FREITAS, T. R. O. Phylogeography and population history of the crab-eating fox (*Cerdocyon thous*). **Molecular Ecology**, v. 16: n. 4, p. 819-838, 2007.
- TEMPLETON, A. R. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. **Molecular Ecology**, v. 13, n. 4, p. 789-809, 2004.
- TEMPLETON, A. R. **Genética de populações e teoria microevolutiva**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2011. 705 pp.
- TEMPLETON, A. R.; BOERWINKLE, E.; SING, C. F. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. I. Basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in *Drosophila*. **Genetics**, v. 117, n. 2, p. 343-351, 1987.
- TEMPLETON, A. R.; ROUTMAN, E.; PHILLIPS, C. A. Separating population structure from population history: a cladistic analysis of the geographical distribution of mitochondrial DNA haplotypes in the tiger salamander, *Ambystoma tigrinum*. **Genetics**, v. 140, n. 2, p. 767-782, 1995.
- THOMÉ, M. T. C.; ZAMUDIO, K. R.; GIOVANELLI, J. G. R.; HADDAD, C. F. B.; BALDISSERA, F. A.; ALEXANDRINO, J. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 55, n. 3, p. 1018-1031, 2010.
- THOMPSON, G. J.; HEBERT, P. D. N. Population genetic structure of the Neotropical termite *Nasutitermes nigriceps* (Isoptera: Termitidae). **Heredity**, v. 80, p. 48-55, 1998.

THORNE, B. L. Termite polygyny: the ecological dynamics of queen mutualism. In: HÖLLDOBLER, B.; LINDAUER, M. (Ed.). **Experimental behavioral ecology and sociobiology**. New York: Sinauer Associates, 1985, p. 325-342.

THORNE, B. L.; GRIMALDI, D. A.; KRISHNA, K. Early fossil history of the termites. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (Ed.). **Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2000. cap. 4, p. 77-93.

THORNE, B. L.; TRANIELLO, J. F. A.; BULMER, M.; ADAMS, E. S. Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioral, ecological, and genetic studies. **Ethology Ecology and Evolution**, v. 11, n. 2, p. 149-169, 1999.

THORNE, J. L.; KISHINO, H.; PAINTER, I. S. Estimating the rate of evolution of the rate of molecular evolution. **Molecular Biology And Evolution**, v. 15, n. 12, p. 1647-1657, 1998.

TREVISAN, H.; MARQUES, F. M. T.; CARVALHO, A. G. Degradação natural de toras de cinco espécies florestais em dois ambientes. **Floresta**, v. 38, n. 1, p. 33-41, 2008.

TRIPODI, A.; AUSTIN, J.; SZALANSKI, A.; MCKERN, J.; CARROLL, M. K.; SARAN, R. K.; MESSENGER, M. T. Phylogeography of *Reticulitermes* termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in California inferred from mitochondrial DNA sequences. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 94, n. 4, p. 697-706, 2006.

UNTERGASSER, A.; NIJVEEN, H.; RAO, X.; BISSELING, T.; GEURTS, R.; LEUNISSEN, J. A. M. Primer3Plus, an enhanced web interface to Primer3. **Nucleic Acids Research**, v. 35, n. SUPPL.2, p. 71-74, 2007.

VANZOLINI, P. E.; WILLIAMS, E. E. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria: Iguanidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 19, n. 1-2, p. 1-298, 1970.

VARGO, E. L. Hierarchical analysis of colony and population genetic structure of the eastern subterranean termite, *Reticulitermes flavipes*, using two classes of molecular markers. **Evolution**, v. 57, n. 12, p. 2805-2518, 2003.

VARGO, E. L.; CARLSON, J. R. Comparative study of breeding systems of sympatric subterranean termites (*Reticulitermes flavipes* and *R. hageni*) in Central North Carolina using two classes of molecular genetic markers. **Environmental Entomology**, v. 35, n. 1, p. 173-187, 2006.

VARGO, E. L.; HUSSENER, C. Biology of subterranean termites: insights from molecular studies of *Reticulitermes* and *Coptotermes*. **Annual Review of Entomology**, v. 54, p. 379-403, 2009.

VARGO, E. L.; HUSSENER, C. Genetic structure of termite colonies and populations. In: BIGNELL, D. E.; ROISIN, Y.; LO, N. (Ed.). **Biology of termites: a modern synthesis**. Dordrecht: Springer, 2011. cap. 12, p. 321-347.

- VARGO, E. L.; HUSSENER, C.; GRACE, J. K. Colony and population genetic structure of the Formosan subterranean termite, *Coptotermes formosanus*, in Japan. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 10, p. 2599-2608, 2003.
- VEERA SINGHAM, G.; OTHMAN, A. S.; LEE, C. Y. Phylogeography of the termite *Macrotermes gilvus* and insight into ancient dispersal corridors in Pleistocene Southeast Asia. **PLoS ONE**, v. 12, n. 11, p. 1-22, 2017.
- VELONÀ, A.; GHESINI, S.; LUCHETTI, A.; MARINI, M.; MANTOVANI, B. Starting from Crete, a phylogenetic re-analysis of the genus *Reticulitermes* in the Mediterranean area. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 56, n. 3, p. 1051-1058, 2010.
- WALLACE, A. R. On the monkeys of the Amazon. **Proceedings of the Zoological Society London**, v. 20, p. 107-110, 1852.
- WARE, J. L.; GRIMALDI, D. A.; ENGEL, M. S. The effects of fossil placement and calibration on divergence times and rates: an example from the termites (Insecta: Isoptera). **Arthropod Structure and Development**, v. 39, n. 2-3, p. 204-219, 2010.
- WEIR, B. S.; COCKERHAM, C. C. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. **Evolution**, v. 38, n. 6, p. 1358, 1984.
- WHITING, M. F. Mecoptera is paraphyletic: multiple genes and phylogeny of Mecoptera and Siphonaptera. **Zoologica Scripta**, v. 31, n. 1, p. 93-104, 2002.
- WILEY, E.O. The evolutionary species concept reconsidered. **Systematic Zoology**, v. 27, n. 1, p. 17-26, 1978.
- WILFERT, L.; KAIB, M.; DURKA, W.; BRANDL, R. Differentiation between populations of a termite in eastern Africa: implications for biogeography. **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 11, p. 1993-2000, 2006.
- WILSON, E. O. **The Insect Societies**. Cambridge: Harvard University Press, 1971. X+548 pp.
- WRIGHT, S. **Evolution and the genetics of populations: variability within and among natural populations**. Chicago: The University of Chicago Press, 1978. 590 pp.
- XIA, X. DAMBE5: A comprehensive software package for data analysis in molecular biology and evolution. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 7, p. 1720-1728, 2013.
- XIA, X.; LEMEY, P. Assessing substitution saturation with DAMBE. In: LEMEY, P.; SALEMI, M.; VANDAMME, A. (Ed.). **The phylogenetic handbook: a practical approach to DNA and protein phylogeny**. Cambridge: Cambridge University Press, 2009. p. 615-630.
- XIA, X.; XIE, Z.; SALEMI, M.; CHEN, L.; WANG, Y. An index of substitution saturation and its application. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 26, n. 1, p. 1-7, 2003.
- XIONG, B.; KOCHER, T. D. Comparison of mitochondrial DNA sequences of seven morphospecies of black flies (Diptera: Simuliidae). **Genome**, v. 34, n. 2, p. 306-311, 1991.

YEAP, B-K.; OTHMAN, A. S.; LEE, C.-Y. Genetic analysis of population structure of *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae) in native and introduced populations. **Environmental Entomology**, v. 40, n. 2, p. 470-476, 2011.

YULE, G. U. A Mathematical theory of evolution, based on the conclusions of Dr. J. C. Willis, F.R.S. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 213, n. 402-410, p. 21-87, 1925.

APÊNDICE A - Amostras do Grupo *Nasutitermes jaraguae* utilizadas nesse estudo, seu número de identificação (*voucher*) na Coleção Molecular de Isoptera do Laboratório de Biologia Evolutiva (LaBE), número de referência na Coleção de Isoptera do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP) ou na Coleção de Isoptera do Laboratório de Termitologia (*LabTermes*) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Localidade de coleta, suas coordenadas geográficas e data de obtenção das amostras.

Voucher	Número de referência	Localidade	Coordenadas geográficas	Data de coleta
262	MZUSP 12723	Mata da Esperança, Ilhéus, BA	14°47'47"S 39°03'56"W	22.V.01
265	MZUSP 16289	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	18°42'54"S 39°51'12"W	11.IV.01
266	MZUSP 12291	Parque Estadual do Pau Oco, Morretes, PR	25°28'37"S 48°50'04"W	2.III.02
424	MZUSP 23361	Petrópolis, RJ	22°28'32"S 43°14'43"W	29.XI.14
425	MZUSP 23362	Santa Bárbara, MG	20°01'24"S 43°28'45"W	21.XI.14
432	MZUSP 23363	Afonso Cláudio, ES	20°14'26"S 41°10'57"W	28.XI.14
433	MZUSP 23364	Morretes, PR	25°26'19"S 48°52'42"W	02.IV.15
434	MZUSP 23365	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	18°59'47"S 40°00'53"W	25.XI.14
435	MZUSP 13593	Poções, BA	14°31'48"S 40°21'54"W	12.II.04
436	MZUSP 22813	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	29.XI.02
461	MZUSP 12312	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	29.XI.02
462	MZUSP 12313	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	29.XI.02
464	MZUSP 12315	Parque Estadual da Serra do Mar (Núcleo Picinguaba), Ubatuba, SP	23°20'10"S 44°50'15"W	04.X.00
466	MZUSP 12721	Parque Estadual da Serra do Mar (Núcleo Picinguaba), Ubatuba, SP	23°20'10"S 44°50'15"W	27.IV.08
467	MZUSP 13581	Fazenda Raul Ferraz, Vitória da Conquista, BA	14°51'57"S 40°50'20"W	18.XII.03
484	MZUSP 12304	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	26.XI.02
485	MZUSP 12306	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	26.XI.02
516	MZUSP 12718	Mata da Esperança, Ilhéus, BA	14°47'47"S 39°03'56"W	22.V.01
517	MZUSP 23482	Cambará do Sul, RS	29°03'11"S 50°06'02"W	25.V.15
518	MZUSP 23477	Juquitiba, SP	24°00'47"S 47°10'36"W	21.V.15
519	MZUSP 23517	Santa Bárbara, MG	20°01'17"S 43°29'18"W	21.XI.14
520	MZUSP 23508	Santa Bárbara, MG	19°57'47"S 43°25'41"W	20.XI.14
521	MZUSP 23481	Parque Nacional de Aparados da Serra, Cambará do Sul, RS	29°07'57"S 50°07'49"W	25.V.15
522	MZUSP 23483	São Leopoldo, RS	29°45'45"S 51°07'59"W	26.V.15
523	MZUSP 23484	El Dourado do Sul, RS	30°03'43"S 51°31'57"W	26.V.15
524	MZUSP 23497	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
525	MZUSP 23498	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
526	MZUSP 23499	Morro da Água Quente, MG	20°09'52"S 43°26'08"W	22.XI.14
527	MZUSP 23500	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	19°00'44"S 40°06'10"W	26.XI.14

Continua.

Apêndice A - Continuação.

<i>Voucher</i>	Número de referência	Localidade	Coordenadas geográficas	Data de coleta
528	MZUSP 23501	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	18°42'54"S 39°51'12"W	26.XI.14
529	MZUSP 23502	Cajati, SP	24°45'58"S 48°10'14"W	21.V.15
530	MZUSP 23503	Apiúna, SC	27°04'36"S 49°25'45"W	23.V.15
531	MZUSP 23504	Tubarão, SC	28°25'07"S 49°06'13"W	24.V.15
532	MZUSP 23485	Orleans, SC	28°23'35"S 49°14'16"W	24.V.15
533	MZUSP 23486	Parque Nacional de Aparados da Serra, Cambará do Sul, RS	29°07'57"S 50°07'49"W	25.V.15
534	MZUSP 23487	Cambará do Sul, RS	29°03'11"S 50°06'02"W	25.V.15
535	MZUSP 23488	São Leopoldo, RS	29°47'22"S 51°08'36"W	26.V.15
536	MZUSP 23489	Iraceminha, SC	26°49'20"S 53°23'06"W	29.V.15
537	MZUSP 23505	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
538	MZUSP 23506	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
539	MZUSP 23490	Parque Nacional de Aparados da Serra, Cambará do Sul, RS	29°09'30"S 50°04'45"W	24.V.15
540	MZUSP 23491	Parque Nacional de Aparados da Serra, Cambará do Sul, RS	29°07'57"S 50°07'49"W	25.V.15
541	MZUSP 23492	Boa Vista das Missões, RS	27°43'18"S 53°19'11"W	28.V.15
542	MZUSP 23509	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
543	MZUSP 23493	Parque Nacional de Aparados da Serra, Cambará do Sul, RS	29°07'57"S 50°07'49"W	25.V.15
544	MZUSP 23494	Cambará do Sul, RS	29°03'11"S 50°06'02"W	25.V.15
545	MZUSP 23495	Boa Vista das Missões, RS	27°43'18"S 53°19'11"W	28.V.15
546	MZUSP 23496	Cunha-Porã, SC	26°51'23"S 53°10'02"W	29.V.15
547	MZUSP N.080b	Área de Relevante Interesse Ecológico Mata de Santa Genebra, Campinas, SP	22°49'04"S 47°06'43"W	9.VII.15
548	MZUSP 26232	Área de Relevante Interesse Ecológico Mata de Santa Genebra, Campinas, SP	22°49'04"S 47°06'43"W	9.VII.15
552	MZUSP 23510	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	19°03'19"S 40°08'48"W	24.XI.14
553	MZUSP 23511	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	18°59'22"S 40°02'16"W	25.XI.14
554	MZUSP 23480	Apiúna, SC	27°04'36"S 49°25'45"W	23.V.15
555	MZUSP 23478	Guaramirim, SC	26°31'41"S 48°58'53"W	22.V.15
556	MZUSP 23479	Indaial, SC	26°56'24"S 49°17'48"W	23.V.15
557	MZUSP 23512	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	19°03'19"S 40°08'48"W	24.XI.14
558	MZUSP 23513	Morretes, PR	25°25'07"S 48°53'10"W	2.IV.15
559	MZUSP 23514	Iporanga, SP	24°32'04"S 48°41'57"W	10.V.15
560	MZUSP N.081a	Área de Relevante Interesse Ecológico Mata de Santa Genebra, Campinas, SP	22°49'04"S 47°06'43"W	9.VII.15
561	MZUSP T.042b	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	19°02'22"S 40°02'37"W	25.XI.14
562	MZUSP 23515	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
563	MZUSP 23516	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14

Continua.

Apêndice A - Continuação

<i>Voucher</i>	Número de referência	Localidade	Coordenadas geográficas	Data de coleta
564	MZUSP 23518	Mariana, MG	20°12'49"S 43°29'21"W	22.XI.14
565	MZUSP 23519	Santa Bárbara, MG	20°01'17"S 43°29'18"W	21.XI.14
566	MZUSP 23520	Catas Altas, MG	20°04'06"S 43°21'58"W	22.XI.14
567	MZUSP 23521	Juquiá, SP	24°19'51"S 47°35'01"W	21.V.15
568	MZUSP 23522	Cajati, SP	24°45'58"S 48°10'14"W	21.V.15
569	MZUSP 23523	Joinville, SC	26°12'28"S 48°54'54"W	22.V.15
570	MZUSP 23524	Guaramirim, SC	26°31'41"S 48°58'53"W	22.V.15
571	MZUSP 23525	Santa Bárbara, MG	20°01'17"S 43°29'18"W	21.XI.14
572	MZUSP 23526	Cajati, SP	24°45'58"S 48°10'14"W	21.V.15
573	MZUSP 23527	Santa Bárbara, MG	20°01'24"S 43°28'45"W	21.XI.14
574	MZUSP 23528	Santa Bárbara, MG	20°01'24"S 43°28'45"W	21.XI.14
575	MZUSP 23529	Morro da Água Quente, MG	20°09'46"S 43°25'54"W	22.XI.14
576	MZUSP 23530	Iporanga, SP	24°34'09"S 48°39'37"W	9.V.15
577	MZUSP N.038a	Cajati, SP	24°45'58"S 48°10'14"W	21.V.15
578	MZUSP 23507	Indaial, SC	26°56'24"S 49°17'48"W	23.V.15
579	MZUSP 12309	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	28.XI.02
607	MZUSP 12305	Parque Estadual da Ilha do Cardoso, Cananéia, SP	25°00'53"S 47°55'36"W	25.XI.02
609	MZUSP 12724	Mata da Esperança, Ilhéus, BA	14°47'47"S 39°03'56"W	22.V.01
610	MZUSP 25148	Reserva Biológica Guaribas, Mamanguape, PB	6°44'27"S 35°08'32"W	22.X.15
611	MZUSP 24483	Reserva Biológica Guaribas, Mamanguape, PB	6°44'27"S 35°08'32"W	23.X.15
612	MZUSP 24486	Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB	7°08'09"S 34°50'38"W	24.X.15
620	MZUSP 24494	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	19°00'44"S 40°06'10"W	26.XI.14
621	MZUSP 23361	Petrópolis, RJ	22°28'32"S 43°14'43"W	29.XI.14
623	MZUSP 24488	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	18°59'22"S 40°02'16"W	26.XI.14
624	MZUSP 24487	Reserva Biológica de Sooretama, Linhares, ES	18°59'47"S 40°00'53"W	25.XI.14
626	MZUSP 24485	Santa Bárbara, MG	20°00'37"S 43°28'10"W	21.XI.14
627	MZUSP 24493	Santa Bárbara, MG	20°01'24"S 43°28'45"W	21.XI.14
628	MZUSP N.102	Reserva Biológica Municipal do Poço D'Anta, Juiz de Fora, MG	21°45'05"S 43°19'13"W	29.VIII.16
629	MZUSP N.104	Reserva Biológica Municipal do Poço D'Anta, Juiz de Fora, MG	21°45'05"S 43°19'13"W	29.VIII.16
688	MZUSP 13578	Poções, BA	14°31'48"S 40°21'54"W	23.I.04
690	MZUSP 13586	Poções, BA	14°31'48"S 40°21'54"W	23.VIII.04
691	MZUSP 13587	Poções, BA	14°31'48"S 40°21'54"W	04.III.04
692	MZUSP 13588	Poções, BA	14°31'48"S 40°21'54"W	26.I.04

Continua.

Apêndice A - Continuação.

Voucher	Número de referência	Localidade	Coordenadas geográficas	Data de coleta
694	MZUSP 13595	Poções, BA	14°31'48"S 40°21'54"W	22.IX.04
696	MZUSP 13570	Itambé, BA	15°14'42"S 40°37'26"W	04.II.04
698	MZUSP 22812	Parque Estadual da Cantareira, Núcleo Engordador, São Paulo, SP	23°24'21"S 46°35'03"W	22.V.03
699	MZUSP 22816	Estação Biológica de Boracéia, Salesópolis, SP	23°39'08"S 45°53'48"W	1.IV.01
700	MZUSP 11046	Horto, Vargem Grande do Sul, SP	21°49'55"S 46°53'38"W	3.XI.93
710	MZUSP 13583	Boa Nova, BA	14°21'46"S 40°12'28"W	24.IX.04
717	MZUSP 12318	Parque Estadual da Serra do Mar (Núcleo Picinguaba), Ubatuba, SP	23°20'10"S 44°50'15"W	18.X.00
719	UFPB 2433	Floresta Nacional de Nísia Floresta, Nísia Floresta, RN	6°04'53"S 35°10'58"W	09.VII.08
720	UFPB 2434	Floresta Nacional de Nísia Floresta, Nísia Floresta, RN	6°04'53"S 35°10'58"W	09.VII.08
721	UFPB 3610	Usina Serra Grande, Ibateguara, AL	8°57'59"S 35°56'00"W	16.XI.08
722	UFPB 3612	Usina Serra Grande, Ibateguara, AL	8°57'59"S 35°56'00"W	16.XI.08
723	UFPB 4508	Ferbasa, Maracás, BA	13°28'01"S 40°25'59"W	11.III.12
724	UFPB 4510	Ferbasa, Maracás, BA	13°28'01"S 40°25'59"W	11.III.12
725	UFPB 5069	Reserva Particular do Patrimônio Natural Estadual Fazenda Bituri, Brejo da Madre de Deus, PE	8°11'59"S 36°23'59"W	29.V.10
726	UFPB 5072	Reserva Particular do Patrimônio Natural Estadual Fazenda Bituri, Brejo da Madre de Deus, PE	8°11'59"S 36°23'59"W	29.V.10
727	UFPB 6381	Floresta Nacional da Restinga de Cabedelo, Cabedelo, PB	6°57'56"S 34°49'31"W	17.VIII.12
728	UFPB 6385	Área de Preservação Permanente Mata do Buraquinho, João Pessoa, PB	7°08'42"S 34°51'54"W	12.IV.12
729	MZUSP N.174	Sítio Vale do Sol, Alfenas, MG	21°32'06"S 45°52'40"W	22.IV.17
735	MZUSP 26585	Reserva Augusto Ruschi, Santa Teresa, ES	19°54'28"S 40°32'29"W	22.XI.16
738	MZUSP 26590	Uma, BA	15°16'08"S 39°02'49"W	16.XI.16
739	MZUSP 26593	Parque Estadual do Desengano, Santa Maria Madalena, RJ	21°53'51"S 41°54'49"W	25.XI.16
740	MZUSP 26595	Parque Estadual do Desengano, Santa Maria Madalena, RJ	21°53'51"S 41°54'49"W	25.XI.16
741	MZUSP 26596	Reserva Augusto Ruschi, Santa Teresa, ES	19°54'28"S 40°32'29"W	22.XI.16
742	MZUSP 26597	Parque Estadual do Desengano, Santa Maria Madalena, RJ	21°53'51"S 41°54'49"W	25.XI.16
743	MZUSP 26598	Mata do Ouvidor, Itapemirim, ES	20°56'35"S 41°03'09"W	23.XI.16
744	MZUSP 26599	Horto (Cede Parque Estadual do Desengano), Santa Maria Madalena, RJ	21°57'07"S 42°00'53"W	24.XI.16
747	MZUSP 26616	Reserva Biológica Córrego Grande, Pedro Canário, ES	18°14'08"S 39°49'34"W	2.XI.16

APÊNDICE B - Distância genética entre os haplótipos do Grupo *Nasutitermes jaraguae* (*N. jaraguae*, *N. ehrhardti*, *Nasutitermes* sp. 1, *Nasutitermes* sp. 2, *Nasutitermes* sp. 3 e *Nasutitermes* sp. 4. A nomenclatura corresponde à utilizada na Tabela 7.

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20
H2	0,015																			
H3	0,012	0,010																		
H4	0,008	0,013	0,010																	
H5	0,013	0,012	0,002	0,012																
H6	0,008	0,013	0,010	0,000	0,012															
H7	0,010	0,015	0,012	0,002	0,013	0,002														
H8	0,012	0,010	0,000	0,010	0,002	0,010	0,012													
H9	0,008	0,013	0,010	0,000	0,012	0,000	0,002	0,010												
H10	0,008	0,013	0,010	0,000	0,012	0,000	0,002	0,010	0,000											
H11	0,020	0,019	0,008	0,019	0,010	0,019	0,020	0,008	0,019	0,019										
H12	0,017	0,019	0,008	0,019	0,010	0,019	0,020	0,008	0,019	0,019	0,017									
H13	0,000	0,015	0,012	0,008	0,013	0,008	0,010	0,012	0,008	0,008	0,020	0,017								
H14	0,008	0,010	0,007	0,007	0,008	0,007	0,008	0,007	0,007	0,007	0,015	0,015	0,008							
H15	0,035	0,030	0,030	0,034	0,032	0,034	0,035	0,030	0,034	0,034	0,039	0,039	0,035	0,030						
H16	0,017	0,005	0,015	0,015	0,017	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,024	0,024	0,017	0,012	0,032					
H17	0,017	0,005	0,015	0,015	0,017	0,015	0,017	0,015	0,015	0,015	0,024	0,024	0,017	0,012	0,032	0,000				
H18	0,010	0,015	0,012	0,002	0,013	0,002	0,003	0,012	0,002	0,002	0,020	0,020	0,010	0,008	0,032	0,017	0,017			
H19	0,008	0,010	0,003	0,007	0,005	0,007	0,008	0,003	0,007	0,007	0,012	0,012	0,008	0,003	0,030	0,012	0,012	0,008		
H20	0,008	0,013	0,010	0,000	0,012	0,000	0,002	0,010	0,000	0,000	0,019	0,019	0,008	0,007	0,034	0,015	0,015	0,002	0,007	
H21	0,010	0,012	0,008	0,008	0,010	0,008	0,010	0,008	0,008	0,008	0,017	0,017	0,010	0,002	0,032	0,013	0,013	0,010	0,005	0,008
H22	0,007	0,008	0,005	0,005	0,007	0,005	0,007	0,005	0,005	0,005	0,013	0,013	0,007	0,002	0,029	0,010	0,010	0,007	0,002	0,005
H23	0,034	0,029	0,029	0,032	0,030	0,032	0,034	0,029	0,032	0,032	0,037	0,037	0,034	0,029	0,008	0,030	0,030	0,030	0,029	0,032
H24	0,034	0,029	0,029	0,032	0,030	0,032	0,034	0,029	0,032	0,032	0,037	0,037	0,034	0,029	0,002	0,030	0,030	0,030	0,029	0,032
H25	0,010	0,015	0,008	0,008	0,010	0,008	0,010	0,008	0,008	0,008	0,017	0,017	0,010	0,008	0,035	0,017	0,017	0,010	0,005	0,008
H26	0,010	0,012	0,005	0,008	0,007	0,008	0,010	0,005	0,008	0,008	0,013	0,010	0,010	0,005	0,032	0,013	0,013	0,010	0,002	0,008
H27	0,010	0,012	0,008	0,002	0,010	0,002	0,003	0,008	0,002	0,002	0,017	0,017	0,010	0,005	0,032	0,013	0,013	0,003	0,005	0,002
H28	0,010	0,012	0,002	0,012	0,003	0,012	0,013	0,002	0,012	0,012	0,010	0,007	0,010	0,008	0,032	0,017	0,017	0,013	0,005	0,012
H29	0,012	0,017	0,013	0,003	0,015	0,003	0,005	0,013	0,003	0,003	0,022	0,022	0,012	0,010	0,034	0,019	0,019	0,005	0,010	0,003
H30	0,012	0,017	0,013	0,003	0,015	0,003	0,005	0,013	0,003	0,003	0,022	0,022	0,012	0,010	0,034	0,019	0,019	0,005	0,010	0,003
H31	0,012	0,017	0,013	0,007	0,015	0,007	0,008	0,013	0,007	0,007	0,022	0,022	0,012	0,010	0,030	0,019	0,019	0,008	0,010	0,007
H32	0,035	0,030	0,030	0,034	0,032	0,034	0,035	0,030	0,034	0,034	0,039	0,039	0,035	0,030	0,007	0,032	0,032	0,032	0,030	0,034

Continua abaixo e à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20
H33	0,019	0,007	0,017	0,017	0,019	0,017	0,019	0,017	0,017	0,017	0,025	0,022	0,019	0,013	0,034	0,005	0,005	0,019	0,013	0,017
H34	0,013	0,008	0,012	0,012	0,013	0,012	0,013	0,012	0,012	0,012	0,020	0,020	0,013	0,008	0,029	0,003	0,003	0,013	0,008	0,012
H35	0,010	0,015	0,012	0,002	0,013	0,002	0,000	0,012	0,002	0,002	0,020	0,020	0,010	0,008	0,035	0,017	0,017	0,003	0,008	0,002
H36	0,012	0,017	0,013	0,003	0,015	0,003	0,002	0,013	0,003	0,003	0,022	0,022	0,012	0,010	0,037	0,019	0,019	0,005	0,010	0,003
H37	0,012	0,017	0,013	0,003	0,015	0,003	0,002	0,013	0,003	0,003	0,022	0,022	0,012	0,010	0,037	0,019	0,019	0,005	0,010	0,003
H38	0,008	0,013	0,010	0,000	0,012	0,000	0,002	0,010	0,000	0,000	0,019	0,019	0,008	0,007	0,034	0,015	0,015	0,002	0,007	0,000
H39	0,008	0,010	0,007	0,003	0,008	0,003	0,005	0,007	0,003	0,003	0,015	0,015	0,008	0,003	0,030	0,012	0,012	0,005	0,003	0,003
H40	0,007	0,008	0,005	0,005	0,007	0,005	0,007	0,005	0,005	0,005	0,013	0,013	0,007	0,002	0,029	0,010	0,010	0,007	0,002	0,005
H41	0,013	0,012	0,005	0,008	0,007	0,008	0,010	0,005	0,008	0,008	0,013	0,013	0,013	0,008	0,032	0,017	0,017	0,010	0,005	0,008
H42	0,012	0,017	0,013	0,003	0,015	0,003	0,005	0,013	0,003	0,003	0,022	0,022	0,012	0,010	0,037	0,019	0,019	0,005	0,010	0,003
H43	0,012	0,013	0,010	0,010	0,012	0,010	0,012	0,010	0,010	0,010	0,019	0,015	0,012	0,007	0,034	0,015	0,015	0,012	0,007	0,010
H44	0,010	0,012	0,012	0,008	0,013	0,008	0,010	0,012	0,008	0,008	0,020	0,020	0,010	0,008	0,025	0,013	0,013	0,010	0,008	0,008
H45	0,010	0,015	0,012	0,002	0,013	0,002	0,003	0,012	0,002	0,002	0,020	0,020	0,010	0,008	0,032	0,017	0,017	0,003	0,008	0,002
H46	0,013	0,019	0,015	0,005	0,017	0,005	0,007	0,015	0,005	0,005	0,024	0,024	0,013	0,012	0,035	0,020	0,020	0,007	0,012	0,005
H47	0,027	0,025	0,025	0,025	0,027	0,025	0,027	0,025	0,025	0,025	0,034	0,034	0,027	0,019	0,032	0,027	0,027	0,027	0,022	0,025
H48	0,010	0,015	0,012	0,002	0,013	0,002	0,000	0,012	0,002	0,002	0,020	0,020	0,010	0,008	0,035	0,017	0,017	0,003	0,008	0,002
H49	0,012	0,017	0,013	0,003	0,015	0,003	0,005	0,013	0,003	0,003	0,022	0,022	0,012	0,010	0,034	0,019	0,019	0,005	0,010	0,003
H50	0,032	0,027	0,027	0,030	0,029	0,030	0,032	0,027	0,030	0,030	0,035	0,035	0,032	0,024	0,030	0,032	0,032	0,029	0,027	0,030
H51	0,015	0,003	0,013	0,013	0,015	0,013	0,015	0,013	0,013	0,013	0,022	0,022	0,015	0,010	0,034	0,005	0,005	0,015	0,010	0,013
H52	0,047	0,039	0,042	0,042	0,044	0,042	0,044	0,042	0,042	0,042	0,047	0,047	0,047	0,042	0,045	0,044	0,044	0,040	0,042	0,042
H53	0,051	0,040	0,044	0,045	0,045	0,045	0,047	0,044	0,045	0,045	0,051	0,045	0,051	0,045	0,044	0,044	0,044	0,044	0,042	0,045
H54	0,010	0,012	0,008	0,008	0,010	0,008	0,010	0,008	0,008	0,008	0,017	0,017	0,010	0,005	0,029	0,013	0,013	0,010	0,005	0,008
H55	0,032	0,024	0,027	0,030	0,029	0,030	0,032	0,027	0,030	0,030	0,035	0,035	0,032	0,027	0,030	0,029	0,029	0,032	0,027	0,030
H56	0,037	0,032	0,032	0,035	0,034	0,035	0,037	0,032	0,035	0,035	0,040	0,040	0,037	0,032	0,029	0,037	0,037	0,034	0,032	0,035
H57	0,049	0,040	0,044	0,044	0,045	0,044	0,045	0,044	0,044	0,044	0,049	0,049	0,049	0,044	0,047	0,045	0,045	0,042	0,044	0,044
H58	0,052	0,040	0,044	0,047	0,045	0,047	0,049	0,044	0,047	0,047	0,051	0,045	0,052	0,047	0,044	0,045	0,045	0,045	0,044	0,047
H59	0,049	0,044	0,047	0,047	0,049	0,047	0,049	0,047	0,047	0,047	0,056	0,052	0,049	0,044	0,040	0,049	0,049	0,045	0,047	0,047
H60	0,047	0,039	0,042	0,042	0,044	0,042	0,044	0,042	0,042	0,042	0,051	0,051	0,047	0,042	0,035	0,044	0,044	0,040	0,042	0,042
H61	0,042	0,034	0,037	0,037	0,039	0,037	0,039	0,037	0,037	0,037	0,045	0,045	0,042	0,034	0,030	0,039	0,039	0,035	0,037	0,037
H62	0,034	0,029	0,029	0,032	0,030	0,032	0,034	0,029	0,032	0,032	0,037	0,037	0,034	0,029	0,002	0,030	0,030	0,030	0,029	0,032
H63	0,049	0,037	0,040	0,044	0,042	0,044	0,045	0,040	0,044	0,044	0,047	0,045	0,049	0,044	0,040	0,042	0,042	0,042	0,040	0,044
H64	0,049	0,040	0,040	0,044	0,042	0,044	0,045	0,040	0,044	0,044	0,047	0,045	0,049	0,044	0,047	0,045	0,045	0,042	0,040	0,044

Continua abaixo e à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20
H65	0,051	0,042	0,042	0,045	0,044	0,045	0,047	0,042	0,045	0,045	0,047	0,047	0,051	0,045	0,049	0,047	0,047	0,044	0,042	0,045
H66	0,035	0,027	0,030	0,034	0,032	0,034	0,035	0,030	0,034	0,034	0,039	0,035	0,035	0,030	0,032	0,032	0,032	0,034	0,030	0,034
H67	0,035	0,027	0,030	0,034	0,032	0,034	0,035	0,030	0,034	0,034	0,039	0,035	0,035	0,030	0,032	0,032	0,032	0,034	0,030	0,034
H68	0,034	0,029	0,029	0,032	0,030	0,032	0,034	0,029	0,032	0,032	0,037	0,037	0,034	0,029	0,025	0,034	0,034	0,030	0,029	0,032
H69	0,017	0,008	0,015	0,012	0,017	0,012	0,013	0,015	0,012	0,012	0,024	0,024	0,017	0,012	0,035	0,010	0,010	0,013	0,012	0,012
H70	0,030	0,022	0,025	0,029	0,027	0,029	0,030	0,025	0,029	0,029	0,034	0,034	0,030	0,025	0,025	0,027	0,027	0,030	0,025	0,029
H71	0,037	0,032	0,032	0,035	0,034	0,035	0,037	0,032	0,035	0,035	0,040	0,040	0,037	0,032	0,029	0,037	0,037	0,034	0,032	0,035
H72	0,034	0,025	0,029	0,032	0,030	0,032	0,034	0,029	0,032	0,032	0,037	0,034	0,034	0,029	0,034	0,030	0,030	0,032	0,029	0,032
H73	0,029	0,020	0,024	0,027	0,025	0,027	0,029	0,024	0,027	0,027	0,032	0,032	0,029	0,024	0,020	0,025	0,025	0,029	0,024	0,027
H74	0,024	0,019	0,022	0,025	0,024	0,025	0,027	0,022	0,025	0,025	0,030	0,030	0,024	0,022	0,022	0,024	0,024	0,027	0,022	0,025
H75	0,035	0,030	0,030	0,034	0,032	0,034	0,035	0,030	0,034	0,034	0,039	0,039	0,035	0,030	0,027	0,035	0,035	0,032	0,030	0,034
H76	0,037	0,032	0,032	0,035	0,034	0,035	0,037	0,032	0,035	0,035	0,040	0,040	0,037	0,032	0,029	0,037	0,037	0,034	0,032	0,035
H77	0,030	0,025	0,029	0,029	0,030	0,029	0,030	0,029	0,029	0,029	0,037	0,037	0,030	0,025	0,019	0,020	0,020	0,030	0,025	0,029
H78	0,030	0,029	0,029	0,029	0,030	0,029	0,030	0,029	0,029	0,029	0,037	0,037	0,030	0,025	0,008	0,027	0,027	0,027	0,025	0,029

Concluído abaixo e continua à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32	H33	H34	H35	H36	H37	H38	H39	H40
H22	0,003																			
H23	0,030	0,027																		
H24	0,030	0,027	0,007																	
H25	0,010	0,007	0,030	0,034																
H26	0,007	0,003	0,030	0,030	0,007															
H27	0,007	0,003	0,030	0,030	0,010	0,007														
H28	0,010	0,007	0,030	0,030	0,010	0,007	0,010													
H29	0,012	0,008	0,032	0,032	0,012	0,012	0,005	0,015												
H30	0,012	0,008	0,032	0,032	0,012	0,012	0,005	0,015	0,003											
H31	0,012	0,008	0,029	0,029	0,012	0,012	0,008	0,015	0,003	0,007										
H32	0,032	0,029	0,002	0,005	0,032	0,032	0,032	0,032	0,034	0,034	0,030									
H33	0,015	0,012	0,032	0,032	0,019	0,012	0,015	0,019	0,020	0,020	0,020	0,034								
H34	0,010	0,007	0,027	0,027	0,013	0,010	0,010	0,013	0,015	0,015	0,015	0,029	0,008							
H35	0,010	0,007	0,034	0,034	0,010	0,010	0,003	0,013	0,005	0,005	0,008	0,035	0,019	0,013						
H36	0,012	0,008	0,035	0,035	0,012	0,012	0,005	0,015	0,007	0,007	0,010	0,037	0,020	0,015	0,002					
H37	0,012	0,008	0,035	0,035	0,012	0,012	0,005	0,015	0,007	0,007	0,010	0,037	0,020	0,015	0,002	0,003				
H38	0,008	0,005	0,032	0,032	0,008	0,008	0,002	0,012	0,003	0,003	0,007	0,034	0,017	0,012	0,002	0,003	0,003			
H39	0,005	0,002	0,029	0,029	0,008	0,005	0,002	0,008	0,007	0,007	0,007	0,030	0,013	0,008	0,005	0,007	0,007	0,003		
H40	0,003	0,000	0,027	0,027	0,007	0,003	0,003	0,007	0,008	0,008	0,008	0,029	0,012	0,007	0,007	0,008	0,008	0,005	0,002	
H41	0,010	0,007	0,030	0,030	0,010	0,007	0,007	0,007	0,012	0,012	0,015	0,032	0,019	0,013	0,010	0,012	0,012	0,008	0,008	0,007
H42	0,012	0,008	0,035	0,035	0,012	0,012	0,005	0,015	0,003	0,007	0,007	0,037	0,020	0,015	0,005	0,007	0,007	0,003	0,007	0,008
H43	0,008	0,005	0,032	0,032	0,012	0,008	0,008	0,012	0,013	0,013	0,013	0,034	0,017	0,012	0,012	0,013	0,013	0,010	0,007	0,005
H44	0,010	0,007	0,024	0,024	0,010	0,010	0,010	0,013	0,008	0,008	0,008	0,025	0,015	0,010	0,010	0,012	0,012	0,008	0,008	0,007
H45	0,010	0,007	0,030	0,030	0,010	0,010	0,003	0,013	0,002	0,002	0,005	0,032	0,019	0,013	0,003	0,005	0,005	0,002	0,005	0,007
H46	0,013	0,010	0,034	0,034	0,013	0,013	0,007	0,017	0,002	0,005	0,005	0,035	0,022	0,017	0,007	0,008	0,008	0,005	0,008	0,010
H47	0,020	0,020	0,034	0,030	0,027	0,024	0,024	0,027	0,029	0,029	0,029	0,035	0,029	0,024	0,027	0,029	0,029	0,025	0,022	0,020
H48	0,010	0,007	0,034	0,034	0,010	0,010	0,003	0,013	0,005	0,005	0,008	0,035	0,019	0,013	0,000	0,002	0,002	0,002	0,005	0,007
H49	0,012	0,008	0,032	0,032	0,012	0,012	0,005	0,015	0,000	0,003	0,003	0,034	0,020	0,015	0,005	0,007	0,007	0,003	0,007	0,008
H50	0,025	0,025	0,032	0,029	0,032	0,029	0,029	0,029	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,029	0,032	0,034	0,034	0,030	0,027	0,025
H51	0,012	0,008	0,032	0,032	0,015	0,012	0,012	0,015	0,017	0,017	0,017	0,034	0,007	0,008	0,015	0,017	0,017	0,013	0,010	0,008
H52	0,044	0,040	0,040	0,044	0,044	0,040	0,040	0,044	0,039	0,042	0,039	0,042	0,042	0,040	0,044	0,045	0,045	0,042	0,039	0,040
H53	0,047	0,044	0,039	0,042	0,044	0,040	0,044	0,045	0,045	0,045	0,045	0,040	0,042	0,044	0,047	0,049	0,049	0,045	0,042	0,044

Continua abaixo e à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H21	H22	H23	H24	H25	H26	H27	H28	H29	H30	H31	H32	H33	H34	H35	H36	H37	H38	H39	H40
H54	0,007	0,003	0,027	0,027	0,010	0,007	0,007	0,010	0,012	0,012	0,012	0,029	0,015	0,010	0,010	0,012	0,012	0,008	0,005	0,003
H55	0,029	0,025	0,032	0,029	0,032	0,029	0,029	0,029	0,030	0,030	0,030	0,030	0,030	0,029	0,032	0,034	0,034	0,030	0,027	0,025
H56	0,034	0,030	0,034	0,030	0,037	0,034	0,034	0,034	0,035	0,035	0,035	0,032	0,039	0,034	0,037	0,039	0,039	0,035	0,032	0,030
H57	0,045	0,042	0,042	0,045	0,045	0,042	0,042	0,045	0,040	0,044	0,040	0,044	0,044	0,042	0,045	0,047	0,047	0,044	0,040	0,042
H58	0,049	0,045	0,039	0,042	0,045	0,042	0,045	0,045	0,047	0,047	0,047	0,040	0,044	0,045	0,049	0,051	0,051	0,047	0,044	0,045
H59	0,045	0,045	0,045	0,042	0,052	0,045	0,045	0,049	0,051	0,051	0,047	0,047	0,047	0,049	0,049	0,051	0,051	0,047	0,044	0,045
H60	0,044	0,040	0,040	0,037	0,047	0,044	0,040	0,044	0,045	0,045	0,042	0,042	0,045	0,044	0,044	0,045	0,045	0,042	0,039	0,040
H61	0,035	0,035	0,035	0,032	0,042	0,039	0,035	0,039	0,040	0,040	0,037	0,037	0,040	0,039	0,039	0,040	0,040	0,037	0,034	0,035
H62	0,030	0,027	0,007	0,000	0,034	0,030	0,030	0,030	0,032	0,032	0,029	0,005	0,032	0,027	0,034	0,035	0,035	0,032	0,029	0,027
H63	0,045	0,042	0,035	0,039	0,042	0,039	0,042	0,042	0,044	0,044	0,044	0,037	0,040	0,042	0,045	0,047	0,047	0,044	0,040	0,042
H64	0,045	0,042	0,042	0,045	0,042	0,039	0,042	0,042	0,040	0,044	0,040	0,044	0,044	0,042	0,045	0,047	0,047	0,044	0,040	0,042
H65	0,047	0,044	0,044	0,047	0,044	0,040	0,044	0,044	0,042	0,045	0,042	0,045	0,045	0,044	0,047	0,049	0,049	0,045	0,042	0,044
H66	0,032	0,029	0,034	0,030	0,035	0,029	0,032	0,032	0,030	0,034	0,030	0,032	0,030	0,032	0,035	0,037	0,037	0,034	0,030	0,029
H67	0,032	0,029	0,034	0,030	0,035	0,029	0,032	0,032	0,030	0,034	0,030	0,032	0,030	0,032	0,035	0,037	0,037	0,034	0,030	0,029
H68	0,030	0,027	0,030	0,027	0,034	0,030	0,030	0,030	0,032	0,032	0,032	0,029	0,035	0,030	0,034	0,035	0,035	0,032	0,029	0,027
H69	0,013	0,010	0,034	0,034	0,017	0,013	0,010	0,017	0,015	0,015	0,019	0,035	0,012	0,013	0,013	0,015	0,015	0,012	0,012	0,010
H70	0,027	0,024	0,030	0,024	0,030	0,027	0,027	0,027	0,025	0,029	0,025	0,029	0,029	0,027	0,030	0,032	0,032	0,029	0,025	0,024
H71	0,030	0,030	0,034	0,030	0,037	0,034	0,034	0,034	0,035	0,035	0,035	0,032	0,039	0,034	0,037	0,039	0,039	0,035	0,032	0,030
H72	0,030	0,027	0,035	0,032	0,034	0,027	0,030	0,030	0,032	0,035	0,032	0,034	0,029	0,030	0,034	0,035	0,035	0,032	0,029	0,027
H73	0,025	0,022	0,025	0,019	0,029	0,025	0,025	0,025	0,024	0,027	0,024	0,024	0,027	0,025	0,029	0,030	0,030	0,027	0,024	0,022
H74	0,024	0,020	0,027	0,020	0,027	0,024	0,024	0,024	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025	0,020	0,027	0,029	0,029	0,025	0,022	0,020
H75	0,029	0,029	0,032	0,029	0,035	0,032	0,032	0,032	0,034	0,034	0,034	0,030	0,037	0,032	0,035	0,037	0,037	0,034	0,030	0,029
H76	0,034	0,030	0,034	0,030	0,037	0,034	0,034	0,034	0,035	0,035	0,035	0,032	0,039	0,034	0,037	0,039	0,039	0,035	0,032	0,030
H77	0,027	0,024	0,010	0,017	0,027	0,027	0,027	0,030	0,032	0,032	0,029	0,012	0,025	0,017	0,030	0,032	0,032	0,029	0,025	0,024
H78	0,027	0,024	0,007	0,007	0,030	0,027	0,027	0,030	0,029	0,029	0,025	0,005	0,029	0,024	0,030	0,032	0,032	0,029	0,025	0,024

Concluído abaixo e continua à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H41	H42	H43	H44	H45	H46	H47	H48	H49	H50	H51	H52	H53	H54	H55	H56	H57	H58	H59	H60
H42	0,012																			
H43	0,012	0,013																		
H44	0,013	0,012	0,012																	
H45	0,010	0,005	0,012	0,007																
H46	0,013	0,005	0,015	0,010	0,003															
H47	0,027	0,029	0,025	0,020	0,027	0,030														
H48	0,010	0,005	0,012	0,010	0,003	0,007	0,027													
H49	0,012	0,003	0,013	0,008	0,002	0,002	0,029	0,005												
H50	0,029	0,034	0,030	0,025	0,032	0,035	0,005	0,032	0,034											
H51	0,015	0,017	0,013	0,012	0,015	0,019	0,025	0,015	0,017	0,030										
H52	0,044	0,042	0,045	0,037	0,040	0,040	0,040	0,044	0,039	0,039	0,042									
H53	0,045	0,049	0,045	0,040	0,044	0,047	0,047	0,047	0,045	0,047	0,042	0,022								
H54	0,010	0,012	0,008	0,010	0,010	0,013	0,024	0,010	0,012	0,029	0,012	0,044	0,047							
H55	0,029	0,034	0,030	0,025	0,029	0,032	0,029	0,032	0,030	0,030	0,027	0,042	0,040	0,029						
H56	0,034	0,039	0,035	0,027	0,034	0,037	0,027	0,037	0,035	0,025	0,035	0,044	0,052	0,034	0,032					
H57	0,045	0,044	0,047	0,039	0,042	0,042	0,042	0,045	0,040	0,040	0,044	0,002	0,024	0,045	0,044	0,045				
H58	0,045	0,051	0,047	0,042	0,045	0,049	0,049	0,049	0,047	0,047	0,044	0,022	0,003	0,049	0,040	0,052	0,024			
H59	0,049	0,051	0,051	0,045	0,049	0,052	0,042	0,049	0,051	0,040	0,047	0,047	0,049	0,049	0,047	0,049	0,049	0,049		
H60	0,044	0,045	0,045	0,040	0,044	0,047	0,034	0,044	0,045	0,032	0,042	0,042	0,047	0,044	0,045	0,030	0,044	0,047	0,019	
H61	0,039	0,040	0,040	0,035	0,039	0,042	0,032	0,039	0,040	0,030	0,037	0,040	0,042	0,039	0,040	0,039	0,042	0,042	0,010	0,008
H62	0,030	0,035	0,032	0,024	0,030	0,034	0,030	0,034	0,032	0,029	0,032	0,044	0,042	0,027	0,029	0,030	0,045	0,042	0,042	0,037
H63	0,042	0,047	0,047	0,039	0,042	0,045	0,045	0,045	0,044	0,044	0,040	0,019	0,003	0,045	0,037	0,049	0,020	0,003	0,045	0,044
H64	0,042	0,044	0,047	0,039	0,042	0,042	0,042	0,045	0,040	0,040	0,044	0,007	0,020	0,045	0,040	0,045	0,008	0,020	0,049	0,044
H65	0,044	0,045	0,049	0,040	0,044	0,044	0,044	0,047	0,042	0,042	0,045	0,007	0,022	0,047	0,042	0,045	0,008	0,022	0,051	0,045
H66	0,032	0,034	0,034	0,025	0,032	0,032	0,029	0,035	0,030	0,029	0,030	0,037	0,042	0,032	0,017	0,030	0,039	0,042	0,042	0,044
H67	0,032	0,034	0,034	0,025	0,032	0,032	0,029	0,035	0,030	0,029	0,030	0,034	0,039	0,032	0,013	0,030	0,035	0,039	0,045	0,044
H68	0,030	0,035	0,032	0,024	0,030	0,034	0,024	0,034	0,032	0,022	0,032	0,040	0,049	0,030	0,029	0,003	0,042	0,049	0,045	0,027
H69	0,013	0,015	0,015	0,013	0,013	0,017	0,027	0,013	0,015	0,032	0,008	0,047	0,047	0,013	0,029	0,037	0,049	0,049	0,049	0,044
H70	0,027	0,029	0,029	0,020	0,027	0,027	0,020	0,030	0,025	0,022	0,025	0,034	0,039	0,027	0,015	0,027	0,035	0,039	0,042	0,037
H71	0,034	0,039	0,035	0,027	0,034	0,037	0,027	0,037	0,035	0,025	0,035	0,044	0,052	0,034	0,032	0,007	0,045	0,052	0,049	0,030
H72	0,030	0,032	0,032	0,027	0,034	0,034	0,027	0,034	0,032	0,027	0,029	0,035	0,040	0,030	0,015	0,032	0,037	0,040	0,044	0,042
H73	0,025	0,027	0,027	0,019	0,025	0,025	0,022	0,029	0,024	0,024	0,024	0,039	0,044	0,022	0,020	0,025	0,040	0,044	0,037	0,035

Continua abaixo e à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H41	H42	H43	H44	H45	H46	H47	H48	H49	H50	H51	H52	H53	H54	H55	H56	H57	H58	H59	H60
H74	0,024	0,029	0,025	0,017	0,024	0,027	0,020	0,027	0,025	0,022	0,022	0,037	0,042	0,024	0,022	0,024	0,039	0,042	0,039	0,034
H75	0,032	0,037	0,034	0,025	0,032	0,035	0,025	0,035	0,034	0,024	0,034	0,042	0,051	0,032	0,030	0,005	0,044	0,051	0,047	0,029
H76	0,034	0,039	0,035	0,027	0,034	0,037	0,027	0,037	0,035	0,025	0,035	0,044	0,052	0,034	0,032	0,003	0,045	0,052	0,049	0,030
H77	0,030	0,032	0,029	0,024	0,030	0,034	0,034	0,030	0,032	0,039	0,025	0,044	0,040	0,024	0,039	0,044	0,045	0,042	0,052	0,047
H78	0,030	0,032	0,029	0,020	0,027	0,030	0,030	0,030	0,029	0,032	0,029	0,044	0,044	0,024	0,029	0,030	0,045	0,045	0,045	0,040

Concluído abaixo e continua à direita.

Apêndice B. Continuação.

	H61	H62	H63	H64	H65	H66	H67	H68	H69	H70	H71	H72	H73	H74	H75	H76	H77
H62	0,032																
H63	0,039	0,039															
H64	0,042	0,045	0,017														
H65	0,044	0,047	0,019	0,003													
H66	0,039	0,030	0,039	0,035	0,037												
H67	0,039	0,030	0,035	0,032	0,034	0,003											
H68	0,035	0,027	0,045	0,042	0,042	0,027	0,027										
H69	0,039	0,034	0,045	0,049	0,051	0,032	0,032	0,034									
H70	0,032	0,024	0,035	0,035	0,037	0,012	0,008	0,024	0,027								
H71	0,039	0,030	0,049	0,045	0,045	0,030	0,030	0,003	0,037	0,027							
H72	0,037	0,032	0,037	0,034	0,035	0,005	0,002	0,029	0,030	0,010	0,032						
H73	0,030	0,019	0,040	0,040	0,042	0,017	0,017	0,022	0,025	0,008	0,025	0,019					
H74	0,029	0,020	0,039	0,039	0,040	0,022	0,022	0,020	0,027	0,013	0,024	0,024	0,012				
H75	0,037	0,029	0,047	0,044	0,044	0,029	0,029	0,002	0,035	0,025	0,002	0,030	0,024	0,022			
H76	0,039	0,030	0,049	0,045	0,045	0,030	0,030	0,003	0,037	0,027	0,007	0,032	0,025	0,024	0,005		
H77	0,042	0,017	0,039	0,045	0,047	0,042	0,042	0,040	0,030	0,037	0,044	0,040	0,032	0,030	0,042	0,044	
H78	0,035	0,007	0,042	0,045	0,047	0,030	0,030	0,027	0,030	0,027	0,030	0,032	0,022	0,024	0,029	0,030	0,013

Conclusão.

APÊNDICE C - Distância genética entre as populações de *Nasutitermes jaraguae*.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
2	0.005																			
3	0.007	0.003																		
4	0.005	0.002	0.005																	
5	0.005	0.000	0.003	0.002																
6	0.007	0.002	0.005	0.003	0.002															
7	0.009	0.003	0.007	0.005	0.003	0.005														
8	0.010	0.012	0.012	0.012	0.012	0.014	0.012													
9	0.005	0.003	0.007	0.003	0.003	0.005	0.003	0.009												
10	0.007	0.005	0.009	0.005	0.005	0.007	0.005	0.010	0.002											
11	0.007	0.005	0.009	0.005	0.005	0.007	0.005	0.011	0.002	0.000										
12	0.005	0.003	0.007	0.003	0.003	0.005	0.003	0.009	0.000	0.002	0.002									
13	0.010	0.012	0.012	0.012	0.012	0.014	0.012	0.010	0.009	0.010	0.011	0.009								
14	0.009	0.009	0.011	0.009	0.009	0.011	0.009	0.011	0.006	0.008	0.008	0.006	0.011							
15	0.015	0.019	0.019	0.019	0.019	0.021	0.019	0.017	0.015	0.017	0.017	0.015	0.017	0.009						
16	0.015	0.019	0.019	0.019	0.019	0.020	0.019	0.018	0.015	0.017	0.017	0.015	0.018	0.011	0.003					
17	0.005	0.003	0.007	0.003	0.003	0.005	0.003	0.009	0.000	0.002	0.002	0.000	0.009	0.006	0.015	0.015				
18	0.008	0.007	0.010	0.007	0.007	0.009	0.007	0.011	0.004	0.006	0.006	0.004	0.011	0.008	0.013	0.013	0.004			
19	0.014	0.017	0.017	0.017	0.017	0.019	0.017	0.015	0.014	0.015	0.016	0.014	0.015	0.011	0.005	0.006	0.014	0.012		
20	0.010	0.012	0.012	0.012	0.012	0.014	0.012	0.010	0.009	0.010	0.011	0.009	0.010	0.009	0.014	0.014	0.009	0.010	0.012	
21	0.005	0.003	0.007	0.003	0.003	0.005	0.003	0.009	0.000	0.002	0.002	0.000	0.009	0.006	0.015	0.015	0.000	0.004	0.014	0.009
22	0.009	0.010	0.010	0.010	0.010	0.012	0.010	0.009	0.007	0.009	0.009	0.007	0.005	0.008	0.012	0.012	0.007	0.008	0.010	0.005
23	0.010	0.012	0.012	0.012	0.012	0.014	0.012	0.010	0.009	0.010	0.011	0.009	0.000	0.011	0.017	0.018	0.009	0.011	0.015	0.010
24	0.014	0.015	0.016	0.015	0.015	0.017	0.015	0.013	0.012	0.014	0.014	0.012	0.011	0.013	0.018	0.018	0.012	0.013	0.016	0.011
25	0.007	0.007	0.007	0.007	0.007	0.009	0.007	0.009	0.003	0.005	0.005	0.003	0.009	0.006	0.012	0.012	0.003	0.006	0.010	0.005
26	0.007	0.009	0.009	0.009	0.009	0.010	0.009	0.007	0.005	0.007	0.007	0.005	0.007	0.006	0.010	0.011	0.005	0.006	0.009	0.003
27	0.007	0.007	0.009	0.007	0.007	0.009	0.007	0.010	0.003	0.005	0.005	0.003	0.010	0.008	0.015	0.015	0.003	0.006	0.014	0.009
28	0.012	0.012	0.015	0.012	0.012	0.014	0.012	0.014	0.009	0.010	0.011	0.009	0.010	0.011	0.017	0.017	0.009	0.010	0.015	0.010

1 - Nísia Floresta; 2 - João Pessoa (Mata do Buraquinho); 3 - João Pessoa (UFPB); 4 - Mamanguape; 5 - Brejo da Madre de Deus; 6 - Ibatiguara; 7 - Boa Nova; 8 - Ilhéus; 9 - Itambé; 10 - Maracás; 11 - Poções; 12 - Vitória da Conquista; 13 - Alfenas; 14 - Juiz de Fora; 15 - Morro da Água Quente; 16 - Santa Bárbara; 17 - Afonso Cláudio; 18 - Linhares; 19 - Santa Teresa; 20 - Santa Maria Madalena (Desengano); 21 - Santa Maria Madalena (Horto); 22 - Cajati; 23 - Campinas; 24 - Cananéia; 25 - São Paulo; 26 - Salesópolis; 27 - Ubatuba; 28 - Vargem Grande do Sul; 29 - Morretes; 30 - Apiúna; 31 - Cunha-Porã; 32 - Indaial; 33 - Iraceminha; 34 - Orleans; 35 - Tubarão; 36 - Boa Vista das Missões; 37 - Cambará do Sul (Aparados da Serra); 38 - Cambará do Sul; 39 - São Leopoldo.

Continua abaixo e à direita.

Apêndice C. Continuação.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
29	0.013	0.015	0.015	0.015	0.015	0.016	0.015	0.013	0.011	0.013	0.013	0.011	0.009	0.012	0.016	0.017	0.011	0.012	0.015	0.009
30	0.012	0.014	0.014	0.014	0.014	0.015	0.014	0.012	0.010	0.012	0.012	0.010	0.009	0.011	0.015	0.016	0.010	0.011	0.014	0.009
31	0.007	0.009	0.009	0.009	0.009	0.010	0.009	0.007	0.005	0.007	0.007	0.005	0.007	0.006	0.010	0.011	0.005	0.006	0.009	0.003
32	0.010	0.012	0.012	0.012	0.012	0.014	0.012	0.010	0.009	0.010	0.011	0.009	0.007	0.009	0.014	0.013	0.009	0.010	0.012	0.007
33	0.007	0.009	0.009	0.009	0.009	0.010	0.009	0.007	0.005	0.007	0.007	0.005	0.007	0.006	0.010	0.011	0.005	0.006	0.009	0.003
34	0.009	0.010	0.010	0.010	0.010	0.012	0.010	0.009	0.007	0.009	0.009	0.007	0.005	0.008	0.012	0.012	0.007	0.008	0.010	0.005
35	0.005	0.003	0.007	0.003	0.003	0.005	0.003	0.009	0.000	0.002	0.002	0.000	0.009	0.006	0.015	0.015	0.000	0.004	0.014	0.009
36	0.009	0.010	0.010	0.010	0.010	0.012	0.010	0.009	0.007	0.009	0.009	0.007	0.009	0.008	0.012	0.012	0.007	0.008	0.010	0.005
37	0.009	0.011	0.011	0.011	0.011	0.013	0.011	0.009	0.008	0.009	0.010	0.008	0.009	0.008	0.013	0.013	0.008	0.009	0.011	0.006
38	0.010	0.011	0.011	0.011	0.011	0.013	0.011	0.010	0.008	0.010	0.010	0.008	0.010	0.009	0.013	0.013	0.008	0.009	0.011	0.006
39	0.009	0.010	0.010	0.010	0.010	0.012	0.010	0.009	0.007	0.009	0.009	0.007	0.009	0.008	0.012	0.012	0.007	0.008	0.010	0.005

Concluído abaixo e continua à direita

Apêndice C. Continuação.

	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38
22	0.007																	
23	0.009	0.005																
24	0.012	0.006	0.011															
25	0.003	0.003	0.009	0.009														
26	0.005	0.002	0.007	0.008	0.002													
27	0.003	0.007	0.010	0.012	0.005	0.005												
28	0.009	0.005	0.010	0.008	0.009	0.007	0.010											
29	0.011	0.004	0.009	0.005	0.008	0.006	0.011	0.006										
30	0.010	0.003	0.009	0.004	0.007	0.005	0.010	0.005	0.001									
31	0.005	0.002	0.007	0.008	0.002	0.000	0.005	0.007	0.006	0.005								
32	0.009	0.002	0.007	0.008	0.005	0.003	0.009	0.007	0.006	0.005	0.003							
33	0.005	0.002	0.007	0.008	0.002	0.000	0.005	0.007	0.006	0.005	0.000	0.003						
34	0.007	0.000	0.005	0.006	0.003	0.002	0.007	0.005	0.004	0.003	0.002	0.002	0.002					
35	0.000	0.007	0.009	0.012	0.003	0.005	0.003	0.009	0.011	0.010	0.005	0.009	0.005	0.007				
36	0.007	0.003	0.009	0.009	0.003	0.002	0.007	0.009	0.008	0.007	0.002	0.005	0.002	0.003	0.007			
37	0.008	0.003	0.009	0.009	0.004	0.002	0.007	0.009	0.008	0.007	0.002	0.005	0.002	0.003	0.008	0.001		
38	0.008	0.005	0.010	0.010	0.005	0.003	0.008	0.010	0.009	0.008	0.003	0.006	0.003	0.005	0.008	0.001	0.002	
39	0.007	0.003	0.009	0.009	0.003	0.002	0.007	0.009	0.008	0.007	0.002	0.005	0.002	0.003	0.007	0.000	0.001	0.001

Conclusão.