

---

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**(ZOOLOGIA)**

---

**CUIDADO COM OVOS E IMATUROS: POLIETISMO E MORFOFISIOLOGIA DAS**  
**GLÂNDULAS SALIVARES EM DUAS ESPÉCIES DE CUPINS (ISOPTERA:**  
**RHINOTERMITIDAE, TERMITIDAE)**

**VANELIZE JANEI**

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

**Rio Claro**  
**2019**

**VANELIZE JANEI**

**CUIDADO COM OVOS E IMATUROS: POLIETISMO E  
MORFOFISIOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES EM DUAS  
ESPÉCIES DE CUPINS (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE,  
TERMITIDAE)**

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

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. ANA MARIA COSTA LEONARDO

Rio Claro - SP  
2019

J33c                      Janei, Vanelize  
                                Cuidado com ovos e imaturos: polietismo e  
                                morfofisiologia das glândulas salivares em duas espécies  
                                de cupins (Isoptera: Rhinotermitidae, Termitidae) /  
                                Vanelize Janei. -- Rio Claro, 2019  
                                87 p. : il., tabs., fotos

                                Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista  
                                (Unesp), Instituto de Biociências, Rio Claro  
                                Orientadora: Ana Maria Costa Leonardo

                                1. térmitas. 2. Blattaria. 3. Coptotermes gestroi. 4.  
                                Cornitermes cumulans. 5. colônias incipientes. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do  
Instituto de Biociências, Rio Claro. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: CUIDADO COM OVOS E IMATUROS: POLIETISMO E MORFOFISIOLOGIA DA GLÂNDULA SALIVAR EM DUAS ESPÉCIES DE CUPINS (ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE, TERMITIDAE).

AUTORA: VANELIZE JANEI

ORIENTADORA: ANA MARIA COSTA LEONARDO

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

*Ana Maria Costa Leonardo*

Profa. Dra. ANA MARIA COSTA LEONARDO  
Departamento de Biologia / IB Rio Claro

*Silvana Beani Poiani*

Profa. Dra. SILVANA BEANI POIANI  
Departamento de Biologia / IB - Rio Claro

*Maria Santina de Castro Morini*

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

*Ives Haifig*

Prof. Dr. IVES HAIFIG  
Instituto de Ciências Agrárias / Universidade Federal de Uberlândia/MG

*Alexsandro Santana Vieira*

Pós-Doutorando ALEXSANDRO SANTANA VIEIRA  
CEIS / IB Rio Claro

Rio Claro, 24 de maio de 2019

Ao meu avô materno José Calixto dos  
Santos (*in memoriam*).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

À Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Ana Maria Costa Leonardo pela orientação, paciência e incentivo. Obrigada por sempre nos deixar empolgados com o mundo dos cupins!

Agradeço a minha família sempre disposta a me apoiar nas minhas escolhas. Esse trabalho não seria o mesmo sem a minha mãe Vânia e meus irmãos, Vitor, Varlei, Vildner e Velquer.

Agradeço também ao meu pai Vitor, a minha avó Loriles e aos meus tios Vanilce, Vivian e Vitor Pedro, e também às minhas cunhadas Letícia, Alessandra e Lídia pela força!

Aos meus amigos caninos Cazuzu, Elvis e Marrom pelo amor incondicional!

Aos meus amigos Amanda, Carlos, Juliana, Neto e Cinthia por sempre se interessarem, e pelas diversas perguntas sobre os cupins e outros insetos. Adoro a companhia de vocês!

Ao pessoal do CBN 06, em especial aqueles com os quais ainda convivo: Monizze, Eliziane, Bruna, Pamela, Manuela. É muito bom estar com vocês!

Agradeço a Gabriela Löcher por todo o apoio, e por me ajudar na coleta dos reprodutores alados de *Cornitermes cumulans*.

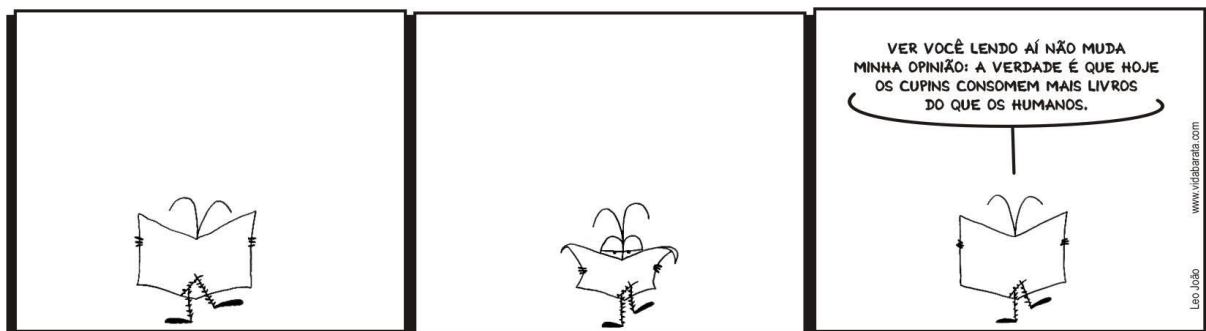
Agradeço a Lara Teixeira Laranjo por me ajudar no meu início na histologia e pela paciência em me ensinar várias vezes as técnicas.

Agradeço ao técnico do laboratório do Departamento de Biologia Gerson Mello Souza e a Cristiane Marcia Mileo por sempre me auxiliarem quando precisei. Muito obrigada!

A professora Selene Maria Coelho Loibel pela ajuda com as análises estatísticas.

Ao pessoal do laboratório, pela amizade e por ajudar sempre que precisei! Célia, Iago, Luiza e Amanda. Um agradecimento especial ao Iago pela ajuda com os esquemas e leituras!

Muito obrigada!



## 1 RESUMO

As colônias de insetos sociais constituem grupos de indivíduos que vivem juntos e se reproduzem como uma unidade, sendo a divisão de trabalho entre os companheiros de ninho uma das mais importantes características dessas colônias. A alocação de trabalho pode ser baseada em casta, sexo, tamanho ou idade dos indivíduos e este processo é denominado polietismo, que pode ser temporal e, nesse caso, o desenvolvimento da tarefa está ligado a idade e a fisiologia do indivíduo. O desenvolvimento de glândulas exócrinas está relacionado com essas atividades e tarefas. As lacunas existentes no conhecimento atual do polietismo em Isoptera dizem respeito a grande dificuldade de observar o comportamento dos cupins em ambientes naturais, devido ao hábito críptico destes insetos. Visando elucidar a divisão de trabalho de reis e rainhas na parte de cuidados com os ovos e larvas na espécie exótica *Coptotermes gestroi* e na espécie nativa *Cornitermes cumulans* foram realizados estudos comportamentais e estudos morfológicos das glândulas salivares em diferentes fases da vida destes reprodutores. Estes estudos morfológicos envolveram histologia, histoquímica e morfometria dos ácinos das glândulas salivares de reis e rainhas. O cuidado biparental é uma importante estratégia para a sobrevivência dos insetos e representa um avanço na adaptação ao ambiente. Nos insetos sociais, como os cupins, o cuidado com ovos e a alimentação dos imaturos é tarefa dos operários, no entanto, no início da fundação de uma nova colônia, o cuidado com a prole é realizado pelo casal real, sendo bastante escassos esses estudos em reprodutores. Na presente pesquisa, colônias incipientes das duas espécies de cupins foram filmadas, durante o período que antecede o aparecimento dos operários, e avaliados os comportamentos com cuidados de ovos e larvas. Os resultados mostraram que o cuidado com os ovos foi realizado igualmente pelo rei e rainha na espécie *C. gestroi*. Contudo, em *C. cumulans* a rainha investiu significativamente mais que o rei na atividade de “grooming” dos ovos. Quanto ao cuidado com as larvas, os dados indicam diferenças significativas nos comportamentos de “grooming”, trofalaxia estomodeal e trofolaxia proctodeal entre os reis e rainhas de *C. gestroi*. Adicionalmente, a rainha da referida espécie investiu mais em trofalaxia do que o rei. Para *C. cumulans* o cuidado com os imaturos não apresentou diferença entre os reprodutores, mostrando ausência de polietismo sexual. A morfometria das glândulas salivares dos reprodutores no início da função das colônias mostrou que a área dos ácinos salivares foram similares em reis e rainhas de ambas as espécies de cupins, portanto, no início



da fundação do ninho, glândulas salivares similares em reis e rainhas indicam o mesmo investimento de ambos os sexos na produção de saliva. Contudo, em colônias mais velhas de *C. gestroi* ocorreu uma diminuição da área dos ácinos salivares em ambos os reprodutores. A histologia das glândulas salivares mostrou ácinos salivares multicelulares, constituídos por células parietais e centrais, sendo que em *C. cumulans* foram observados dois tipos de células centrais. As células parietais são periféricas, menores em relação as centrais e são caracterizadas pela presença de um canalículo intracelular. As células centrais possuem muitas vesículas secretoras, e testes histoquímicos das glândulas salivares de reprodutores no início da formação das colônias mostraram a presença de proteínas e polissacarídeos, além de lipídios em *C. gestroi*. Nos reprodutores mais velhos de *C. gestroi*, a secreção proteica diminuiu, mas houve um acúmulo maior de polissacarídeos. Os resultados sugerem que após o aparecimento dos operários, os quais passam a alimentar a cria, a secreção salivar diminui e sofre alteração funcional em reis e rainhas. O cuidado biparental com ovos e larvas é importante pois aumenta a sobrevivência da prole durante o estabelecimento de novos ninhos, contudo, existem diferenças de polietismo entre as duas espécies estudadas que parecem estar ligados a biologia das mesmas, incluindo tipo de ninho e forrageamento.

**Palavras-chave:** térmitas, Blattaria, *Coptotermes gestroi*, *Cornitermes cumulans*, colônias incipientes.

## 2 ABSTRACT

Colonies of social insects constitute groups of individuals which live together and reproduce as a superorganism, and the most important characteristic of such colonies is a complex division of labor among nestmates. The task allocation may be based on the caste, sex, size and the age of the individuals, and this process is termed polyethism, which may be temporal and, in this case, the task development is associated to the age and physiology of the individual. The development of exocrine glands is associated to these colonial activities and tasks. The current knowledge gaps concerning the polyethism in Isoptera are consequences of the difficulty in observing the behavioral repertoires performed by termites under natural conditions, especially due their cryptic habit. Aiming to elucidate the division of labor between kings and queens related to eggs and larval care in the exotic species *Coptotermes gestroi* and in the native species *Cornitermes cumulans*, behavioral bioassays and morphological studies of the salivary glands were performed on different life phases of these reproductives. These morphological studies involved histology, histochemistry and morphometry of the salivary acini of kings and queens. The biparental care is an important strategy for insect survival and represent an advance during the adaptation to the environment. Among the social insects, case of the termites, workers care for eggs and feed the immatures, although these tasks are performed by the royal couple during the establishment of a colony. Nevertheless, the available data concerning the parental care performed by kings and queens are quite limited. In the present research, incipient colonies of the studied species were filmed, during the period preceding the development of workers, and the behaviors performed during egg and larvae care were evaluated. The results showed that the care of eggs was equally performed by the king and the queen of *C. gestroi*, whereas queens of *C. cumulans* invested significantly more in egg-grooming than kings. Unlike eggs, the larval care varied between *C. gestroi* kings and queens in the following behaviors: grooming, proctodeal and stomodeal trophallaxis. Additionally, the *C. gestroi* queen invested more in trophallaxis when compared to the king. For *C. cumulans*, the larval care did not show differences between the reproductives, suggesting an absence of sexual polyethism in this species. The morphometry of the salivary glands of kings and queens during the colony establishment showed similar acinar area between the reproductives of both species, suggesting that during the colony foundation, kings and queens invest the same effort for saliva production. However, in old colonies of *C. gestroi*, both reproductives suffered a reduction in their acinar area. The

histology of the salivary glands showed multicellular salivary acini, composed of parietal and central cells, the latter presenting two types in *C. cumulans*. The parietal cells are peripheral, smaller when compared to the central ones, and are characterized by the presence of an intracellular canaliculus. The central cells possess many secretory vesicles, and histochemical tests of the salivary glands of kings and queens during colony foundation showed the presence of proteins and polysaccharides, besides lipids in *C. gestroi*. In older reproductives of *C. gestroi*, the proteic secretion decreased, although there was a higher accumulation of polysaccharides. The results suggest that, after the emergence of workers which feed the larvae, the salivary secretion decreases and suffer functional changes in kings and queens. The biparental care on eggs and larvae is important, since it increases the brood survival during the initial phases of the colony, however, there was difference in the polyethism between the two studied species, which seems to be a consequence of their biology, including nesting and foraging aspects.

**Key-words:** termites, Blattaria, *Coptotermes gestroi*, *Cornitermes cumulans*, incipient colonies.

## SUMÁRIO

<b>1. Resumo</b> .....	v
<b>2. Abstract</b> .....	vii
<b>3. Introdução geral</b> .....	11
3.1.1. Classificação dos cupins.....	12
3.1.2. Desenvolvimento hemimetábolo e castas.....	12
3.1.3. Alimentação dos cupins.....	13
3.1.4. Classificação dos cupins quanto a nidificação e hábitos alimentares.....	14
3.1.5. Fundação das colônias.....	14
3.1.6. Polietismo.....	14
3.1.7. Biologia de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	15
3.3.8. Biologia de <i>Cornitermes cumulans</i> .....	18
<b>4. Referências bibliográficas</b> .....	23
<b>CAPÍTULO 1. “Cuidado biparental em cupins utilizando <i>Coptotermes gestroi</i> e <i>Cornitermes cumulans</i> como modelos (Blattaria, Isoptera, Rhinotermitidae, Termitidae)”</b> .....	28
<b>1. Resumo</b> .....	29
<b>2. Introdução</b> .....	30
<b>3. Material e Métodos</b> .....	32
<b>4. Resultados</b> .....	36
4.1. Cuidado parental com ovos em <i>Coptotermes gestroi</i> .....	36
4.2. Cuidado parental com ovos em <i>Cornitermes cumualns</i> .....	40
4.3. Cuidado parental com larvas em <i>Coptotermes gestroi</i> .....	44
4.4. Cuidado parental com larvas em <i>Cornitermes cumulans</i> .....	46
<b>5. Discussão</b> .....	48
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	53
<b>CAPÍTULO 2. “Polietismo fisiológico em reprodutores primários dos cupins <i>Coptotermes gestroi</i> e <i>Cornitermes cumulans</i> (Blattaria, Isoptera, Rhinotermitidae, Termitidae)”</b> .....	58
<b>1. Resumo</b> .....	59

---

<b>2. Introdução</b> .....	60
<b>3. Material e Métodos</b> .....	62
<b>4. Resultados</b> .....	66
4.1. Histologia das glândulas salivares de reis e rainhas de colônias de 2 meses de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	66
4.2. Morfometria dos ácinos salivares de reis e rainhas de colônias de 2 meses de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	68
4.3. Histoquímica das glândulas salivares de reprodutores de 2 meses de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	68
4.4. Morfometria comparada dos ácinos salivares de rainhas de 2 meses e de 1 ano de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	71
4.5. Morfometria comparada dos ácinos salivares de reis de 2 meses e de 1 ano de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	73
4.6. Histoquímica comparada dos ácinos salivares de reis de 2 meses e de 1 ano de <i>Coptotermes gestroi</i> .....	74
4.7. Histologia dos ácinos das glândulas salivares de reis e rainhas de colônias de <i>Cornitermes cumulans</i> .....	75
4.8. Morfometria dos ácinos salivares de reis e rainhas de <i>Cornitermes cumulans</i> .....	77
4.9. Histoquímica das glândulas salivares em reprodutores de <i>Cornitermes cumulans</i> .....	78
<b>5. Discussão</b> .....	80
<b>6. Referências bibliográficas</b> .....	84
<b>7. Considerações finais</b> .....	87

# *INTRODUÇÃO GERAL*

### **3.1 Introdução geral: classificação e biologia de cupins**

#### **3.1.1 Classificação dos cupins**

Estudos morfológicos e moleculares mostraram que os cupins ou térmitas são baratas sociais e por isso aceita-se que tenham evoluído de um ancestral comum das baratas atuais. Existem divergências sobre a classificação dos cupins que foram inseridos por Becalloni e Eggleton (2013) na epifamília Termitoidea da ordem Blattodea e por Engel (2011) e Krishna et al. (2013) na infraordem Isoptera da ordem Blattaria. Esta última classificação é a mais aceita e a que foi adotada no presente trabalho. Atualmente, aceita-se que existem 9 famílias de cupins: Mastotermitidae, Hodotermitidae, Archotermopsidae, Stolotermitidae, Kalotermitidae, Stylotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae (ENGEL, 2011; KRISHNA et al., 2013). Presentemente, são descritas 3161 espécies de cupins, sendo que 660 são provenientes da região Neotropical (CONSTANTINO, 2019).

#### **3.1.2 Desenvolvimento hemimetábolo e castas**

Os cupins são insetos hemimetábolos diferente dos Hymenoptera sociais como as formigas, abelhas e vespas que são holometábolos (NOIROT, 1969). Esses insetos vivem em sociedades organizadas em castas, constituídas por indivíduos reprodutores, operários e soldados. De acordo com Eggleton (2010), essas castas exibem divisão de trabalho e exercem funções diferentes dentro do cupinzeiro.

Uma colônia de cupins possui geralmente 1 casal real, rei e rainha, responsáveis pela reprodução, denominados reprodutores primários. Os cupins são os únicos insetos eussociais em que o rei permanece no ninho após a cópula (COSTA-LEONARDO, 2002). Os operários são indivíduos ápteros, responsáveis pela construção e manutenção do ninho, além do forrageamento e alimentação de todos os outros indivíduos da colônia, inclusive o casal real e imaturos. Esses indivíduos são estéreis, não apresentam olhos, têm tubo digestivo bastante desenvolvido e também se dedicam ao cuidado de ovos e imaturos (EGGLETON, 2010). O soldado é a casta morfológicamente adaptada para a defesa, com mandíbulas robustas e glândula frontal desenvolvida para combater os inimigos. Esses indivíduos são estéreis e cegos (COSTA-LEONARDO, 2002) e podem se originar de larvas ou de operários, passando por um instar intermediário conhecido como pré-soldado ou soldado branco (NOIROT, 1969; ROISIN, 2000).

Uma colônia madura de cupins libera anualmente reprodutores alados ou imagos, machos e fêmeas. Esses reprodutores deixam o ninho original e após formarem casais fundam uma nova colônia. Além das castas citadas, existem imaturos que são conhecidos como larvas e ninfas. As larvas são ápteras e as ninfas apresentam brotos alares. Apesar dos cupins serem insetos hemimetabolos, ou seja, insetos que teoricamente não possuem larvas, esse termo é utilizado para essas ninfas jovens que são ápteras, e constitui uma nomenclatura convencional para os termitólogos (THORNE, 1996). No desenvolvimento dos cupins, as ninfas sofrem mudas sucessivas e originam os reprodutores alados ou imagos. Em cada muda ocorre uma diferenciação gradual de características imaginais, como o surgimento de asas, olhos e órgãos reprodutores (COSTA-LEONARDO, 2002)

Em cupins é assumido que o ovo é totipotente e contém a mesma informação genética. Portanto, o desenvolvimento das castas é determinado por fatores ambientais (nutrição, temperatura, umidade) assim como sexo dos indivíduos (WATANABE et al., 2014). Os fatores ambientais são percebidos pelos cupins por meio de interações sociais como “allogrooming” e trofalaxia (NOIROT, 1991; TARVER et al., 2011). No entanto, pouco é conhecido sobre as relações entre fatores ambientais e padrões de interações sociais (MACHIDA et al., 2001).

### 3.1.3 Alimentação dos cupins

A base da alimentação dos cupins é celulósica sendo que existem espécies que se alimentam de madeiras em vários estágios de decomposição, raízes, sementes, serapilheira e até mesmo húmus (LEE; WOOD, 1971; LIMA; COSTA-LEONARDO, 2007). Por isso, os cupins são importantes decompositores, especialmente nos ecossistemas tropicais e subtropicais (LEE; WOOD, 1971).

Trofalaxia é um comportamento pelo qual os insetos obtêm fluidos nutritivos de um companheiro de ninho. A trofalaxia mais frequente é a estomodeal, que é a troca de fluido através da boca, mas também pode ocorrer a trofalaxia proctodeal, em que o fluido é recebido através do ânus (WHITMAN, 2006). Trofalaxia estomodeal é a troca de saliva e alimento regurgitado (MCMAHAN, 1969; MACHIDA et al., 2001). A trofalaxia proctodeal é a transferência de fluido do intestino posterior contendo microbiota, produto da digestão do cupim e da microbiota e feromônios (MCMAHAN, 1969; MACHIDA et al., 2001) De acordo com McMahan (1969), a alimentação proctodeal é geralmente iniciada e encerrada pelo indivíduo receptor. A trofalaxia é importante na comunicação e distribuição de feromônios



envolvidos na diferenciação de castas. Hoje, é conhecido que a trofalaxia também está envolvida com imunidade e aquisição de microbiota simbiótica (ROSENGAUS et al., 1998; MAEKAWA et al., 2012).

### 3.1.4 Classificação dos cupins quanto a nidificação e hábitos alimentares

De acordo com a alimentação e tipo de ninho os cupins podem ser classificados em: “ninhos múltiplas peças”, quando os cupins vivem em ninhos longe de suas fontes alimentares e ninhos “peça única”, quando os cupins vivem dentro do próprio alimento. Ninhos “múltiplas peças” ocorrem nas famílias Mastotermitidae, Termitidae, maioria dos Rhinotermitidae e ninhos “peça única” nas famílias Termopsidae, Serritermes, Kalotermitidae e no gênero *Prorhinotermes* (família Rhinotermitidae) (KORB, 2008).

### 3.1.5 Fundação das colônias

No início da colônia há uma cooperação entre rei e rainha para o desenvolvimento da primeira cria (NOIROT, 1989), contudo pouco se conhece dessa cooperação. Existem escassos dados de literatura sobre os cuidados com ovos e cria desempenhado pelos reprodutores (SHELLMAN-REEVE, 1990; ROSENGAUS; TRANIELLO, 1991; SHELLMAN-REEVE, 1997). De acordo com Korb (2007) operários de cupins que possuem ninhos “peça única”, mostram pouco ou nenhum cuidado com ovos e cria, caso de *Cryptotermes secundus* (Kalotermitidae). Contudo, é melhor conhecida as diferentes atividades desenvolvidas por operários de espécies com ninhos “múltiplas peças” que saem para forragear e buscam fontes alimentares longe do ninho (WATSON; MACMAHAN, 1978; BADERTSCHER, 1983; CROSLAND et al., 1997). Nesses cupins a função de cuidados desempenhada pelos operários é mais conhecida (KORB et al., 2012).

Em vista do exposto foram escolhidas duas espécies de cupins representantes de duas famílias diferentes: *Coptotermes gestroi*, família Rhinotermitidae e *Cornitermes cumulans*, família Termitidae para o estudo de cuidado biparental e polietismo no início das colônias.

### 3.1.6 Polietismo

As colônias de insetos sociais constituem grupos de indivíduos que vivem juntos e se reproduzem como uma unidade (BESHER; FEWELL, 2001). Uma das mais importantes características das colônias desses insetos, que vivem em sociedade é que alguns membros se especializam em diferentes tarefas, ou seja, existe uma divisão de trabalho entre os

companheiros de ninho (OSTER; WILSON, 1978). Geralmente, esta alocação de trabalho nas colônias de insetos sociais pode ser baseada em casta, sexo, tamanho ou idade dos indivíduos e este fenômeno é denominado polietismo.

O termo polietismo sexual para reprodutores foi primeiramente utilizado por Machida et al., (2001) no estudo com *Hodotermopsis japônica* e incorporado a literatura de Isoptera (SOLEYMANINEJADIAN et al., 2014). Esse termo, polietismo sexual, já havia sido usado por Miura et al. (1998) para operários de *H. medioflavus*. Assim, o polietismo sexual verificado na espécie de cupim de madeira úmida *H. japonica* mostrou que durante o período de oviposição, o rei foi responsável pela higiene e alimentação da fêmea via trofalaxia estomodeal e proctodeal. Além disso, após a eclosão dos ovos, as fêmeas (rainhas) realizaram a trofalaxia proctodeal com as larvas mais vezes que os machos (reis) (MACHIDA et al., 2001). Nos estudos de polietismo sexual com operários de *H. medioflavus*, foi observado que os machos eram menores e especializados na atividade de “mascar a madeira”, e as fêmeas eram maiores e especializadas na atividade de forrageamento (MIURA et al., 1998).

### 3.1.7 Biologia de *Coptotermes gestroi*

*Coptotermes gestroi* pertence à família Rhinotermitidae e é uma espécie introduzida no Brasil. A família Rhinotermitidae compreende os cupins conhecidos como subterrâneos, porque os ninhos são geralmente encontrados sob o solo. Os cupins desta família são caracterizados por apresentar hábito críptico e são considerados os maiores responsáveis por danos econômicos em áreas urbanas da região Sudeste do Brasil (COSTA-LEONARDO, 2002). O gênero *Coptotermes* engloba o maior número de espécies-praga descritas e é responsável por severos prejuízos econômicos (SU; SCHEFFRAHN, 1998). Segundo Evans et al. (2013), as 28 espécies de cupins consideradas invasoras sempre apresentam três características comuns que as definem: o tipo de alimentação, o tipo de ninho e uma maior capacidade de produzir reprodutores secundários.

*C. gestroi* foi introduzido no Brasil por meio de madeira contaminada transportados por navios da Malásia e Cingapura, os quais chegaram no porto de Santos e Rio de Janeiro na década de vinte (SCHEFFRAHN; SU, 2000; MARTINS et al., 2010). A espécie é causadora de grandes prejuízos em áreas urbanas atacando estruturas de madeira e árvores vivas, sendo que somente na cidade de São Paulo, as perdas com tratamentos, reparos e substituições de peças atacadas variam de US\$ 10 a 20 milhões anuais (MILANO; FONTES, 2002). O custo envolvido no controle de cupins subterrâneos nas edificações da cidade de São Paulo

avaliadas pelo IPT (Instituto de Pesquisas Tecnológicas) em 2005 foi de R\$ 7,9 milhões, considerando as etapas de inspeção e/ou tratamento químicos (ROMAGNANO; NAHUZ, 2006).

O cupim *C. gestroi* tem ninhos policálicos (vários núcleos ou “cálicies”) e normalmente, aceita-se que a atividade da colônia está centrada em um ninho principal que contém reprodutores e cria. Nessa espécie, os reprodutores primários são constituídos pelo rei e rainha, sendo esta fisogástrica e com longevidade de cerca de 15 anos ou mais. Os ovos apresentam um comprimento médio de 0,77 mm e cerca de 0,38 mm de largura (COSTA-LEONARDO, 2002) e deles eclodem imaturos menores, “larvas”, sendo que em *C. gestroi* são conhecidos 2 ínstares (larva 1 e larva 2). Esses indivíduos não são encontrados nas áreas de forrageamento e são totalmente brancos, sem qualquer indício de esclerotização (BARSOTTI; COSTA-LEONARDO, 2005).

O ninho de *C. gestroi* é do tipo ‘múltiplas peças’, ou seja, separado de suas fontes alimentares, e estes ninhos podem ser subterrâneos ou aéreos. Os ninhos aéreos podem ser construídos em poços de ventilação e caixas de eletricidade e em espaços estruturais de prédios e edificações (FONTES; ARAÚJO, 1999; COSTA-LEONARDO, 2008). Colônias de *C. gestroi* também mostram infestações mistas, ou seja, constituídas tanto por ninhos subterrâneos como aéreos (MILANO; FONTES, 2002). O ninho de *C. gestroi* é denominado de cartonado, pois é rico em lignina, apresentando um aspecto de papelão, e consiste geralmente em uma mistura de saliva, madeira e excremento (LELIS, 1995; COSTA-LEONARDO et al., 1999; COSTA-LEONARDO, 2008).

As populações das colônias maduras de *C. gestroi* podem atingir 1 milhão de indivíduos e com 6 anos de idade uma colônia dessa espécie já pode produzir alados (COSTA-LEONARDO et al., 2005; COSTA-LEONARDO, 2008). Esses alados têm aproximadamente 6 mm de comprimento e suas revoadas na Região Sudeste do Brasil ocorrem, geralmente, nos meses de agosto e setembro, entre 18 e 19 horas, porém, podem ser observados vôos esporádicos em outros meses, nos quais o número desses reprodutores é sempre inferior ao das revoadas de agosto ou setembro (COSTA-LEONARDO, 2002; COSTA-LEONARDO, 2008) onde os voos são sincronizados.

Os operários são bastante numerosos em uma colônia de *C. gestroi*, constituindo a maior parte da população. Esses indivíduos são ápteros e atuam nas tarefas de construção, forrageamento, limpeza e reparação do ninho, alimentação dos outros indivíduos e cuidados com ovos e larvas (COSTA-LEONARDO, 2008). Operários de *C. gestroi* apresentam

longevidade que varia de 3 a 5 anos (COSTA-LEONARDO, 2008) e podem exibir cinco diferentes ínstares que são encontrados em grupos de forrageiros (BARSOTTI; COSTA-LEONARDO, 2005). Não existem publicações sobre o sexo dos operários de *C. gestroi*, mas estudos com a espécie *Coptotermes heimi*, mostram que os operários são tanto machos como fêmeas, apresentando dimorfismo sexual, sendo as fêmeas maiores que os machos (PAJNI; ARORA, 1990).

Os grupos de forrageamento de *C. gestroi* apresentam de 10 a 15% de soldados, mas sofrem uma variação anual (SCHEFFRAHN; SU, 2000; MAO; HENDERSON, 2007). Estes soldados são bastante agressivos, atuam na defesa da colônia utilizando as mandíbulas e a secreção da glândula frontal, que funciona como uma espécie de cola (COSTA-LEONARDO, 2002).

O desenvolvimento pós-embrionário de *Coptotermes gestroi* é bifurcado (BARSOTTI; COSTA-LEONARDO, 2005), ou seja, logo no início do desenvolvimento há uma divisão entre a linhagem imaginal e a áptera (Fig. 1).

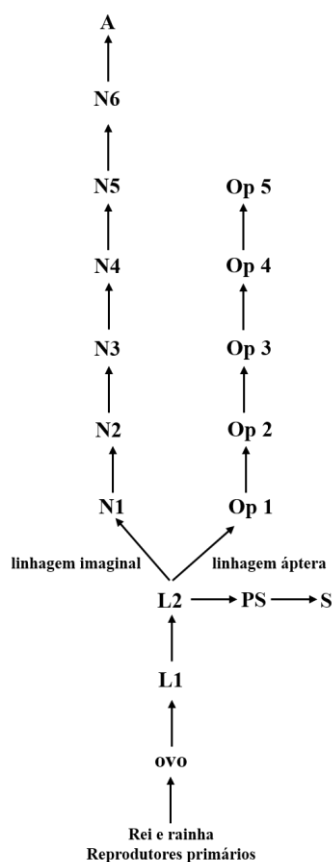


Figura 1. Esquema modificado de Barsotti e Costa-Leonardo (2005) e Chouvenec e Su (2014) do desenvolvimento pós-embrionário de *Coptotermes gestroi*. L = larva; PS = pré-soldado; S = soldado; N = ninfa; Op = operário; A = reprodutor alado (imago).

A figura 2 ilustra o rei e a rainha de uma colônia inicial de *Coptotermes gestroi* cuidando dos ovos.



Figura 2 – Colônia incipiente de *Coptotermes gestroi*. Casal de reprodutores cuidando dos ovos. ♀ = rainha; ♂ = rei

### 3.1.8 Biologia de *Cornitermes cumulans*

*Cornitermes cumulans* é uma espécie neotropical que pertence à família Termitidae, a qual engloba cerca de 75% de todas as espécies de cupins existentes (OHKUMA et al, 2004). A família Termitidae abrange oito subfamílias, das quais quatro estão presentes no Brasil: Termitinae, Apicotermitinae, Nasutitermitinae e Syntermitinae, sendo que Syntermitinae apresenta 15 gêneros incluindo *Cornitermes* (CONSTANTINO, 2019). Portanto, *Cornitermes* é endêmico da região neotropical e ocorre em toda as regiões de Cerrado, sendo que as espécies de maior ocorrência são *Cornitermes bequaerti*, *Cornitermes cumulans* e *Cornitermes silvestri* (CONSTANTINO, 2015).

*C. cumulans* é a espécie mais comum e mais bem-sucedida em pastagens, culturas e cerrados do Brasil, assim como no Paraguai e Argentina (ARAÚJO, 1970; REDFORD, 1984). No Brasil, *C. cumulans* é a espécie mais frequente nas regiões sul e sudeste e no Mato Grosso do Sul (CANCELLO, 1989; FERNANDES et al., 1998), e pode ser considerada uma espécie-chave devido a sua grande abundância e impacto sobre o ambiente (REDFORD, 1984; CONSTANTINO, 2005). *C. cumulans* constrói ninhos em montículos que podem atingir um tamanho considerável, chegando até 4m de altura. Os ninhos de *C. cumulans* têm formato

cônico irregular, variando o tamanho e a coloração, dependendo da região onde está localizado e da idade do ninho. A parte externa desses ninhos é bastante dura e é confeccionada pelos cupins principalmente com solo que contém muita argila (COSTA-LEONARDO, 2005) (Figura 3A). Na parte interna, pode-se observar galerias grandes e de aspecto arredondado e um centro celulósico de coloração escura, de textura lisa e pouco resistente (FERNANDES et al., 1998), onde os cupins armazenam seu alimento previamente mastigado e regurgitado (TORALES, 1982; COSTA-LEONARDO, 2005). O alimento armazenado é moldado em uma bola compacta mesclada com grãos de solo (TORALES, 1982) e lacrado por um material fecal escuro (TORALES, 1982; COSTA-LEONARDO, 2005) (Figura 3B).

Durante a época das revoadas, de setembro a dezembro, os operários de *C. cumulans* constroem plataformas distribuídas irregularmente pelo ninho (Figura 3C). Essas plataformas são arredondadas e horizontais e a construção das mesmas são para a saída dos reprodutores alados e é uma estratégia para reduzir a predação (COSTA-LEONARDO, 2005).



Figura 3 – Ninho de *Cornitermes cumulans*. A. Parte epígea. B. Fragmento do núcleo celulósico. C. Ninho com as plataformas (setas) na época da revoada. D. Detalhe de uma plataforma com operários e soldados.

De acordo com Cosarinsky (2011), o crescimento dos ninhos de *C. cumulans* obedece a três estágios (Figura 4). No primeiro estágio o ninho, recentemente fundado, é totalmente subterrâneo, frágil e contém um amplo núcleo orgânico. Nessa fase inicial, os ninhos são inteiramente cercados por um espaço vazio (“paraecio”) que separa sua parede periférica do solo circundante. No estágio 2, parte do ninho é subterrânea (hipógea) e só pequena parte fica acima da superfície do solo (epígea), mas já é possível observar a estrutura típica do ninho de *C. cumulans*. Além disso, o núcleo (centro celulósico) sobe para uma localização central do monte. O ninho continua a crescer com um aumento do volume da parte hipógea, mas bem menos que a parte epígea que ocupa a maior parte do ninho. No estágio 3 o ninho de *C. cumulans* apresenta um grande volume na parte epígea e uma pequena porção subterrânea, separados do solo pelo “paraecio”, que se liga ao exterior por muitas aberturas localizadas em torno da base do ninho.

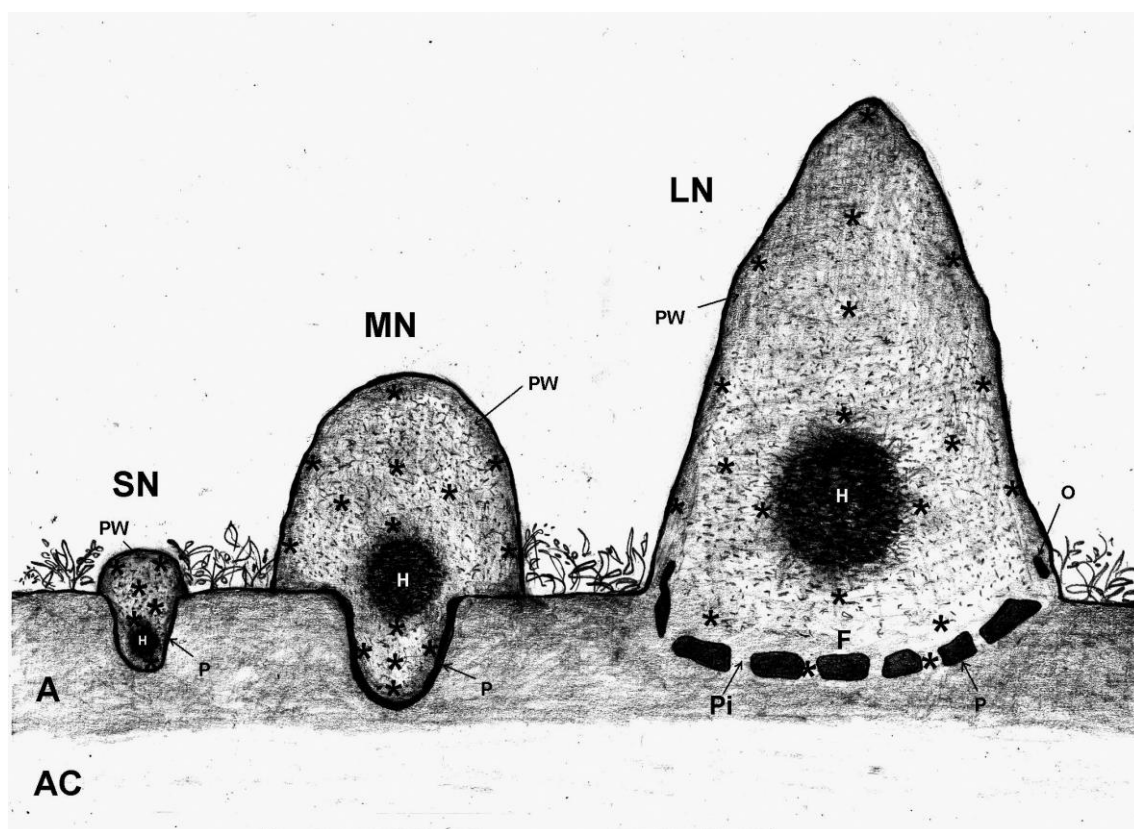


Figura 4 – Esquema representando os 3 estágios dos ninhos de *Cornitermes cumulans* e perfil do solo circundante (não em escala). SN, MN e LN – ninhos pequenos, médios e grandes, respectivamente; PW - parede periférica; H núcleo; Pi = pilares; O - abertura; P - “paraecio”; A e A-C - horizontes do solo (Cosarinsky, 2011).

*C. cumulans* constrói um sistema de túneis subterrâneos conectando o ninho ao alimento, ou seja, não forrageia a céu aberto (FONTES, 1998) e o tamanho da população de um ninho dessa espécie foi estimada entre 375.000 a 1.028.000 indivíduos (PEREIRA DA SILVA et al., 1979). De acordo com Noirot (1989) os operários de *C. cumulans* são todos machos.

O cupim *C. cumulans* é inserido no grupo ceifador (CONSTANTINO, 2015), ou seja, alimenta-se principalmente de folhas mortas e raízes de gramíneas (LIMA; COSTA-LEONARDO, 2007) que os operários coletam e levam para o ninho. Além disso, Milano e Fontes (2002) e Costa-Leonardo (2005) sugerem que, quando essa espécie come madeira, prefere madeiras que foram previamente decompostas por fungos como aquelas mantidas em contato com o solo.

Como a maioria dos cupins da família Termitidae, o desenvolvimento de *Cornitermes cumulans* apresenta dois ínstares de larva (larva 1 e larva 2) e 5 ínstares ninfais precedendo o imago ou alado. Existe uma bifurcação precoce que separa a linhagem imaginal da áptera após larva 1 (Figura 5).

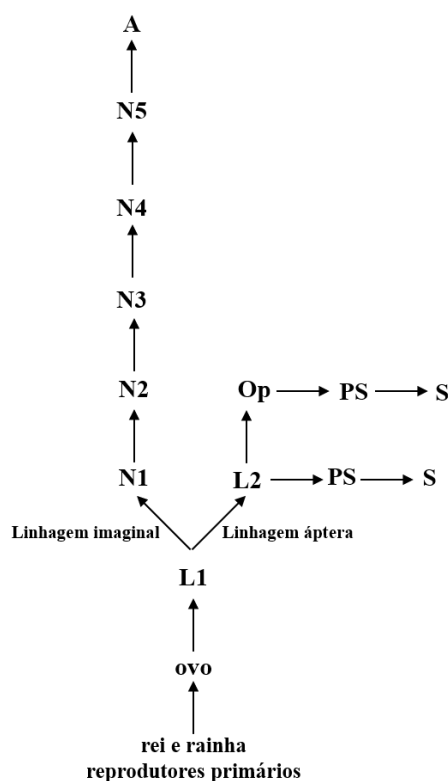


Figura 5. Esquema provável do desenvolvimento pós-embrionário de *Cornitermes cumulans* (baseado em ROISIN, 1992; 2000). L = larva; PS = pré-soldado; S = soldado; N = ninfa; Op = operário; A = reprodutor alado (imago).



A figura 6 ilustra o rei e a rainha de uma colônia inicial de *Cornitermes cumulans* cuidando de larvas.



Figura 6 – Colônia incipiente de *Cornitermes cumulans*. Casal de reprodutores cuidando das larvas. ♀ = rainha; ♂ = rei

#### 4 Referências bibliográficas

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

BADERTSCHER, S.; GERBER, C.; LEUTHOLD, R.H., Polyethism in food supply and processing in termite colonies of *Macrotermes subhyalinus* (Isoptera). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 12, p. 115–119, 1983.

BARSOZZI, R. C.; COSTA-LEONARDO, A. M. The caste system of *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 46, n. 1, p. 87 – 103, 2005.

BECCALONI, G.; EGGLETON, P. Order Blattodea. **Zootaxa**, v. 3703, p. 46–48, 2013.

BESHERS, S.N.; FEWELL, J.H. Models of division of labor in social insects. **Annual Review of Entomology**, 46, pp. 413–440, 2001.

CANCELLO, E. M. Revisão de *Cornitermes* Wasmann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitidae). Tese de doutorado, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989, 136p.

CHOUVENC, T.; SU, N.-Y. Colony age-dependent pathway in caste development of *Coptotermes formosanus* Shiraki, **Insectes Sociaux**, v. 61, p. 171 – 182, 2014.

CONSTANTINO, R. Padrões de diversidade e endemismo de térmitas no bioma cerrado. In SCARIOT, A.O.; SILVA, J.C.S.; FELFILI, J.M. (eds.). **Biodiversidade, ecologia e conservação do cerrado**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2005, pp. 319-333.

CONSTANTINO, R. **Cupins do Cerrado**. Technical Books, Rio de Janeiro, 167 p., 2015.

CONSTANTINO, R. *On-Line Termites Database*. Disponível em: <<http://www.unb.br/ib/zoo/docente/constant/catal/catnew.html>>. Acesso em: 10. abril. 2019.

COSARINSKY, M. I. The nest growth of the Neotropical mound-building termite, *Cornitermes cumulans*: A micromorphological analysis. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 122, p. 1 – 14, 2011.

COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-Praga: Morfologia, Biologia e Controle**. Costa-Leonardo, A. M. (Ed.), Rio Claro, 128 p., 2002.

COSTA-LEONARDO, A. M. Arquitetos das pastagens e beiras de estradas. **Ciência Hoje**, v. 36, n. 216, p. 62-65, 2005.

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

COSTA-LEONARDO, A.M.; BARSOTTI, R.C. CAMARGO-DIETRICH, C.R.R. Review and update on the biology of *Coptotermes havilandi* (Isoptera, Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 33, p. 339-356, 1999.

COSTA-LEONARDO, A.M.; ARAB, A.; HERTEL, H. Note about the first swarming in a laboratory colony of *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Sociobiology**, v. 45, n.1, p. 137-139, 2005.

CROSLAND, M.W.J.; LOK, C.M.; WONG, T.C.; SHAKARAD, M.; TRANIELLO, J.F.A. Division of labour in a lower termite: the majority of tasks are performed by older workers. **Animal Behaviour**, v. 54, p. 999–1012, 1997

EGGLETON, P. An Introduction to Termites: Biology, Taxonomy and Functional Morphology. In: Bignell D., Roisin Y., Lo N. (eds). **Biology of Termites: a Modern Synthesis**, p. 1 – 26, 2010.

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

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

FERNANDES, P. M.; CZEPAK, C.; VELOSO, V. R. S. Cupins de montículos em pastagens: prejuízo real ou praga estética? In: FONTES, L.R.; BERTI FILHO, E. **Cupins: o desafio do conhecimento**. Piracicaba: FEALQ, 1998, pp. 187-210

FONTES, L. R. Cupins nas pastagens do Brasil: algumas indicações de controle. In: FONTES, L.R.; BERTI-FILHO, E. (eds.), **Cupins: o desafio do conhecimento**, Piracicaba: FEALQ, 512 p., 1998

FONTES, L.R.; ARAÚJO, R.L. Os cupins. In: MARICONI, F.A.M. (Cord). **Insetos e outros invasores de residências**. Piracicaba, SP: FEALQ, v.6, p. 35-90, 1999.

KORB, J. Workers of a drywood termite do not work. **Frontiers in Zoology**, v. 4, n.7 p. 1–7, 2007.

KORB, J. The Ecology of Social Evolution in Termites. In: KORB, J.; HEINZE, J. **Ecology of Social Evolution**, p. 151-174, 2008.

KORB, J.; BUSCHMANN, M.; SCHAFBERG, S.; LIEBIG, J.; BAGNÈRES, A. G. Brood care and social evolution in termites. **Proceedings. Biological sciences Royal Society**, v. 279, p. 2662–2671, 2012

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**, n. 377, 2704 pp., 2013.

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

LELIS, A.T.A. A nest of *Coptotermes havilandi* (Isoptera, Rhinotermitidae) off ground level, foun in the 20<sup>th</sup> story of a buildig in the city of São Paulo, Brazil. **Sociobiology**, v.26, p. 241-245, 1995.

LIMA, J.T., COSTA-LEONARDO, A.M. Recursos alimentares explorados pelos cupins. **Biota Neotropica**, Campinas, v. 7, n. 2, p. 243-250, 2007.

MACHIDA, M.; MIURA, T.; KITADE, O.; MATSUMOTO, T. Sexual polyethism of founding reproductives incipient colonies of the japanese dump wood *Hodotermopsis japonica* (Isoptera: Termopsidae). **Sociobiology**, v. 38, p. 501-513, 2001.

MAO, L.; HENDERSON, G. A case for a free-running circannual rhythm in soldier developmental time of Formosan subterranean térmites. **Insectes Sociaux**, v. 54, p. 388 – 392, 2007.

MARTINS, C.; FONTES, L. R.; BUENO, O. C.; MARTINS, V. G. *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae) in Brazil: possible origins inferred by mitochondrial cytochrome oxidase II gene sequences. **Genome**, v. 53, n. 9, p. 651-657, 2010.

MCMAHAN, E.A. Feeding relationships and radioisotope techniques. In KRISHNA, K., WEESNER, F.M. (eds.), **Biology of Termites**, Vol. 1, Academic Press, New York, pp. 387-406, 1969.

MAEKAWA, K., NAKAMURA, S., AND WATANABE, D. Termite soldier differentiation in incipient colonies is related to parental proctodeal trophallactic behavior. **Zoological Science**, v. 29, p. 213–217, 2012

MILANO, S.; FONTES, L.R. **Cupim e cidade. Implicações ecológicas e controle**. Conquista Artes Gráficas, São Paulo, 2002, 141p.

MIURA, T.; ROISIN, Y.; MATSUMOTO, T. Developmental pathway and polyethism of neuter castes in the processional Nasutetermite *Hospitalitermes medioflavus* (Isoptera: Termitidae). **Zoological Science**, v. 15, p. 843-848, 1998.

NOIROT, C. Social structure in termite societies. **Ethology Ecology & Evolution**, v.1, p. 1-17, 1989.

NOIROT, C.H. Formation of castes in higher termites. In KRISHNA, K., WEESNER, F.M. (eds.), **Biology of Termites**, Vol. 1, Academic Press, New York, pp. 311-350, 1969.

NOIROT, C. Caste differentiation in Isoptera: basic features, role of pheromones. **Ethology Ecology and Evolution**, v. 3, p. 3–7, 1991.

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.

OSTER, G.F.; WILSON, E. **Caste and ecology in the social insects**. Princeton University Press, Princeton (New Jersey), 1978.

PAJNI, H. R.; ARORA C.B. Polymorphism and polyethism in *Coptotermes heimi* (Rhinotermitidae: Isoptera). In: VEERESH, G.K.; MALLIK, B.; VIRAKTAMATH, C.A., (eds), **Social Insects and the Environment**, Oxford & IBH Publ. Co., New Delhi, pp 337–338, 1990

PEREIRA DA SILVA, V.; FORTI, L. C.; ISHIKAWA, R.; BARROS, M. F. Dinâmica populacional de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera, Termitidae) na região de Botucatu, SP. Resumo in Jornada científica da associação dos docentes do Campus Botucatu, Unesp, 1979

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

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

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

ROISIN, Y. Diversity and evolution of caste patterns. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (eds). **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands, p. 95–119, 2000.

ROSENGAUS, R. B.; TRANIELLO, J. F. A. Biparental care in incipient colonies of the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Hagen) (Isoptera: Termopsidae). **Journal Insect Behavior**, v. 4, p. 633–648, 1991.

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

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

SHELLMAN-REEVE, J. S. Dynamics of biparental care in the dampwood termite, *Zootermopsis nevadensis* (Hagen): response to nitrogen availability. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 26, p. 389-397, 1990.

SHELLMAN-REEVE, J. S. Advantages of biparental care in the wood-dwelling termite, *Zootermopsis nevadensis*. **Animal Behaviour**, v. 54, p. 163–170, 1997.

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

SU, N.-Y.; SCHEFFRAHN, R.H. A review of subterranean termite control practices and prospects for integrated pest management programmes termites. **International Pest Management Review**, v. 3, p. 1-13, 1998.

TARVER, M. R., SCHMELZ, E. A., AND SCHARF, M. E. (2011). Soldier caste influences on candidate primer pheromone levels and juvenile hormone-dependent caste differentiation in workers of the termite *Reticulitermes flavipes*. **Journal of Insect Physiology**, v. 57, p. 771–777, 2011.

THORNE, B. L. Termite terminology. **Sociobiology**, v. 28, p. 253-263, 1996

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

WATANABE, D.; GOTOH, H. MIURA, T.; MAEKAWA, K. Social interactions affecting caste development through physiological actions in termites. **Frontiers in Biology**, v. 5, n. 127, p. 1 - 12, 2014

WATSON, J.A.L; MACMAHAN, E.A. Polyethism in the Australian harvester Termite *Drepanotermes* (Isoptera, Termitinae). **Insectes Sociaux**, v. 25, n. 1, p. 53-62, 1978.

WHITMAN, J.G. Observations of behaviors in the worker caste of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) (Isoptera: Rhinotermitidae). Tese de doutorado, 2006.

## CAPÍTULO 1

“Cuidado biparental em cupins utilizando *Coptotermes gestroi* e *Cornitermes cumulans* como modelos (Blattaria, Isoptera, Rhinotermitidae, Termitidae)”

## 1 Resumo

A evolução do cuidado parental representa um avanço na adaptação dos organismos ao seu ambiente e o cuidado biparental é uma importante estratégia para a sobrevivência dos insetos. Nos insetos sociais, como os cupins, o cuidado com ovos e a alimentação dos imaturos é tarefa dos operários, no entanto, no início da fundação de uma nova colônia, o cuidado com a prole é realizado pelo casal real. A divisão de tarefas, incluindo cuidado com ovos e imaturos, entre os operários é bem conhecida e estudada, porém, são bastante escassos o estudo deste comportamento em reprodutores. Por meio de estudos comportamentais, o presente projeto objetivou compreender a divisão de trabalho dos reprodutores em relação aos cuidados com os ovos e larvas tanto na espécie exótica *Coptotermes gestroi*, como na espécie nativa *Cornitermes cumulans*. Assim, esses estudos envolveram colônias incipientes das duas espécies que foram filmadas, durante o período que antecede o aparecimento dos operários, e avaliados os comportamentos com cuidados com ovos e larvas. Os resultados mostraram que o cuidado com os ovos foi realizado igualmente pelo rei e rainha na espécie *C. gestroi*. Contudo, em *C. cumulans* a rainha investiu significativamente mais que o rei na atividade de “grooming” dos ovos. Quanto ao cuidado com as larvas, os dados indicam diferenças significativas entre reis e rainhas nos comportamentos de “grooming”, trofalaxia estomodeal e trofalaxia proctodeal em *C. gestroi*. Adicionalmente, a rainha da referida espécie investiu mais em trofalaxia do que o rei e a trofalaxia proctodeal como doador foi realizada somente pela rainha. Para *C. cumulans* o cuidado com os imaturos não apresentou diferença entre os reprodutores, mostrando ausência de polietismo sexual. O cuidado biparental com os ovos e larvas é importante pois aumenta a sobrevivência da prole durante o estabelecimento de novos ninhos, contudo, existem diferenças de polietismo entre as espécies que parecem estar ligados a biologia das mesmas, incluindo tipo de ninho e forrageamento.



## 2 Introdução

A evolução do cuidado parental representa um avanço extraordinário na adaptação dos organismos ao seu ambiente e é um importante comportamento na vida de muitos vertebrados e invertebrados (TALLAMY, 1984). O aumento da aptidão da prole é uma compensação do cuidado parental e pode ser um excelente exemplo do altruísmo que melhora as condições dos filhos às custas dos pais (HAMILTON, 1964; SMISETH et al., 2012; WONG et al., 2013). Antigamente, as teorias sobre cuidado parental foram aplicadas quase exclusivamente aos vertebrados, porém, o comportamento eussocial de alguns insetos sociais tem gerado um maior interesse sobre o tema (TALLAMY, 1984). O cuidado biparental é uma importante estratégia de sobrevivência para os insetos, mas este tipo de cuidado só foi descrito em três ordens: Blattaria, Coleoptera e Hymenoptera (O'WOMA et al., 2016).

Os cupins são baratas sociais que pertencem a ordem Blattaria, infraordem Isoptera e são considerados grupo irmão das baratas Cryptocercidae que se alimentam de madeira (KRISHNA et al., 2013). A maioria das baratas mostra alguma forma de cuidado parental apresentando um comportamento de cuidado com ovos e imaturos, fornecendo alimento e garantindo a sobrevivência, o crescimento e o desenvolvimento desses jovens (TALLAMY; WOOD, 1986; CLUTTON-BROCK, 1991; BELL et al., 2007). As baratas que se alimentam de madeira formam ninhos dentro do alimento, que é constituído por troncos úmidos e podres. Esse tipo de nidificação facilita o cuidado com os jovens e garante a cooperação dos pais, ou seja, o cuidado biparental. A alimentação em madeira favoreceu o investimento paterno tanto nas baratas das subfamílias Panesthiinae e Cryptocercinae como também nos besouros da família Passalidae e subfamília Scolytinae (TALLAMY; WOOD, 1986; TALLAMY, 1994; BELL et al., 2007).

A infraordem Isoptera é formada por 9 famílias, mas só 4 delas ocorrem no Brasil: Kalotermitidae, Serritermitidae, Rhinotermitidae e Termitidae (ENGEL, 2011; KRISHNA et al., 2013).

A família Rhinotermitidae agrupa espécies pragas que causam grande impacto econômico em ambientes urbanos, incluindo a espécie *Coptotermes gestroi*, comumente conhecida como cupim subterrâneo asiático. Essa espécie é nativa do Sudeste Asiático e foi introduzida pelo homem em muitas regiões fora da sua área de origem. Esse inseto é uma importante espécie-praga de estruturas em edificações, tanto na sua área de distribuição natural (YEAP et al., 2007; LEE, 2007) quanto nas regiões onde foi introduzido pelo homem

(JENKINS et al., 2007). Segundo Scheffrahn e Su (2011), disseminações por navios é o meio mais provável da introdução do cupim *C. gestroi* em novas áreas e foi o que provavelmente aconteceu na década de vinte no Rio de Janeiro e Santos, locais de primeiro registro da espécie no Brasil. Cupins subterrâneos, como *C. gestroi*, são xilófagos, ou seja, atacam madeira e outros materiais celulósicos em áreas urbanas e por isso são importantes do ponto de vista econômico. Esse cupim exótico causa grande prejuízo econômico em áreas urbanas da região sudeste do Brasil (LELIS, 1994).

A família Termitidae é a mais numerosa e diversificada, apresentando várias espécies com ocorrência exclusiva na região neotropical (OHKUMA et al, 2004). O gênero *Cornitermes* é endêmico da região neotropical e ocorre em todas as regiões de Cerrado do Brasil (CONSTANTINO, 2015). *Cornitermes cumulans* é uma espécie nativa, pertencente a subfamília Syntermitinae, que é comum e bem-sucedida em pastagens, culturas e cerrados do Brasil, assim como no Paraguai e Argentina (ARAÚJO, 1970; REDFORD, 1984). No Brasil, *C. cumulans* é a espécie mais frequente nas regiões sul e sudeste e no Mato Grosso do Sul (CANCELLO, 1989; FERNANDES et al., 1998), e pode ser considerada uma espécie-chave devido a sua grande abundância e impacto sobre o ambiente (REDFORD, 1984; CONSTANTINO, 2005).

Nos insetos sociais, como os cupins, o cuidado com ovos e a alimentação dos imaturos é tarefa dos operários, sendo que a função dos reprodutores é somente a reprodução (THORNE, 1996; COSTA-LEONARDO, 2002). No entanto, no início da fundação de uma nova colônia, o cuidado com a prole é realizado pelo casal real (ROSENGAUS; TRANIELLO, 1991; CHOUVENC; SU, 2017). O estágio inicial de uma colônia é o período mais crucial no desenvolvimento da mesma, pois ocorre uma grande mortalidade antes do aparecimento dos primeiros operários (OSTER; WILSON, 1978; MATSUURA; KOBAYASHI, 2010). A divisão de tarefas, incluindo cuidado com ovos e imaturos, entre os operários é bem conhecida e estudada, porém, são bastante escassos o estudo desse comportamento em reprodutores. Em vista do exposto, este estudo objetivou entender o cuidado dos reprodutores com os ovos e larvas no início de colônias dos cupins *Coptotermes gestroi* e *Cornitermes cumulans*.

### 3 Material e Métodos

#### 3.1 Cupins e formação de colônias

**Insetos:** Para este estudo foram utilizados reis e rainhas de colônias incipientes de *Coptotermes gestroi* (Wasmann, 1896) e de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) formadas e mantidas no laboratório de cupins da Unesp – Rio Claro - SP.

#### **Formação de colônias em laboratório:**

- Colônias de *Coptotermes gestroi*: reprodutores alados de *C. gestroi* foram coletados nos meses de agosto e setembro de 2016 e 2017 em revoadas provenientes de vários bairros da cidade de Rio Claro/SP. Durante a coleta esses reprodutores foram armazenados em recipientes com papel toalha úmido e logo depois levados para o laboratório onde foram sexados sob estereomicroscópio (Figura 1A). Machos e fêmeas foram pareados e dispostos em placas de Petri plásticas de 6 cm de diâmetro. Essas placas foram previamente preenchidas com serragem de *Pinus* sp. envelhecida e umedecida, e após a introdução do casal real mantidas em sala escura com temperatura de  $25 \pm 3$  °C.

- Colônias de *Cornitermes cumulans*: reprodutores alados de *C. cumulans* foram coletados nos dias 12 e 14 de outubro de 2016 em revoadas na cidade de Taubaté/SP e no Campus da Unesp Rio Claro (Rio Claro/SP), respectivamente. Durante a coleta esses reprodutores foram armazenados em recipientes com papel toalha úmido e logo depois levados para o laboratório onde foram sexados sob estereomicroscópio (Figura 1B). Machos e fêmeas foram pareados e dispostos em placas de Petri plásticas de 9 cm de diâmetro. Essas placas foram previamente preenchidas com serragem de *Pinus* sp. envelhecida e umedecida, e após a introdução do casal real mantidas em sala escura com temperatura de  $25 \pm 3$  °C.

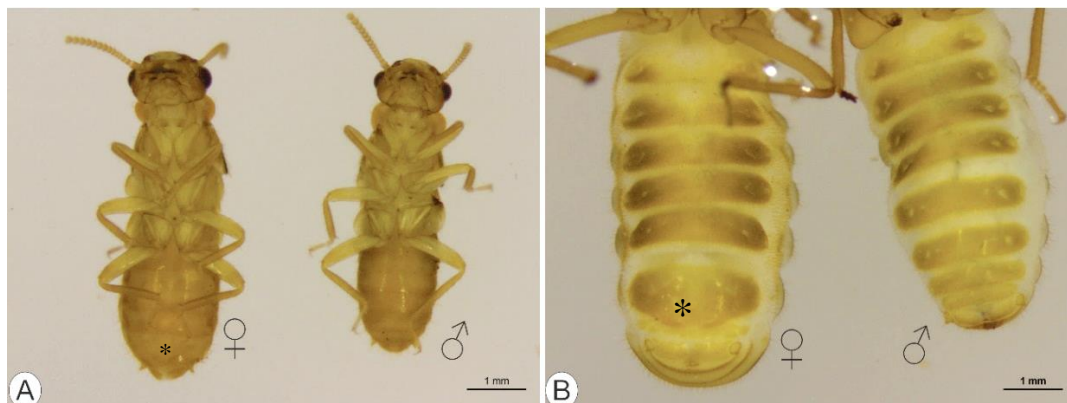


Figura 1. A. Fêmea e macho alados de *Coptotermes gestroi*. B. Vista ventral dos abdômens de fêmea e macho alados de *Cornitermes cumulans*. As asas foram retiradas para uma melhor visualização. Observar que o 7º esternito é mais alargado nas fêmeas (\*) e que os alados de *C. cumulans* são bem maiores que os de *C. gestroi*.

### 3.2 Estudos comportamentais

Nos estudos comportamentais com *C. gestroi* foi utilizado o tamanho das antenas para diferenciar a rainha do rei, uma vez que ocorre mutilação antenal nessa espécie. Após a revoada, no início da formação da colônia de alguns cupins mais basais, ocorre sempre uma mutilação antenal, onde parte da antena distal é retirada, em um ou ambos os reprodutores. O dimorfismo sexual e o tamanho dos reprodutores em *C. cumulans* permitiu uma fácil diferenciação entre reis e rainhas.

**Cuidado parental com os ovos:** Após a postura dos ovos, o comportamento de cuidados com os mesmos desempenhados pelo rei e pela rainha (cuidado biparental) foram avaliados e comparados tanto em colônias de laboratório de *C. gestroi* como de *C. cumulans*. As atividades comportamentais computadas nas análises foram: toque com antenas, toque com mandíbulas, “grooming”, transporte e movimento vibratório antero-posterior (Tabela 1). As outras atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores que não tinham relação com o ovo não foram levadas em consideração. Para a avaliação do comportamento parental de cuidado com os ovos, as colônias foram observadas por um período de 10 minutos utilizando uma câmera Sony Full-HD, sendo que foram computadas a frequência e a duração das atividades comportamentais. Antes de serem filmadas, as colônias ficavam 5 minutos para aclimatação na área de filmagem. O cuidado parental com ovos foi conduzido com 30 colônias diferentes de

*C. gestroi* e com 20 colônias de *C. cumulans*. Durante os dois meses de desenvolvimento dos ovos, foram selecionadas ao acaso, 10 colônias de cada espécie por dia de filmagem.

Tabela 1 - Classificação dos comportamentos realizados pelos reprodutores com os ovos

<b>Comportamento</b>	<b>Definição</b>
Transporte	Mudar os ovos de lugar utilizando peças bucais
“Grooming”	Pegar o ovo com as peças bucais e com a ajuda dos palpos gira-lo depositando saliva ou introduzir o ovo na boca para lambar.
Toque com as peças bucais	Tocar o ovo com as peças bucais
Toque com antenas	Quando o reprodutor toca o ovo com as antenas
Movimento vibratório do corpo	Movimento vibratório antero-posterior após toque do ovo com as peças bucais

**Cuidado parental com larvas:** Após a eclosão das larvas, o comportamento de cuidados com as mesmas pelo rei e rainha foram avaliados e comparados em colônias de laboratório de *C. gestroi* e *C. cumulans*, até o aparecimento do primeiro operário, quando foram cessadas as observações. As atividades comportamentais avaliadas foram: toque com mandíbulas, “grooming”, transporte, trofalaxia estomodeal, trofalaxia proctodeal e movimento vibratório antero-posterior (Tabela 2). As outras atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores que não tinham relação com as larvas não foram computadas. Para a avaliação do comportamento parental de cuidado com larvas, as colônias foram observadas por períodos de 10 minutos, utilizando uma câmera Sony Full-HD, sendo que a frequência e a duração das atividades comportamentais foram computadas. Antes de serem filmadas, as colônias ficavam 5 minutos para aclimatação na área de filmagem. O cuidado parental com larvas foi conduzido com 25 colônias diferentes de *C. gestroi* e com 20 colônias de *C. cumulans*. Durante os 40 dias de desenvolvimento das larvas, foram selecionadas ao acaso, 10 colônias de cada espécie por dia de filmagem. Os íntares larvais (larva 1 e larva 2) não foram discriminados durante as observações de cuidado com as larvas.

Tabela 2 - Classificação dos comportamentos realizados pelos reprodutores com as larvas

<b>Comportamento</b>	<b>Definição</b>
Transporte	Mudar as larvas de lugar utilizando as peças bucais
“Grooming”	Lamber a larva com peças bucais
Toque com as peças bucais	Tocar a larva com peças bucais
Trofalaxia proctodeal como receptor	O reprodutor ingere fluido via região anal da larva
Trofalaxia proctodeal como doador	O reprodutor fornece fluido via região anal para uma larva
Trofalaxia estomodeal	Quando ocorre troca de fluido via região oral entre dois indivíduos
Movimento vibratório do corpo	Movimento vibratório antero-posterior após contato com a larva
Retirada de exúvia	Quando o reprodutor limpa uma larva em muda retirando partes da exúvia

### 3.3 Análise estatística

Os dados obtidos foram avaliados por um teste de normalidade e homogeneidade de Shapiro Wilk ( $\alpha = 0,05$ ), como as amostras não apresentaram distribuição normal foram realizados testes não-paramétricos. Os resultados das atividades comportamentais realizadas pelo rei e pela rainha foram submetidos ao teste de Mann-Whitney. Além disso, esses dados das atividades comportamentais desenvolvidos pelos reprodutores também foram avaliados por meio do teste de Friedman. Para todas as análises o nível de significância ( $\alpha$ ) adotado foi de 0,05 (AYRES et al., 2007).

## 4 Resultados

### 4.1 Cuidado parental com ovos em *Coptotermes gestroi*

Os resultados do monitoramento de 30 colônias incipientes de *C. gestroi* estão dispostos na tabela 3. A observação dessas colônias mostrou que o transporte de ovos foi a atividade comportamental que mais tempo requisitou de ambos os reprodutores (Figuras 2 e 3). O rei despendeu mais tempo que a rainha nessa atividade, porém este não foi significativamente diferente daquele despendido pela rainha, assim como a frequência desse comportamento ( $P > 0,05$ ).

O “grooming”, que corresponde ao comportamento de lamber os ovos, foi uma atividade realizada pelos dois reprodutores e como não existe diferença significativa na frequência e no tempo ( $P > 0,05$ ) que ambos levaram para realizar essa atividade comportamental, pode-se dizer que o casal contribuiu igualmente no referido cuidado.

A atividade de tocar o ovo com a boca foi muito frequente nas observações dos reprodutores e os resultados também não mostraram diferença significativa na frequência e no tempo que o casal desenvolveu essa tarefa ( $P > 0,05$ ). O toque dos ovos com as antenas e a realização do movimento vibratório do corpo não foram atividades muito frequentes, sendo que as análises não mostraram diferença significativa quanto a frequência e tempo ( $P > 0,05$ ) quando se compara reis e rainhas.

Tabela 3 – Etograma das atividades comportamentais realizadas pelos reis e rainhas em 30 colônias de *Coptotermes gestroi*.

Atividades comportamentais	Rei		Rainha	
	Frequência	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)
Transporte	154	2791	123	1594
“Grooming”	92	514	68	575
Toque com as peças bucais	106	137	98	141
Toque com as antenas	8	8	4	4
Movimento vibratório do corpo	5	5	7	7

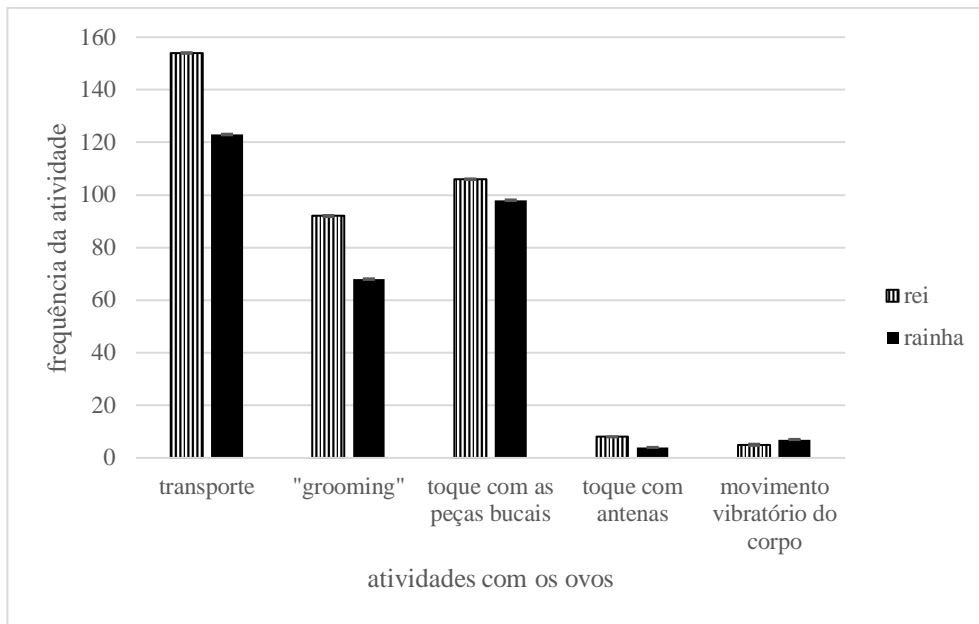


Figura 2 – Soma e erro padrão da frequência das diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Coptotermes gestroi* com ovos.

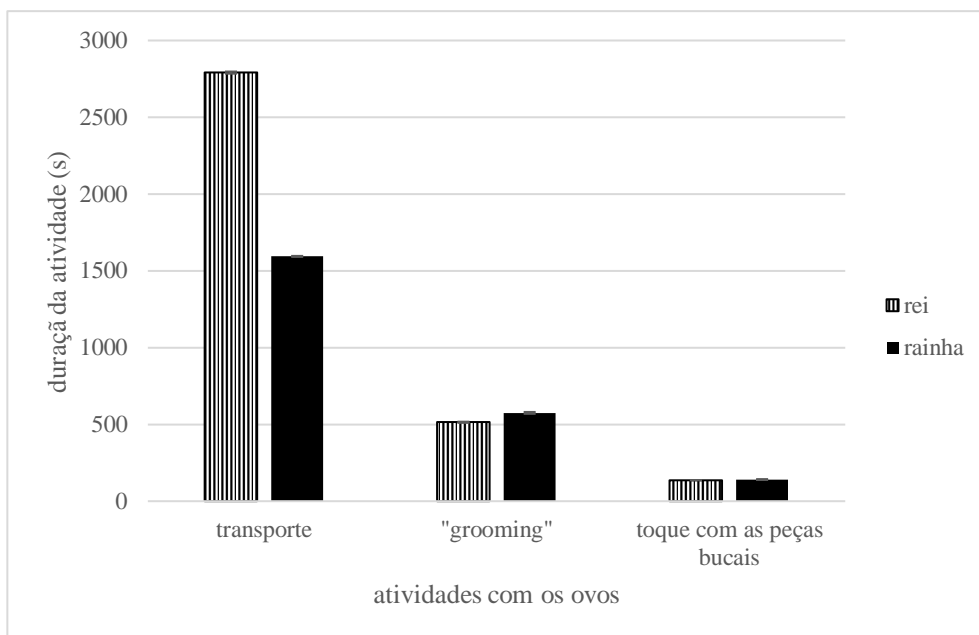


Figura 3 – Soma e erro padrão do período despendido em diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Coptotermes gestroi* com os ovos.

As atividades comportamentais que o rei realizou mais vezes e despendeu mais tempo foram transporte, “grooming” e toque com a boca. A frequência com que o rei realizou essas atividades não foram significativamente diferentes entre elas ( $Fr^2 = 4,7037$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,0952$ ). Contudo, o tempo que o rei gastou realizando cada comportamento mostrou diferença



significativa ( $Fr^2 = 64,5833$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 4). O transporte de ovos foi a atividade que o rei despendeu mais tempo para realizar e esse foi significativamente diferente do tempo que ele usou com as atividades de “grooming” ( $R = 52,5$ ,  $P < 0,05$ ) e o toque com a boca ( $R = 82,5$ ,  $P < 0,05$ ). Além disso, o rei passou 514 segundos do tempo observado realizando “grooming” no ovo, que foi significativamente diferente do tempo de 137 segundos gastos com a atividade de tocar o ovo com a boca ( $R = 30$ ,  $P < 0,05$ ).

As atividades comportamentais que a rainha realizou mais vezes e despendeu mais tempo foram transporte, “grooming” e toque com a boca. A frequência com que a rainha realizou essas atividades não foram significativamente diferentes entre elas ( $Fr^2 = 1,75$ ,  $gl = 2$ ,  $P = 0,4169$ ). Contudo, o tempo que a rainha gastou realizando cada comportamento apresentou diferença significativa ( $Fr^2 = 58,369$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ). O transporte de ovos foi a atividade em que a fêmea despendeu mais tempo realizando e foi significativamente diferente do tempo que ela usou para o “grooming” ( $R = 33,5$ ;  $P < 0,05$ ) e o toque com a boca ( $R = 70$ ,  $P < 0,05$ ). Além disso, a rainha passou 575 segundos do tempo observado realizando “grooming” no ovo e, este tempo foi significativamente diferente daquele de 141 segundos que a rainha gastou com a atividade de tocar o ovo com a boca ( $R = 36,5$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura 5)

O rei despendeu 3455 segundos, ou seja, 4,6% do tempo observado cuidando dos ovos e a rainha gastou 2321 segundos (3,10%) do tempo cuidando dos ovos. No restante do tempo os reprodutores foram observados reparando o ninho, realizando trofalaxia entre eles, “grooming” no parceiro (“allogrooming”) ou “grooming” neles mesmos (“self-grooming”).

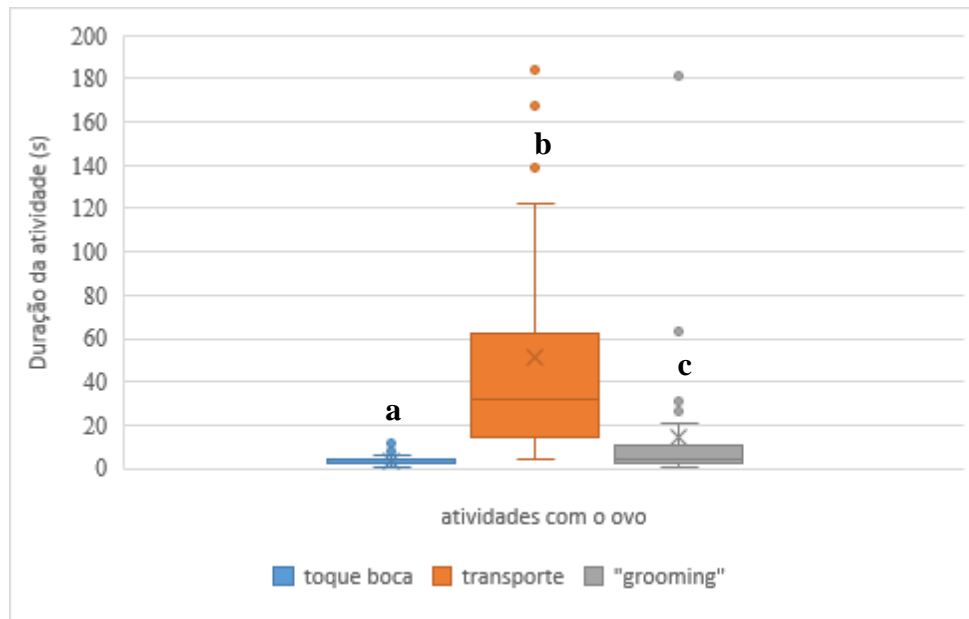


Figura 4 – Atividades comportamentais de maior duração realizadas pelo rei de *Coptotermes gestroi* com os ovos. Letras diferentes indicam diferenças significativas.

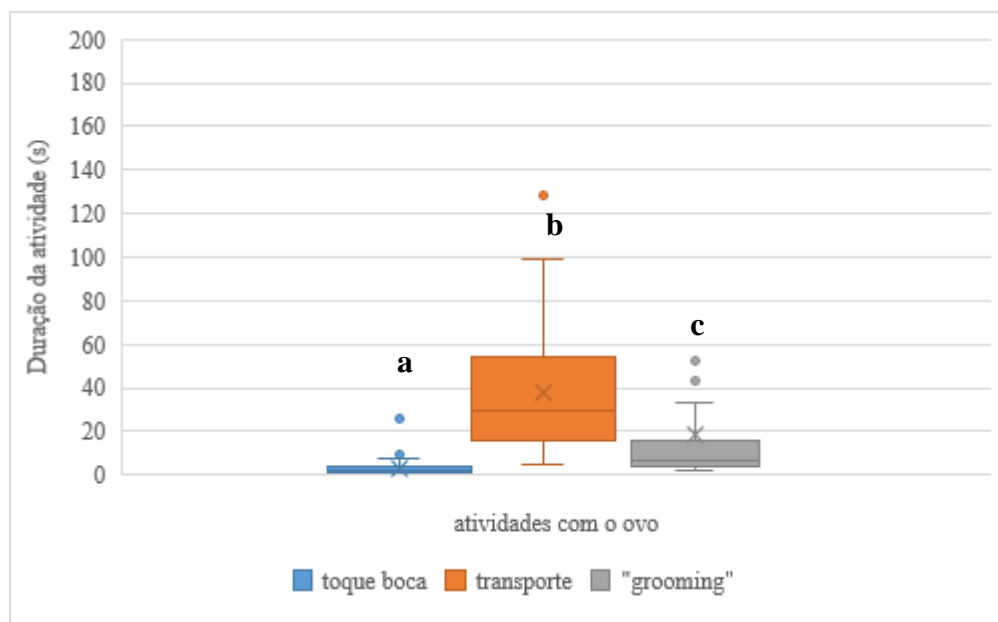


Figura 5 – Atividades comportamentais de maior duração realizadas pela rainha de *Coptotermes gestroi* com os ovos. Letras diferentes indicam diferenças significativas.

## 4.2 Cuidado parental com ovos em *Cornitermes cumulans*

A tabela 4 mostra todas as atividades comportamentais, assim como a frequência e duração das mesmas obtidas após observação de 20 colônias incipientes de *C. cumulans*. A atividade comportamental que demandou mais tempo dos reis e rainhas desse cupim foi o “grooming” (Figuras 6, 7 e 8). A rainha despendeu mais tempo que o rei nesta atividade sendo o resultado significativamente diferente entre os reprodutores ( $U = 3176$ ;  $P = 0,0225$ ), assim como a frequência desse comportamento ( $U = 3131$ ;  $P = 0,0158$ ).

Tabela 4 – Etograma das atividades comportamentais realizadas pelos reis e rainhas em 20 colônias de *Cornitermes cumulans*.

Atividades comportamentais	Rei		Rainha	
	Frequência	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)
Transporte	124	2194	98	1215
“grooming”	268	3530	441	6317
Toque com as peças bucais	85	149	82	128
Toque com antenas	10	31	13	30
Movimento vibratório do corpo	17	19	13	13

O transporte dos ovos foi a segunda atividade mais realizada pelos reis e rainhas de *C. cumulans* e os resultados não mostram diferença significativa na frequência e no tempo ( $P > 0,05$ ) que ambos reprodutores levaram para realizar essa atividade comportamental.

O toque dos ovos com a boca, com as antenas e a realização do movimento vibratório do corpo não foram atividades desempenhadas com muita frequência pelos reprodutores, sendo que os resultados estatísticos também não mostram diferença significativa na frequência e no tempo desses comportamentos ( $P > 0,05$ ).

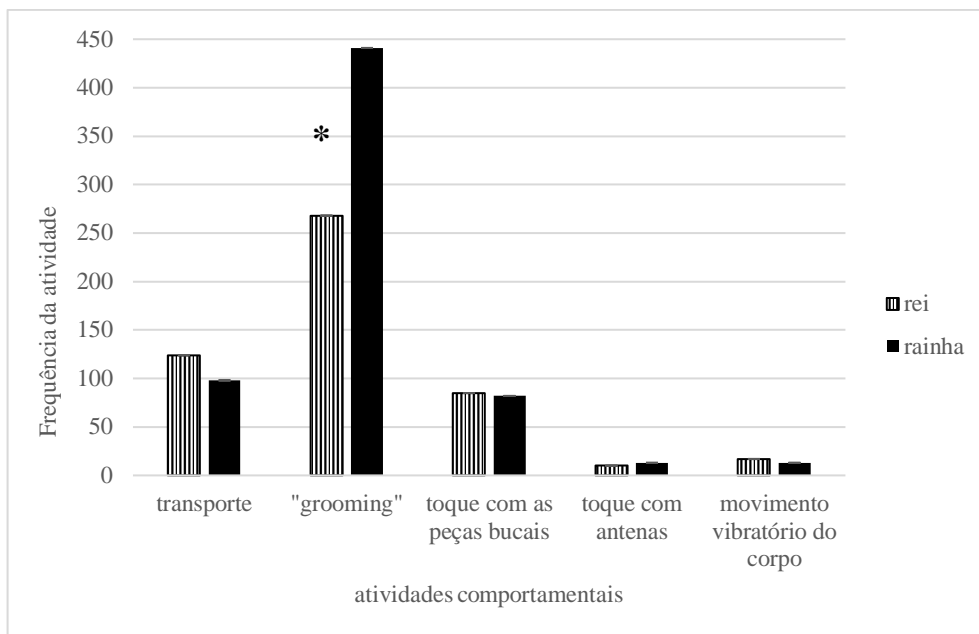


Figura 6 – Soma e erro padrão da frequência das diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Cornitermes cumulans* com os ovos. Asterisco (\*) indica diferença estatística significativa entre os reprodutores.

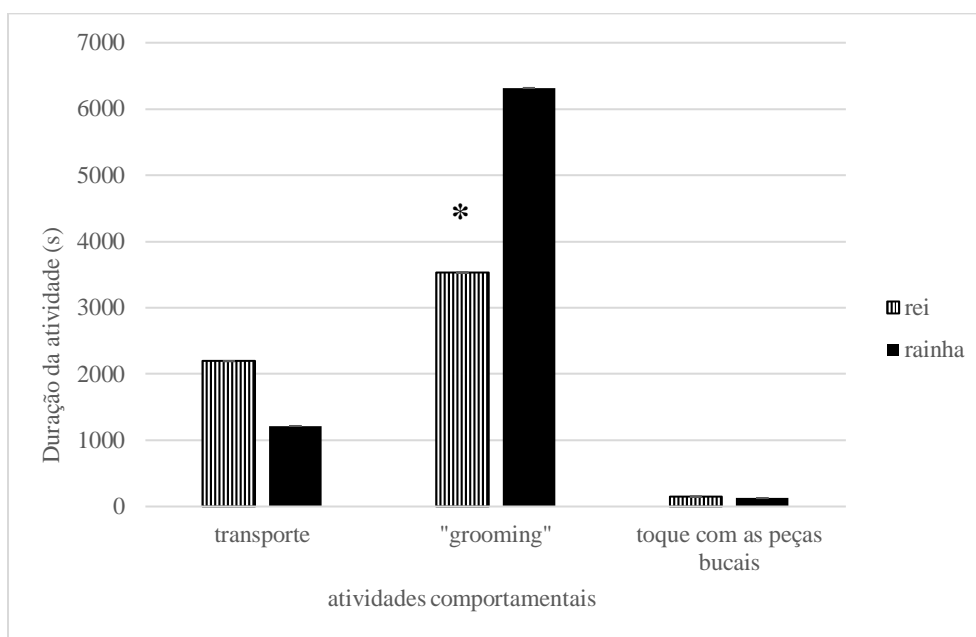


Figura 7 – Soma e erro padrão do período dispendido em diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Cornitermes cumulans* com os ovos. Asterisco (\*) indica diferença estatística significativa entre os reprodutores.

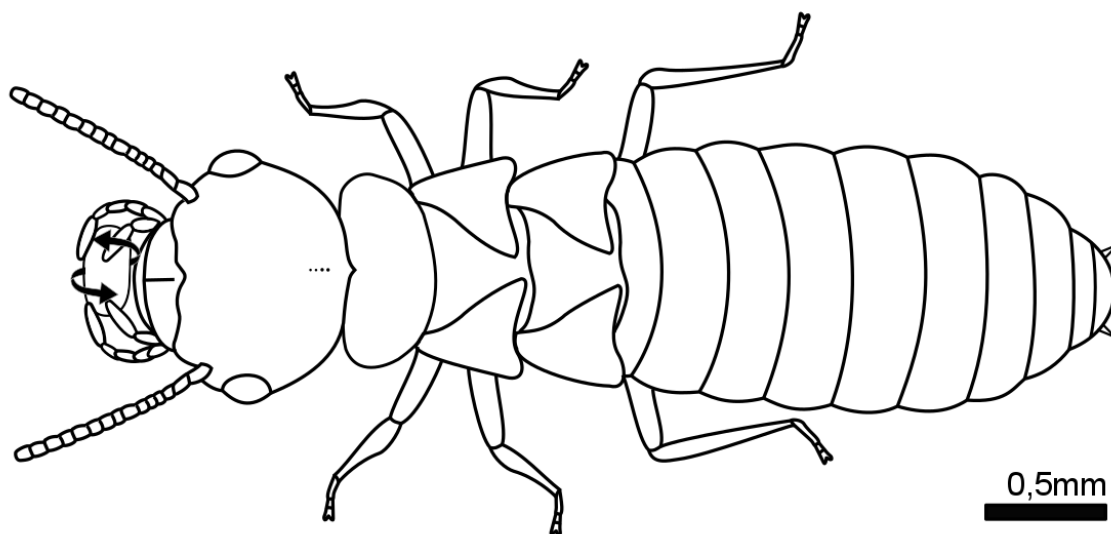


Figura 8 – Esquema de um rei desenvolvendo a atividade de “grooming” com o ovo em uma colônia incipiente de *Cornitermes cumulans*. Ilustração: Iago Bueno da Silva

As atividades comportamentais que o rei realizou mais vezes e gastou mais tempo foram “grooming”, transporte e toque com a boca. A frequência do comportamento de “grooming” foi significativamente maior ( $Fr^2 = 16,8051$ ;  $gl = 2$ ;  $P = 0,0002$ ) que a frequência dos comportamentos de transporte ( $R = 30$ ,  $P < 0,05$ ) e toque com a boca ( $R = 43,5$ ;  $P < 0,05$ ). O tempo que o rei despendeu realizando o comportamento de “grooming” foi significativamente maior que aquele despendido na realização do toque com a boca ( $Fr^2 = 88,2887$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ) (Figura 9).

As atividades comportamentais que a rainha realizou mais vezes e despendeu mais tempo foram “grooming”, transporte e toque com a boca. A frequência do comportamento de “grooming” foi significativamente maior ( $Fr^2 = 36,5833$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ) que a frequência dos comportamentos de transporte ( $R = 54$ ,  $P < 0,05$ ) e toque com a boca ( $R = 69$ ;  $P < 0,05$ ). O tempo que a rainha gastou realizando cada comportamento apresentou diferença significativa ( $Fr^2 = 105,7569$ ;  $gl = 2$ ;  $P < 0,0001$ ). O “grooming” foi a atividade em que a fêmea despendeu mais tempo realizando e foi significativamente diferente do tempo que ela usou para o transporte ( $R = 39,5$ ;  $P < 0,05$ ) e o toque com a boca ( $R = 121$ ,  $P < 0,05$ ). Além disso, a rainha passou 1215 segundos do tempo observado realizando o transporte de ovos e, este tempo foi significativamente diferente daquele de 128 segundos que a rainha gastou com a atividade de tocar o ovo com a boca ( $R = 81,5$ ;  $P < 0,05$ ) (Figura 10).

Portanto, o rei despendeu 5923 segundos, ou seja, 9,87% do tempo observado cuidando dos ovos, enquanto a rainha despendeu 7703 segundos (12,83%). No restante do tempo os reprodutores foram observados realizando outras atividades como: reparo do ninho, trofalaxia

entre eles, “grooming” no parceiro (“allogrooming”) ou “grooming” neles mesmos (“self-grooming”).

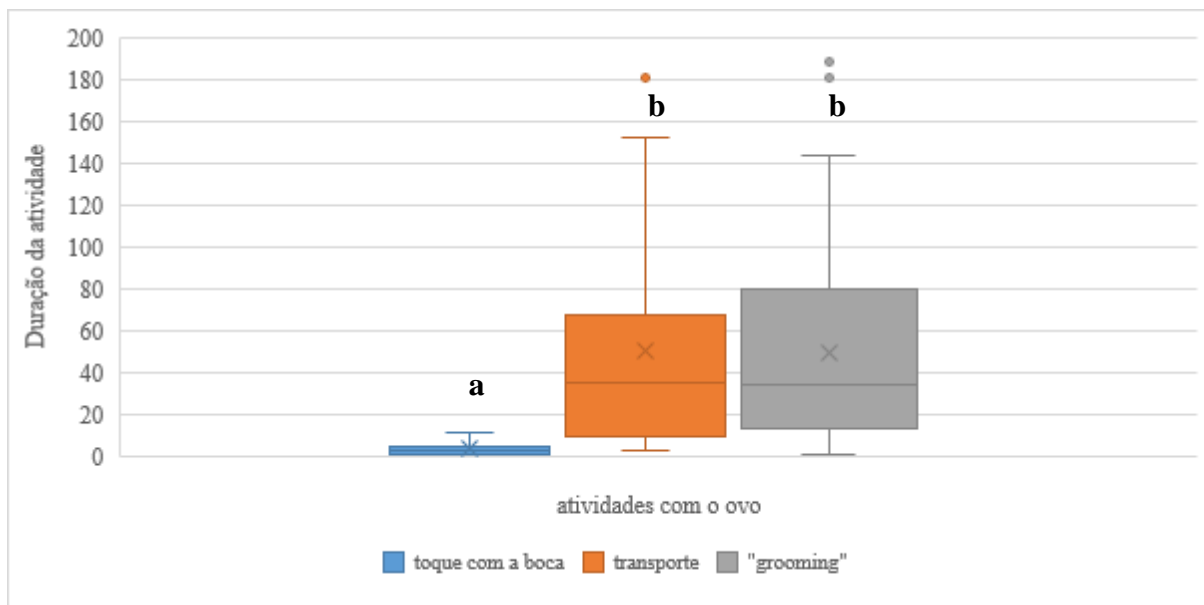


Figura 9 – Atividades comportamentais de maior duração realizadas pelo rei de *Cornitermes cumulans* com os ovos. Letras diferentes indicam diferenças significativas

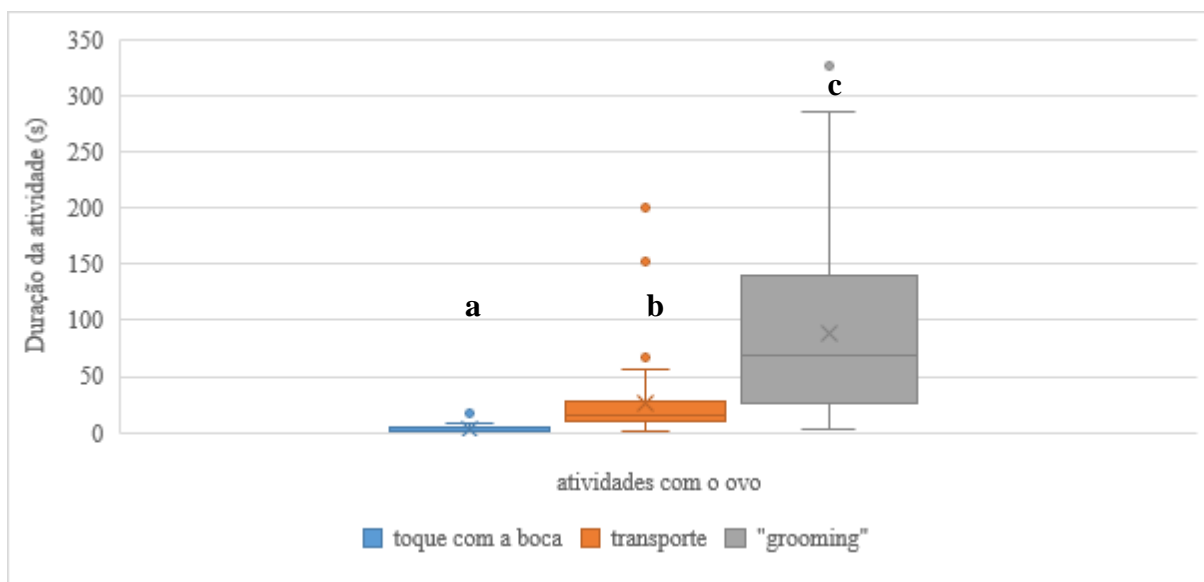


Figura 10 – Atividades comportamentais de maior duração realizadas pela rainha de *Cornitermes cumulans* com os ovos. Letras diferentes indicam diferenças significativas

### 4.3 Cuidado parental com larvas em *Coptotermes gestroi*.

Os dados resultantes da observação de 25 colônias de *Coptotermes gestroi* estão dispostos na tabela 5. A atividade comportamental que mais tempo ocupou reis e rainhas foi a retirada das exúvias para a limpeza das larvas que estavam em processo final de muda (Figuras 11 e 12). Essa atividade comportamental não apresentou diferença significativa entre machos e fêmeas quanto a frequência e duração do comportamento ( $P > 0,05$ )

Tabela 5 – Etograma das atividades comportamentais realizadas pelos reis e rainhas em 25 colônias de *Coptotermes gestroi*.

Atividade comportamental	Macho		Fêmea	
	Frequência	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)
Transporte	20	338	15	221
“grooming”	51	605	32	240
Toque com as peças bucais	25	31	31	45
Trofalaxia proctodeal (doador)	0	0	7	91
Trofalaxia proctodeal (receptor)	4	32	3	18
Trofalaxia estomodeal	1	8	6	77
Movimento vibratório do corpo	71	71	120	120
Retirada de exúvia	25	1452	18	980

O “grooming”, ou seja, comportamento de limpar as larvas, foi uma atividade realizada mais pelo rei que pela rainha e os resultados mostram uma diferença significativa entre essa atividade desempenhada pelo o casal de reprodutores quanto ao tempo despendido ( $P = 0,0096$ ). A frequência desse comportamento não foi significativamente diferente entre machos e fêmeas ( $P > 0,05$ ). Além disso, a trofalaxia estomodeal foi umas das atividades realizada com maior frequência ( $P = 0,0253$ ) e com maior duração ( $P = 0,0181$ ) pela fêmea em relação a praticada pelo macho.

O movimento vibratório do corpo, transporte das larvas, trofalaxia proctodeal como receptor e tocar a larva com a boca foram atividades comportamentais exibidas por ambos os reprodutores, e suas frequências e duração não apresentaram diferença significativa entre reis e rainhas ( $P > 0,05$ ).

A trofalaxia proctodeal como doador foi um comportamento observado somente nas rainhas, e foi significativamente diferente na sua frequência e duração ( $P = 0,009$ ) quando reis e rainhas foram comparados. O comportamento de cópula foi observado uma única vez durante a observação das colônias de *C. gestroi*. Após 6 segundos de muita antenação, os reprodutores,

de uma colônia de 2 meses, se posicionaram com os abdomens em aposição e a cópula durou cerca de 40 segundos. Dez segundos após a cópula, duas larvas realizaram trofalaxia proctodeal com a rainha, sendo ela a doadora.

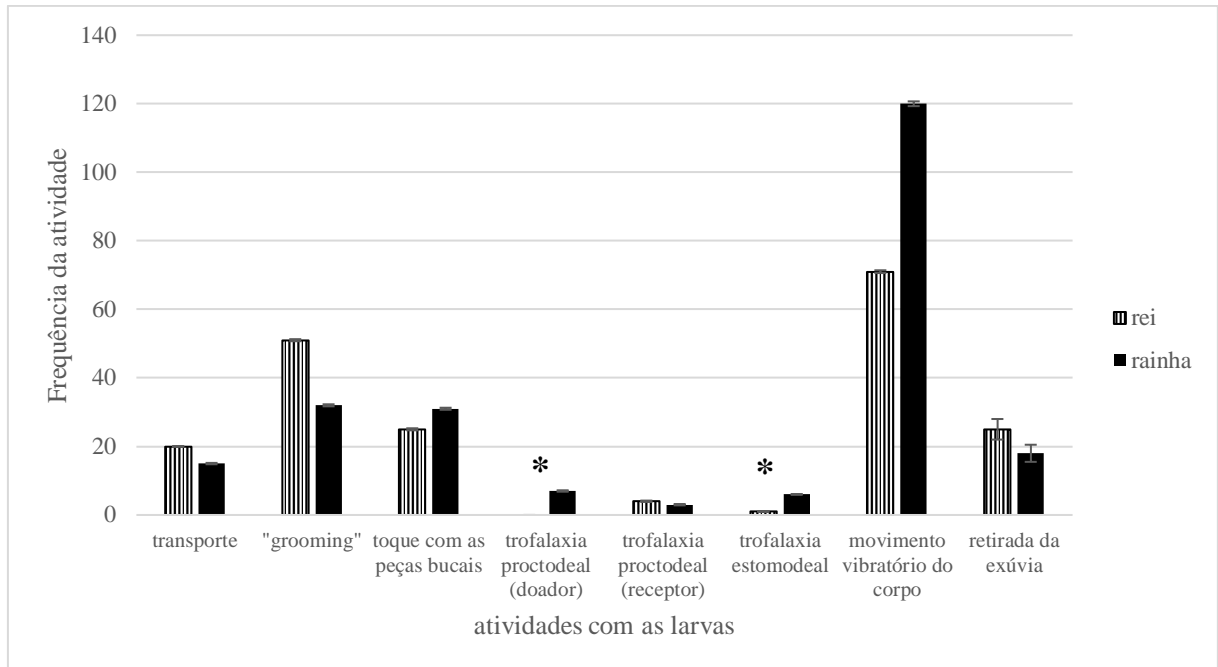


Figura 11 – Soma e erro padrão da frequência das diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Coptotermes gestroi* com larvas. Asterisco (\*) indica diferença estatística significativa entre os reprodutores.

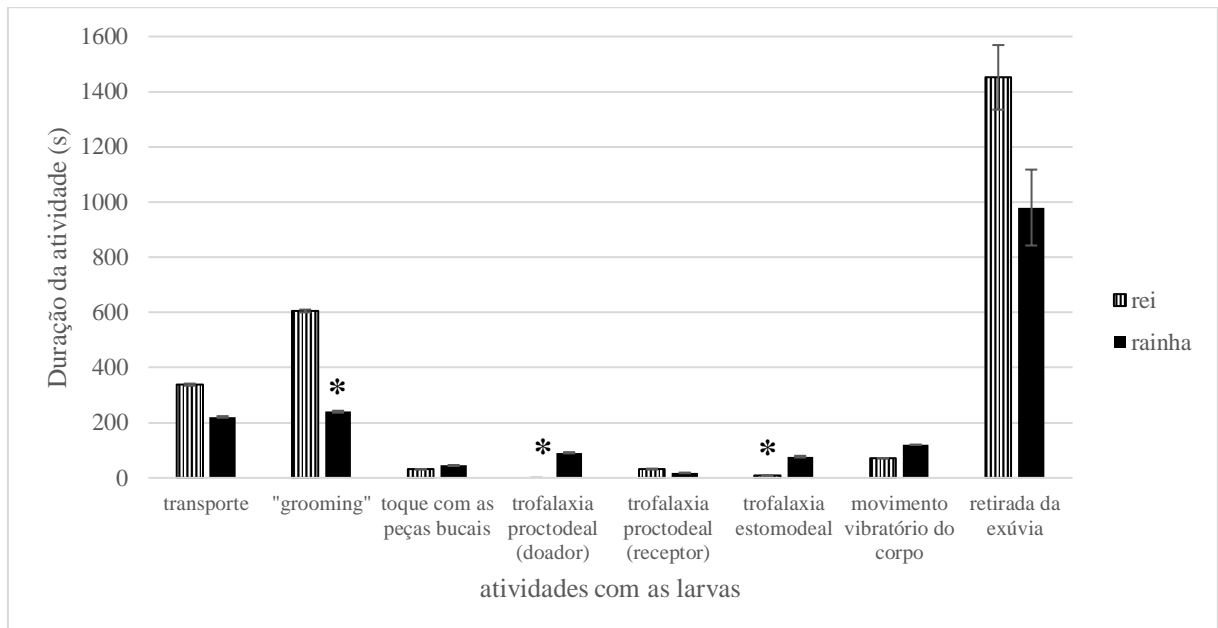


Figura 12 – Soma e erro padrão do período dispendido em diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Coptotermes gestroi* com larvas. Asterisco (\*) indica diferença estatística significativa entre os reprodutores.



O rei passou 2537 segundos, ou seja, 8,45% do tempo observado cuidando das larvas e a fêmea 1792 segundos (6%) do tempo cuidando das larvas. No restante do tempo os reprodutores foram observados na tarefa de manutenção do ninho, de cuidado com os ovos e até realizando “grooming” no parceiro (“allogrooming”) ou “grooming” nele mesmo (“self-grooming”).

#### 4.4 Cuidado parental com larvas em *Cornitermes cumulans*

Os dados resultantes da observação de 20 colônias de *Cornitermes cumulans* estão dispostos na tabela 6. A atividade comportamental que mais tempo ocupou reis e rainhas foi o “grooming” das larvas (Figuras 13 e 14). Essa atividade comportamental não mostrou diferença significativa quando se compara reis e rainhas quanto a frequência e duração do comportamento ( $P > 0,05$ )

Tabela 6 – Etograma das atividades comportamentais realizadas pelos reis e rainhas em 20 colônias de *Cornitermes cumulans*.

Atividade comportamental	Macho		Fêmea	
	Frequência	Tempo (s)	Frequência	Tempo (s)
Transporte	46	488	42	249
grooming	263	2672	304	2028
Toque com as peças bucais	65	92	68	94
Trofalaxia estomodeal	3	102	2	83
Movimento vibratório do corpo	52	63	43	51
Retirada de exúvia	12	165	10	162

O movimento vibratório do corpo, transporte das larvas, toque da larva com a boca e retirada da exúvia foram atividades comportamentais exibidas por ambos os reprodutores, e suas frequências e duração não apresentaram diferença significativa entre reis e rainhas ( $P > 0,05$ ).

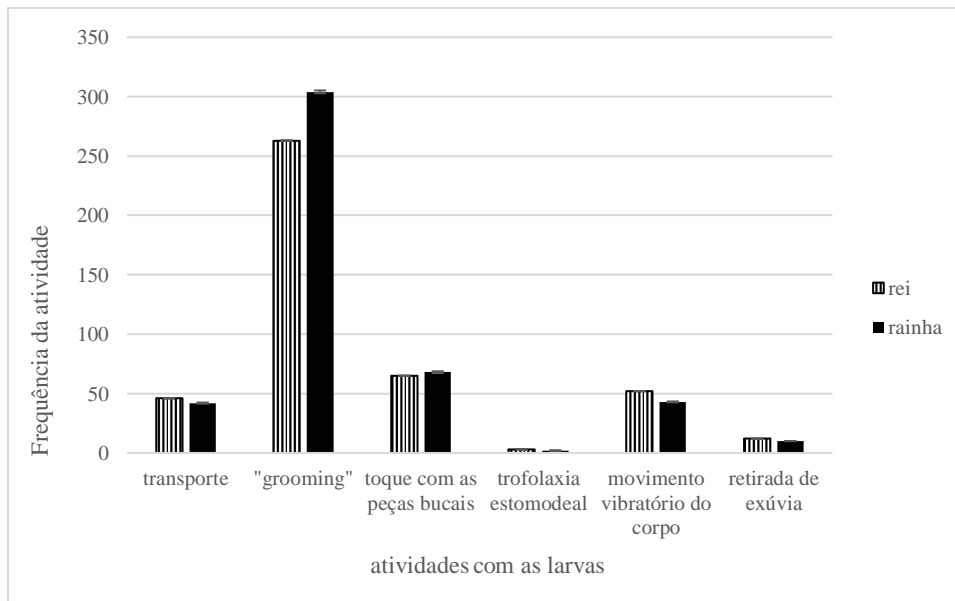


Figura 13 – Soma e erro padrão da frequência das diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Cornitermes cumulans* com larvas.

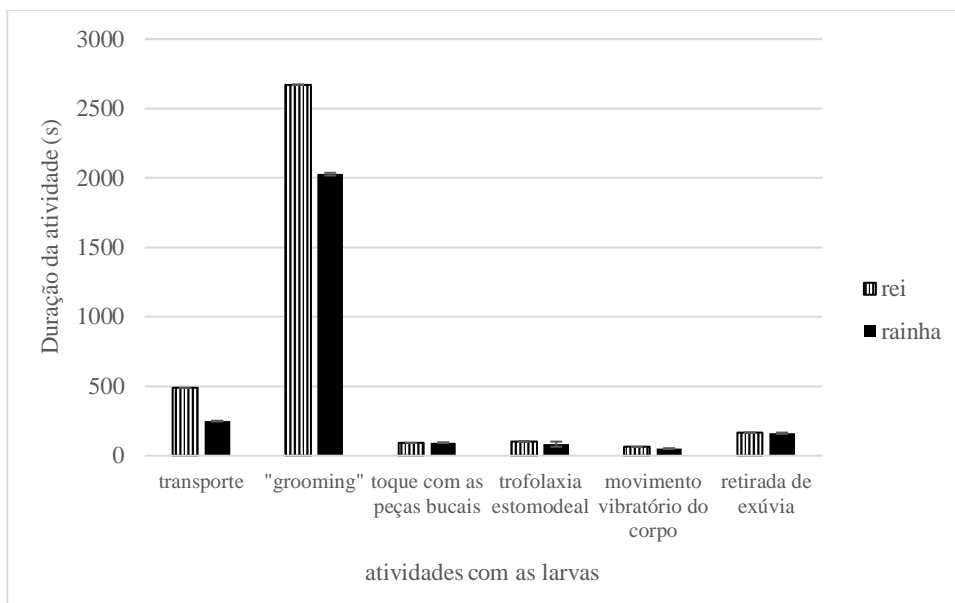


Figura 14 – Soma e erro padrão do período dispendido em diferentes atividades comportamentais realizadas pelos reprodutores de *Cornitermes cumulans* com larvas.

O rei passou 3582 segundos, ou seja, 19,9% do tempo observado cuidando das larvas e a fêmea 2667 segundos (14,81%) do tempo cuidando das larvas. No restante do tempo os reprodutores foram observados na tarefa de manutenção do ninho, de cuidado com os ovos e realizando “grooming” no parceiro (“allogrooming”) ou “grooming” nele mesmo (“self-grooming”).

## 5 Discussão

Os resultados do presente estudo mostraram que reis e rainhas de colônias incipientes de *C. gestroi* não apresentaram polietismo sexual no cuidado com ovos, uma vez que as tarefas são igualmente desenvolvidas por machos e fêmeas. A bibliografia sobre cuidados de ovos pelos reprodutores é ínfima e está praticamente restrita ao cupim basal *Zootermopsis*. A atividade comportamental que o casal real mais realizou foi o transporte de ovos. De acordo com Shellman-Reeve (1990), reis e rainhas de *Zootermopsis nevadensis* (família Archotermopsidae) também executaram atividades de transporte e “grooming” no cuidado com os ovos e os dados do referido estudo não mostraram diferença na porcentagem de tempo dispendida pelos reprodutores.

No presente estudo, desenvolvido com colônias incipientes de *C. gestroi*, foi constatada diferença na atividade de reis e rainhas no cuidado com as larvas. Os dados indicam a ocorrência de uma especialização comportamental baseada no sexo, já que rainhas mostraram mais atividade de trofalaxia estomodeal do que os reis, que por sua vez realizaram mais “grooming”. Esses resultados não são os mesmos verificados por Shellman-Reeve (1990) para o cupim *Z. nevadensis*, uma vez que reis e rainhas dessa espécie desenvolveram igualmente as atividades de trofalaxia estomodeal e proctodeal com larvas. Contudo, outros estudos com *Z. nevadensis* mostraram que as colônias que foram cuidadas pelo rei e pela rainha sobreviveram melhor do que aquelas cuidadas por um único reprodutor (SHELLMAN-REEVE, 1997).

A atividade de transporte de ovos é a mais estudada em colônias não incipientes de cupins, onde é executada por operários mais velhos. Segundo Grassé (1982), normalmente os ovos são carregados pelos operários e agrupados em pilhas no ninho. Estudos de Matsuura et al. (2000) com *Reticulitermes speratus* (Rhinotermitidae) sugerem que os operários reconhecem os ovos por meio de sinais físicos e químicos, ou seja, pela forma oval, tamanho e odor. Os ovos emitem duas substâncias voláteis (n-butil-n-butirato e 2-metil-1-butanol) que servem para orientar os operários na tarefa de cuidados para com o mesmo (MATSUURA et al., 2007; MATSUURA et al., 2010; YE et al., 2019). Segundo Matsuura et al., (2009) os ovos produzem  $\beta$  – glicosidase e lisozima que são considerados feromônios de reconhecimento do ovo. Essas substâncias são enzimas que estão presentes na saliva dos cupins e a  $\beta$  – glicosidase também está presente na saliva das baratas. Assim, os autores sugerem que ancestrais comuns de baratas e cupins já possuíam uma das proteína-alvo ( $\beta$  – glicosidase) na saliva antes da origem da eusocialidade (MATSUURA et al., 2009).

Os reprodutores de *C. gestroi* e *C. cumulans* exibiram o mesmo comportamento quando realizaram “grooming” nos ovos. Os reprodutores seguravam os ovos utilizando as mandíbulas e com a ajuda dos palpos giravam os mesmos na boca ou os introduziam para lambê-los (Fig. 8). Nos palpos e base da hipofaringe existem sensilas (PEARCE, 1997; SILVA; COSTA-LEONARDO, 2017) que permitem a detecção de substâncias químicas dos ovos. De acordo com Grassé (1982), quando os ovos são lambidos pelos operários, ocorre uma projeção da hipofaringe para fora da boca e ovos são esfregados por essa hipofaringe e molhados com saliva. Como já comentado, a saliva dos cupins contém lisozima, e essa possui propriedades antimicrobianas e antifúngicas (FUJITA, et al., 2002; MATSUURA et al., 2002; HAMILTON; BULMER, 2012). O comportamento de “allogrooming” é um comportamento-chave que aumenta a sobrevivência da prole durante o estabelecimento de novos ninhos (ROSENGAUS et al., 1998).

Em *C. gestroi* e em *C. cumulans* os reprodutores foram observados realizando a retirada da exúvia nas larvas em muda, e para *C. gestroi* foi o comportamento que mais despendeu tempo do casal real. Segundo Xing et al., (2013), quando um indivíduo sofre o processo de muda ele passa por 4 fases, e é na última fase, que outros indivíduos auxiliam retirando a exúvia, e portanto, colaborando na limpeza desses indivíduos. No início da colônia, essa tarefa é executada por ambos reprodutores, conforme observado no presente trabalho. Além disso, também foi observado o consumo dessas exúvias nas colônias de *C. gestroi* por ambos reprodutores. Nos estudos de Whitman e Forschler (2007) com colônias mais velhas (colônias não incipientes) de *R. flavipes* foram observados que durante a muda, os operários realizaram “grooming” nos indivíduos que estavam sofrendo ecdise. Segundo os autores, os comportamentos de “grooming” exibidos por esses operários variaram de 30 segundos a 5 minutos, além disso, 16 operários diferentes consumiram a exúvia liberada pelo operário que sofreu a referida muda. La Fage e Nutting (1978) afirmam que o consumo de exúvia por cupins é um comportamento de higiene e de reciclagem de nitrogênio, uma vez que a dieta dos cupins é pobre em nitrogênio (WALLER; LA FAGE, 1987).

A espécie *C. gestroi* investiu mais tempo transportando os ovos do que a espécie *C. cumulans* (Figura 15) que apresentou maior frequência e duração no comportamento de “grooming”. O cupim *C. gestroi* possui ninhos subterrâneos e policíclicos, e pode apresentar uma alocação de castas, ou seja, os indivíduos, inclusive o casal de reprodutores, podem mudar de “cálie” (JANEI; COSTA-LEONARDO, 2015). A espécie em questão, assim como *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae), apresenta certa mobilidade podendo mudar de ninho para evitar predação ou se existe uma oferta melhor de alimento (LONG; THORNE, 2006). *C.*

*cumulans* apresenta ninho em montículo, onde todos os indivíduos ficam alocados e somente os forrageiros deixam o mesmo em busca de alimento. Os ninhos desse cupim possuem uma porção central celulósica de coloração escura onde ficam os ovos e larvas, envolvida por uma parede bastante dura e resistente (COSARINSKY, 2011). Portanto, a cria nessa espécie de cupim fica restrita e protegida em uma parte do ninho fazendo com que o transporte seja menos frequente.

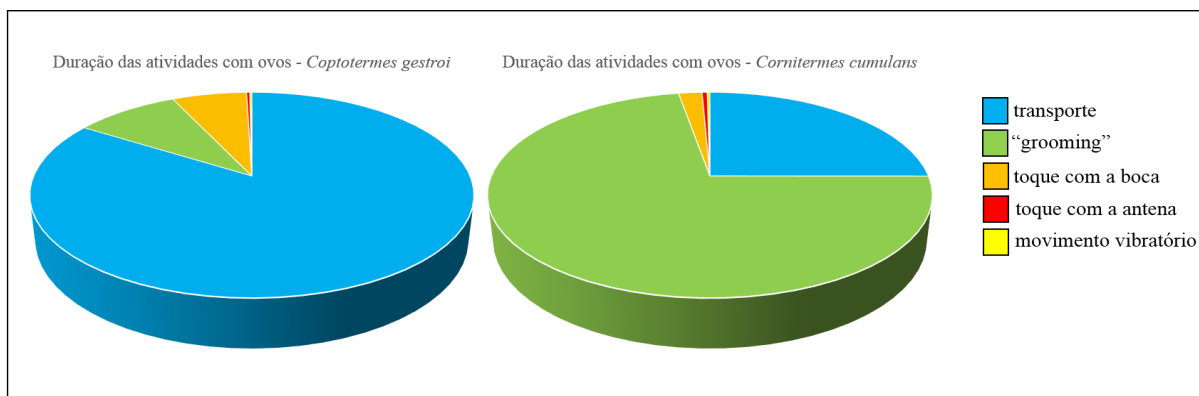


Figura 15 – Comparação entre o tempo despendido pelos reprodutores de *C. gestroi* e *C. cumualns* nas atividades de cuidado com os ovos

No presente estudo, a trofalaxia estomodeal foi observada nas duas espécies de cupins, contudo em *C. cumulans* não foi observada trofalaxia proctodeal. A trofalaxia estomodeal é descrita em todas as famílias de cupins, mas segundo McMahan (1969) a trofalaxia proctodeal não ocorre na família Termitidae. Estudos recentes relatam observações visuais de ocorrência desse tipo de trofalaxia nos Termitidae (KÖHLER et al., 2012), contudo, esse processo pode ser um evento muito raro na referida família.

A trofalaxia proctodeal é um comportamento bastante observado em cupins basais, pois além de ser uma atividade social, ela fornece nutrientes e microbiota para os indivíduos que recebem o alimento (YAGUCHI et al. 2016). Estudos de Maekawa et al. (2012), com o cupim de madeira úmida *Z. nevadensis*, mostrou que tanto o rei quanto a rainha realizaram trofalaxia proctodeal como doadores, mas a frequência desse comportamento foi significativamente maior nas rainhas. Na espécie *Z. angusticollis*, não foi observada divisão sexual no cuidado com a prole, porém somente a rainha realizou o comportamento de trofalaxia proctodeal como doadora (ROSENGAUS; TRANIELLO, 1991). No presente estudo, para a espécie *C. gestroi*, não foi observada trofalaxia proctodeal do rei como doador ( $n = 0$ ), somente como receptor, enquanto as rainhas tiveram uma participação intensa nessa atividade como doadoras ( $n = 7$ ).

Os presentes resultados corroboram com os obtidos nos estudos de Du et al. (2017) para a espécie *Coptotermes formosanus* (Rhinotermitidae), mas discorda dos estudos de Du et al. (2016) em que o rei realiza essa tarefa esporadicamente em relação a rainha mostrando que essa última é mais ativa nesse comportamento. Ainda não se sabe exatamente o conteúdo transferido pela trofalaxia proctodeal, mas, nutrientes, feromônios e hormônio juvenil são passados para as larvas (YAGUCHI et al. 2016). Estudos de Machida et al. (2001) com *Hodotermopsis japonica* mostraram que a concentração de proteína nos fluidos proctodeais das fêmeas foi significativamente maior que nos fluidos dos machos depois que eclodiram as primeiras larvas. Portanto, parece que a rainha de *C. gestroi* consegue uma boa dominância via trofalaxia.

Durante as observações de cuidado com os ovos e larvas foi possível acompanhar o comportamento de cópula na espécie *C. gestroi*. No início, a fêmea toca o macho com as antenas. Depois desse primeiro toque, ocorre uma grande antenação entre o casal por todo o corpo até se posicionarem com os abdomens em aposição e realizarem a cópula. Nos estudos de Whitman e Foschler (2007) com colônias incipientes de 18 meses, também foi observado o comportamento de cópula entre os reprodutores de *R. flavipes*. O ritual de acasalamento durou de 34 a 42 segundos e foi dividido em 3 fases: antenação, posicionamento e cópula, sendo que cada fase durou de 7-9, 3-8 e 22-30 segundos respectivamente. No presente estudo a cópula também mostrou essas fases, porém com diferentes durações daqueles descritas para *R. flavipes*.

Korb et al. (2012) realizaram um estudo com quatro espécies de cupins relacionando o cuidado parental com evolução da socialidade. Os autores analisaram o cuidado de ovos e larvas realizados por operários e definiram dois tipos de comportamento: altruísta (transporte e “grooming” dos ovos, trofalaxia estomodeal e proctodeal) e de comunicação (antenação e movimento vibratório). No presente estudo os dois tipos de comportamento foram observados, altruísta e de comunicação, sendo que nas duas espécies modelos as atividades comportamentais relacionadas com o altruísmo foram realizadas mais vezes e tiveram maior duração do que as atividades de comunicação.

O cuidado cooperativo com a prole pelos operários é aceito como um fator que levou a socialidade (vida social) e isso está claro para os Hymenoptera mas não para os Isoptera. De acordo com Korb et al. (2012), o cuidado com a cria em cupins só se tornou importante quando os cupins mudaram o estilo de vida, ou seja, saíram dos ninhos dentro do próprio alimento (“peça única”) para ninhos separados do alimento (“ninho múltiplas peças”). Portanto, nos cupins basais que têm ninhos “peça única” como *Cryptotermes secundus* os operários não cuidam dos ovos e larvas ou cuidam menos no caso de *Z. nevadensis* (Korb, 2007). Parece que

somente quando as colônias de cupins evoluíram e foram buscar fontes externas de alimento, os operários começaram a ajudar o casal real.

## 6 Referências bibliográficas

- ARAÚJO, R. L. Termites of the neotropical region. In: KRISHNA, K; WEESNER, F. M. (eds). **Biology of termites**, v. 2, New York: Academic Press, pp. 527-571, 1970.
- AYRES, M.; AYRES, M.JR.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil Mamirauá, Belém - PA, p. 364, 2007.
- CANCELLO, E. M. Revisão de *Cornitermes* Wasmann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitidae). Tese de doutorado, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989, 136p.
- CHOUVENC, T.; SU, N.Y. Irreversible transfer of brood care duties and insights into the burden of caregiving in incipient subterranean termite colonies. **Ecological entomology**, v. 42, n. 6, p. 777-784, 2017.
- CLUTTON-BROCK, T. H. **The Evolution of Parental Care**. Princeton University Press, Princeton, 352 p., 1991.
- CONSTANTINO, R. Padrões de diversidade e endemismo de térmitas no bioma cerrado. In SCARIOT, A.O.; SILVA, J.C.S.; FELFILI, J.M. (eds.). **Biodiversidade, ecologia e conservação do cerrado**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2005, pp. 319-333.
- CONSTANTINO, R. **Cupins do Cerrado**. Technical Books, Rio de Janeiro, 167 p., 2015.
- COSARINSKY, M. I. The nest growth of the Neotropical mound-building termite, *Cornitermes cumulans*: A micromorphological analysis. **Journal of Insect Science**, v. 11, n. 122, p. 1 – 14, 2011.
- COSTA-LEONARDO, A.M. **Cupins-Praga: Morfologia, Biologia e Controle**. A. M. Costa-Leonardo (Ed.), Rio Claro, 128 p., 2002.
- DU, H.; CHOUVENC, T.; OSBRINK, W. L. A.; SU, N.-Y. Social interactions in the central nest of *Coptotermes formosanus* juvenile colonies. **Insectes Sociaux**, v. 63, p. 279– 290, 2016.
- DU, H.; CHOUVENC, T.; SU, N.-Y. Development of age polyethism with colony maturity in *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Environmental Entomology**, v. 46, p. 311– 318, 2017.
- ENGEL, M.S. Family-group names for termites (Isoptera), redux. **ZooKeys**, v.148, p. 171-184, 2011.
- FERNANDES, P. M.; CZEPAK, C.; VELOSO, V. R. S. Cupins de montículos em pastagens: prejuízo real ou praga estética? In: FONTES, L.R.; BERTI FILHO, E. **Cupins: o desafio do conhecimento**. Piracicaba: FEALQ, 1998, pp. 187-210.
- FUJITA, A.; MINAMOTO, T.; SHIMIZU, I.; ABE, T. Molecular cloning of lysozyme-encoding cDNAs expressed in the salivary gland of a wood-feeding termite, *Reticulitermes speratus*. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 32, p. 1615–1624, 2002.



- GRASSÉ, P. P. 1982. **Termitologia. Anatomie, physiologie et biologie. Tome I.** New York: Masson. 676p.
- HAMILTON, W.D. The genetical evolution of social behaviour. I. **Journal of Theoretical Biology**, v. 7, p. 1–16, 1964.
- HAMILTON, C.; BULMER, M. S. Molecular antifungal defenses in subterranean termites: RNA interference reveals in vivo roles of termicins and GNBP's against a naturally encountered pathogen. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 36, n. 2, p. 372-377, 2012.
- JANEI, V.; COSTA-LEONARDO, A. M. Evaluation of growth and foraging in laboratory colonies of *Coptotermes gestroi* (Isoptera, Rhinotermitidae). **Behavioural Processes**, v. 115, p. 94-99, 2015.
- 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, p. 612621, 2007.
- KÖHLER, T.; DIETRICH, C.; SCHEFFRAHN, R.H.; BRUNE, A. High-Resolution analysis of gut environment and bacterial microbiota reveals functional compartmentation of the gut in wood-feeding higher termites (*Nasutitermes* spp.). **Applied and Environmental Microbiology**, v. 78, n. 13, p. 4691– 4701, 2012.
- KORB, J. Workers of a drywood termite do not work. **Frontiers in Zoology**, v. 4, n.7 p. 1–7, 2007.
- KORB, J.; BUSCHMANN, M.; SCHAFBERG, S.; LIEBIG, J.; BAGNÈRES, A. G. Brood care and social evolution in termites. **Proceedings. Biological sciences Royal Society**, v. 279, p. 2662–2671, 2012
- 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**, n. 377, 2704 pp., 2013.
- LAFAGE, J. P.; NUTTING, W. L. Nutrient dynamics of termites. In: BRIAN, M. V. (ed) **Production ecology of ants and termites**. Cambridge University Press, London, p. 165–232, 1978.
- LEE, C.Y. **Perspective in Urban Insect Pest Management in Malaysia**. Vector Control Research Unit, Universiti Sains Malaysia. 104 pp., 2007.
- LELIS, A.T. Termite problem in São Paulo city – Brazil. In: LENOIR, A.; ARNOLD, G.; LEPAGE, M. **Les insectes sociaux**. Paris: Université Paris Nord. Trabalho apresentado no 12º Congress of the International Union for the Study of Social Insects – IUSSI. 1994, 253 p.
- LONG, C.E.; THORNE, B.L. Resource fidelity, brood distribution and foraging dynamics in complete laboratory colonies of *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Ethology, Ecology & Evolution**, v. 18, p. 113-125, 2006.

- MCMAHAN, E.A. Feeding relationships and radioisotope techniques. In KRISHNA, K., WEESNER, F.M. (eds.), **Biology of Termites**, Vol. 1, Academic Press, New York, pp. 311-350, 1969.
- MAEKAWA, K., NAKAMURA, S., AND WATANABE, D. Termite soldier differentiation in incipient colonies is related to parental proctodeal trophallactic behavior. **Zoological Science**, v. 29, p. 213–217, 2012,
- MATSUURA, K.; TANAKA, C.; NISHIDA, T. Symbiosis of a termite and a sclerotium-forming fungus: *Sclerotia mimic* termite eggs. **Ecological Research**, v. 15, n. 4, p. 405 – 414, 2000.
- MATSUURA, K.; FUJIMOTO, M.; GOKA, K.; NISHIDA, T. Cooperative colony foundation by termite female pairs: Altruism for survivorship in incipient colonies. **Animal Behaviour**, v. 64, p.167–173, 2002.
- MATSUURA, K.; TAMURA, T.; KOBAYASHI, N.; YASHIRO, T.; TATSUMI, S. The antibacterial protein lysozyme identified as the termite egg recognition pheromone. **Plos One**, v.8, p. 1-9, 2007.
- MATSUURA, K.; YASHIRO, T.; SHIMIZU, K.; TATSUMI, S.; TAMURA, T. Cuckoo fungus mimics termite eggs by producing the cellulose-digesting enzyme  $\beta$ -glucosidase. **Current Biology**, v. 19, p. 30–36, 2009
- MATSUURA, K.; HIMURO, C.; YOKOI, T.; YAMAMOTO, Y.; VARGO, E.; KELLER, L. Identification of a pheromone regulating caste differentiation in termites. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 107, p. 12963–12968, 2010.
- O'WOMA, O. O.; CHIGOZIRIM, U. P.; EMMANUEL, O.; CHUKWUEBUKA, E. M. Reproductive and survival strategies utilized by insect. A review. **American Journal of Zoological Research**, v. 4, n. 1, p. 1 – 6, 2016.
- 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.
- OSTER, G.F.; WILSON, E. **Caste and ecology in the social insects**. Princeton University Press, Princeton (New Jersey), 1978.
- PEARCE, M.J. Termites: **Biology and Pest Management**. New York and London: Library of Congress Cataloging-in-Publication Data. p. 54, 1997.
- REDFORD, K. H. The termitaria of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) and their role in determining a potential keystone species. **Biotropica**, v. 16, n. 2, p. 112 -119, 1984.
- ROSENGAUS, R. B.; TRANIELLO, J. F. A. Biparental care in incipient colonies of the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Hagen) (Isoptera: Termopsidae). **Journal Insect Behavior**, v. 4, p. 633–648, 1991.

- ROSENGAUS, R. B.; MAXMEN, A. B.; COATES, L.E.; TRANIELLO, J.F.A. Disease resistance: a benefit of sociality in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera: Termopsidae). **Behavioral Ecology & Sociobiology**, v. 44, p. 125–134, 1998.
- SCHEFFRAHN, R.H.; SU, N.-Y. **Asian subterranean termite, *Coptotermes gestroi* (=havilandi) (Wasmann) (Insecta: Isoptera: Rhinotermitidae)**. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida, Gainesville, 2000.
- SHELLMAN-REEVE, J. S. Dynamics of biparental care in the dampwood termite, *Zootermopsis nevadensis* (Hagen): response to nitrogen availability. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 26, p. 389-397, 1990.
- SHELLMAN-REEVE, J. S. Advantages of biparental care in the wood-dwelling termite, *Zootermopsis nevadensis*. **Animal Behaviour**, v. 54, p. 163–170, 1997.
- SILVA, I. B.; COSTA-LEONARDO, A. M. Hypopharynx in termites: Morphological and functional aspects. **Micron**, v. 101, p. 186-196, 2017.
- SMISETH, P.T.; KÖLLIKER, M.; ROYLE, N.J. What is Parental care? In: ROYLE, N. J.; SMISETH, P. T.; KÖLLIKER, M. (eds). **The Evolution of Parental Care**. pp. 1–17. Oxford University Press, Oxford, U.K., 2012.
- TALLAMY, D. W. Insect Parental Care. **BioScience**, v. 34, n. 1, p. 20–24, 1984.
- TALLAMY, D. W. Nourishment and the evolution of paternal investment in subsocial arthropods. In: HUNT, J. H.; NALEPA, C.A. (eds.). **Nourishment and Evolution in Insect Societies**. Westview Press, Boulder, p. 21–55, 1994.
- TALLAMY, D. W.; WOOD, T. K. Convergence patterns in social insects. **Annual Review of Entomology**, v. 31, p. 369– 390, 1986.
- THORNE, B. L. Termite terminology. **Sociobiology**, v. 28, p. 253-263, 1996
- WALLER, D. A.; LA FAGE, J. P. Food quality and foraging response by the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 77, n. 3, p. 417-424. 1987.
- WHITMAN, J. G.; FORSCHLER, B. T. Observational notes on short-lived and infrequent behaviors displayed by *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae), **Behavior**, v. 100, n. 5, p. 763 – 771, 2007.
- WONG, J. W. Y.; MEUNIER, J.; KÖLLIKER, M. The evolution of parental care in insects: the roles of ecology, life history and the social environment. **Ecological Entomology**, v. 38, p. 123–137, 2013.
- XING, L.; CHOUVENC, T.; SU, N.-Y. Molting Process in the Formosan Subterranean Termite (Isoptera: Rhinotermitidae). **Annals of the Entomological Society of America**, v. 106, n. 5, p. 619–625, 2013.

YE, C.; LI, J.; RAN, Y.; RASHEED, H.; XING, L.; SU, X. The nest fungus of the lower termite *Reticulitermes labralis*. **Scientific Reports**, v. 9, n. 3384, 2019

YEAP, B.K.; OTHMAN, A.S.; LEE, V.S.; LEE, C.Y. Genetic relationship between *Coptotermes gestroi* and *Coptotermes vastator* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Journal Economic Entomology**, v. 100, n. 2, p. 467-474, 2007.

## CAPÍTULO 2

“Polietismo fisiológico em reprodutores primários dos cupins *Coptotermes gestroi* e *Cornitermes cumulans* (Blattaria, Isoptera, Rhinotermitidae, Termitidae)”

## 1 Resumo

Polietismo, ou a alocação de determinada tarefa em colônias de insetos sociais, está embasado na maturação de órgãos, inclusive glândulas exócrinas. A secreção salivar dos cupins tem múltiplas funções, atuando na digestão e trofalaxia. A trofalaxia estomodeal ocorre entre membros das colônias de cupins e envolve a troca de saliva e alimento regurgitado. No início da fundação do ninho, o casal real cuida dos ovos da primeira cria, alimentando as larvas até o aparecimento dos primeiros operários. A partir deste fato, os reprodutores se dedicam exclusivamente a reprodução, e passam a ser alimentados pelos operários. Assim, o objetivo do presente estudo foi verificar a ocorrência de polietismo etário e sexual nos reprodutores primários de cupins representantes de duas famílias: *Coptotermes gestroi* (espécie exótica) e *Cornitermes cumulans* (espécie nativa). O presente estudo verificou as mudanças morfofisiológicas das glândulas salivares em reis e rainhas no início da formação das colônias, usando técnicas histológicas e histoquímicas, além da avaliação morfométrica desses órgãos. Os resultados mostraram que glândulas salivares de reis e rainhas primários de *C. gestroi* e *C. cumulans* apresentam desenvolvimento similar no início da formação das colônias, e indicam investimento igual de ambos os sexos na produção de saliva. Contudo, em colônias mais velhas de *C. gestroi* ocorreu uma diminuição da área dos ácinos salivares em ambos os reprodutores, o que pode indicar uma mudança de função da glândula salivar nessa fase. A histologia das glândulas salivares mostrou ácinos salivares multicelulares, constituídos por células parietais e centrais, sendo que em *C. cumulans* foram observados dois tipos de células centrais. As células parietais são periféricas, menores em relação as centrais e são caracterizadas pela presença de um canalículo intracelular. As células centrais possuem muitas vesículas secretoras, e testes histoquímicos das glândulas salivares de reprodutores no início da formação das colônias mostraram a presença de proteínas e polissacarídeos, além de lipídios em *C. gestroi*. Nos reprodutores mais velhos de *C. gestroi*, a secreção proteica diminuiu, mas houve um acúmulo maior de polissacarídeos. Os resultados sugerem que após o aparecimento dos operários, os quais passam a alimentar a cria, a secreção salivar diminui e sofre alteração funcional em reis e rainhas.

## 2 Introdução

As colônias de insetos sociais constituem grupos de indivíduos que vivem juntos e se reproduzem como uma unidade (BESHER; FEWELL, 2001). Uma das mais importantes características das colônias de insetos sociais é que alguns membros se especializam em diferentes tarefas, ou seja, existe uma divisão de trabalho entre os companheiros de ninho (OSTER; WILSON, 1978). Geralmente, esta alocação de trabalho nas colônias de insetos sociais pode ser baseada em casta, sexo, tamanho ou idade dos indivíduos e esse fenômeno é denominado polietismo (MCMAHAN, 1979).

De uma maneira geral, nos insetos sociais existem padrões de polietismo, como polietismo temporal e polietismo morfológico. No primeiro, o desenvolvimento da tarefa está ligado a idade e no segundo, ao tamanho e/ou forma do indivíduo (BESHER; FEWELL, 2001). Contudo, algumas vezes, as tarefas desenvolvidas pela casta não estão relacionadas a idade e sim ao sexo (MCMAHAN, 1979).

O cuidado com ovos e a alimentação dos imaturos nos cupins é tarefa dos operários, sendo que a função dos reprodutores é somente a reprodução (THORNE, 1996; COSTA-LEONARDO, 2002). No entanto, no início da fundação de uma nova colônia, o cuidado com a prole é realizado pelo casal real (ROSENGAUS; TRANIELLO, 1991; CHOUVENC; SU, 2017). Bases químicas e fisiológicas embasam o polietismo, ou seja, a alocação para determinada tarefa está ligada a maturação de um determinado sistema, como o muscular ou nervoso ou ligado a atividade de alguma glândula exócrina, como por exemplo, produção de secreção pelas glândulas salivares, em uma determinada casta.

As glândulas salivares dos cupins são pares e constituídas por dutos ligados a um conjunto de ácinos secretores e dois reservatórios transparentes (COSTA-LEONARDO, 2002). As glândulas salivares ocorrem em todos os indivíduos da colônia, o que reforça funções primordiais em todas as castas (GRASSÉ 1982). Apesar de ser encontrada com a mesma organização em todos os cupins, o desenvolvimento glandular e o tamanho do reservatório, além do número e tamanho dos ácinos, variam de espécie para espécie e também entre as castas (NOIROT, 1969; DELIGNE et al., 1981).

A secreção salivar tem múltiplas funções nos cupins, atuando na digestão, nas atividades de construção, na alimentação via trofalaxia e na comunicação intraespecífica (NOIROT, 1969; GRASSÈ, 1982; COSTA-LEONARDO, 2002). Trofalaxia é a troca de fluido do trato digestivo entre os membros das colônias de cupins (MCMAHAN, 1969). Ela pode ser de dois tipos: estomodeal e proctodeal. Trofalaxia estomodeal é a troca de saliva e alimento regurgitado,

enquanto trofalaxia proctodeal é a troca de fluidos do intestino posterior, contendo microbiota, produtos da digestão dos cupins e feromônios (MCMAHAN, 1969; MACHIDA et al. 2001).

Em vista do exposto, o objetivo do presente estudo foi verificar as mudanças morfofisiológicas das glândulas salivares em reis e rainhas no início da fundação das colônias em duas espécies de cupins, tentando relacionar com o polietismo etário e sexual. As espécies de cupins escolhidas foram *Coptotermes gestroi*, espécie exótica e *Cornitermes cumulans*, espécie nativa, sendo que na primeira também foram analisadas as glândulas salivares de reprodutores primários mais velhos, que estavam sendo alimentados pelos operários.



### 3 Material e Métodos

#### 3.1 Insetos

Para esse estudo foram utilizados reis e rainhas de colônias incipientes sem operários de *Coptotermes gestroi* (Wasmann, 1896) e de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) formadas e mantidas no laboratório de cupins da Unesp – Rio Claro - SP. Além disso, foram estudados reis e rainhas de colônias de 1 ano de *C. gestroi* com operários. As características individuais das colônias utilizadas estão dispostas na tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização das colônias das quais os reprodutores foram extraídos:

Colônia	Espécie	Idade	ovos	larvas	PS	Operários	soldados
25	<i>C. gestroi</i>	2 meses	8	7	-	-	-
83	<i>C. gestroi</i>	2 meses	10	1	-	-	-
92	<i>C. gestroi</i>	2 meses	9	4	-	-	-
95	<i>C. gestroi</i>	2 meses	13	-	-	-	-
123	<i>C. gestroi</i>	2 meses	15	1	-	-	-
07	<i>C. gestroi</i>	1 ano	1	2	-	19	3
09	<i>C. gestroi</i>	1 ano	2	2	-	20	3
15	<i>C. gestroi</i>	1 ano	-	-	-	21	2
37	<i>C. gestroi</i>	1 ano	-	1	-	24	2
5	<i>C. cumulans</i>	2 meses	23	13	1	-	-
7	<i>C. cumulans</i>	2 meses	19	5	-	-	-
19	<i>C. cumulans</i>	2 meses	30	2	-	-	-
49	<i>C. cumulans</i>	2 meses	30	19	-	-	-
25	<i>C. cumulans</i>	2 meses	20	4	-	-	-

- ausência

PS: pré-soldado

#### 3.2 Formação de colônias em laboratório:

- **Colônias de *Coptotermes gestroi*:** reprodutores alados de *C. gestroi* foram coletados nos meses de agosto e setembro de 2016 em revoadas provenientes de vários bairros da cidade de Rio Claro/SP. Durante a coleta esses reprodutores foram armazenados em recipientes com papel toalha úmido e logo depois levados para o laboratório onde foram sexados sob esteromicroscópio. Machos e fêmeas foram pareados e dispostos em placas de Petri plásticas de 6 cm de diâmetro. Essas placas foram previamente preenchidas com serragem de *Pinus* sp. envelhecida e umedecida, e após a introdução do casal real mantidas em sala escura com temperatura de  $25 \pm 3$  °C.

- **Colônias de *Cornitermes cumulans***: reprodutores alados de *C. cumulans* foram coletados nos dias 12 e 14 de outubro de 2016 em revoadas na cidade de Taubaté/SP e no Campus da Unesp Rio Claro (Rio Claro/SP), respectivamente. Durante a coleta esses reprodutores foram armazenados em recipientes com papel toalha úmido e logo depois levados para o laboratório onde foram sexados sob esteromicroscópio. Machos e fêmeas foram pareados e dispostos em placas de Petri plásticas de 9 cm de diâmetro. Essas placas foram previamente preenchidas com serragem de *Pinus* sp. envelhecida e umedecida, e após a introdução do casal real mantidas em sala escura com temperatura de  $25 \pm 3$  °C.

### 3.3 Histologia das glândulas salivares

Reis e rainhas de *C. gestroi* e *C. cumulans* foram fixados inteiros em F.A.A. 3:1:1 (3 partes de álcool absoluto, 1 parte de ácido acético glacial e 1 parte de formaldeído a 40%) ou Formol Ca 1%. Após a fixação, os tórax desses reprodutores foram isolados e desidratados em uma bateria de soluções crescentes de etanol (70 a 95%) sendo que cada banho teve duração de 1 hora. Em seguida, as amostras foram transferidas para uma solução de resina (Leica) de infiltração, na qual foram mantidas por 48 a 72 horas em geladeira. Após essa etapa, as amostras foram incluídas em moldes especiais, preenchidos com historesina acrescida de catalisador, para a polimerização em estufa a 37°C. Depois de polimerizados, os blocos foram seccionados com navalhas de tungstênio em micrótomo. As secções tinham 3 µm de espessuras e foram hidratadas e recolhidas em lâminas de vidro. Depois da secagem das lâminas, os cortes histológicos obtidos foram corados com hematoxilina–eosina, azul de toluidina ou azul de toluidina fúcsina. O material foi analisado e fotografado em fotomicroscópio (Leica DM500/Leica ICC50)

### 3.4 Morfometria dos ácinos

A área dos ácinos das glândulas salivares dos reprodutores foi medida com o auxílio do software Image J. Para essa avaliação foram utilizados ácinos sagitais de duas secções escolhidas ao acaso de 10 lâminas. Para essas medidas foram utilizadas as mesmas lâminas preparadas para a análise histológica.

### 3.5 Histoquímica

Para avaliar a natureza das secreções das glândulas salivares dos reprodutores, foram realizados testes para detectar proteínas, polissacarídeos e lipídeos. Os cortes histológicos para

a realização da histoquímica foram obtidos pelo mesmo procedimento descrito no item 3.3 (histologia das glândulas salivares).

### 3.5.1 Proteínas

Para a detecção de proteínas foi utilizada a técnica do azul de bromofenol (PEARSE, 1960) e do xylidine Ponceau (MELLO; VIDAL, 1980).

- **Azul de bromofenol:** Esse método de coloração visa detectar a presença e o teor aproximado de proteínas totais presentes nas células e na secreção celular. Dependendo do teor proteico, as células e a secreção são coradas com diferentes tonalidades de azul. O azul de bromofenol evidencia as proteínas, corando-as de azul intenso. As amostras passaram pelo mesmo procedimento e etapas da preparação histológica até os cortes serem dispostos nas lâminas histológicas. As lâminas com as secções do material foram colocadas no azul de bromofenol à temperatura ambiente, por 1 hora. Após esse procedimento, as lâminas foram lavadas com água corrente por 5 minutos e passadas rapidamente em ácido acético 0,5% para remoção do corante não fixado às proteínas. Em seguida, as lâminas foram lavadas com água destilada, secas e montadas em bálsamo sintético.

- **Xylidine Ponceau:** Esse método de coloração detecta a presença de proteínas ácidas presentes nas células. As células e a secreção são coradas com a cor vermelho alaranjado. As lâminas com as secções do material foram colocadas no corante por 30 minutos. Após esse procedimento as lâminas ficaram por 1 minuto no tampão de acetato de sódio pH 2,6 e foram lavadas em água destilada. Depois de secas, as lâminas foram montadas em bálsamo e documentadas em fotomicroscópio.

### 3.5.2 Polissacarídeos

Para a detecção de polissacarídeos foi utilizada a técnica do PAS (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983)

- **Ácido periódico de Schiff – PAS:** Esse método evidencia os polissacarídeos neutros e as glicoproteínas, os quais se coram intensamente de vermelho-púrpura. Após fixação e todo procedimento de rotina, os cortes histológicos foram banhados em ácido periódico 0,4% por 10 minutos. Em seguida, lavados em água destilada por cerca de 1 minuto e, posteriormente, corados com reativo de Schiff por 60 minutos em local escuro. Após este procedimento, os cortes foram submetidos a três banhos de água sulfurosa por cerca de 1 minuto cada. Em

seguida, lavados em água corrente por 5 minutos e as lâminas foram secas à temperatura ambiente. Depois de secas, as lâminas foram montadas em bálsamo e documentadas em fotomicroscópio.

### 3.5.3 Lipídios

Para a detecção de lipídios ácidos e neutros foi utilizada a técnica do azul do Nilo (PEARSE, 1960). Essa técnica foi utilizada somente com os reprodutores de *C. gestroi*.

- **Azul do Nilo:** O sulfato de azul de Nilo é uma mistura que contém diversos componentes, os quais se dissolvem diferentemente nos lipídios conforme a composição destes. Desse modo, os lipídios neutros se coram em rosa, enquanto os lipídios ácidos e alguns outros componentes celulares não lipídicos se coram em azul. As lâminas com as secções do material foram colocadas no corante azul do Nilo à temperatura de 37°C, por 5 minutos. Após esse procedimento, as lâminas foram lavadas em água corrente e passadas no ácido acético 1% por 1 minuto. Depois de secas, as lâminas foram montadas em glicerina e documentadas em fotomicroscópio.

### 3.6 Análise estatística

O teste de Mann-Whitney ( $\alpha = 0,05$ ) foi realizado para comparar as áreas dos ácidos salivares entre rei e rainha e entre os reprodutores das colônias de idades diferentes de *C. gestroi*.

## 4 Resultados

### 4.1 Histologia das glândulas salivares de reis e rainhas de colônias de 2 meses de *Coptotermes gestroi*

As glândulas salivares dos reprodutores *C. gestroi* são pares, e compostas por dutos e grupos de ácinos. Esses ácinos são multicelulares e os dutos dos mesmos estão conectados a dois reservatórios que terminam em um duto comum que desemboca na cavidade bucal. No presente estudo foram observados dois tipos de células nos ácinos das glândulas salivares de reprodutores de *C. gestroi*: células secretoras centrais (células do tipo I) e células parietais (Figura 1). Essas últimas geralmente ocorreram em pares, na periferia dos ácinos e são caracterizadas pela presença de um canalículo intracelular (Figura 1F).

As células centrais do tipo I foram as células mais numerosas nas secções histológicas dos ácinos salivares desses reprodutores e mostraram grânulos secretores enormes, de aspecto heterogêneo quando corados com hematoxilina e eosina. Já, as células parietais, foram observadas em menor quantidade e não apresentaram grânulos de secreção (Figura 1). Além disso, é possível observar que os dutos penetram nos ácinos (Figuras 1B e 1F), e suas células constituintes podem ser observadas nas secções histológicas dos mesmos.

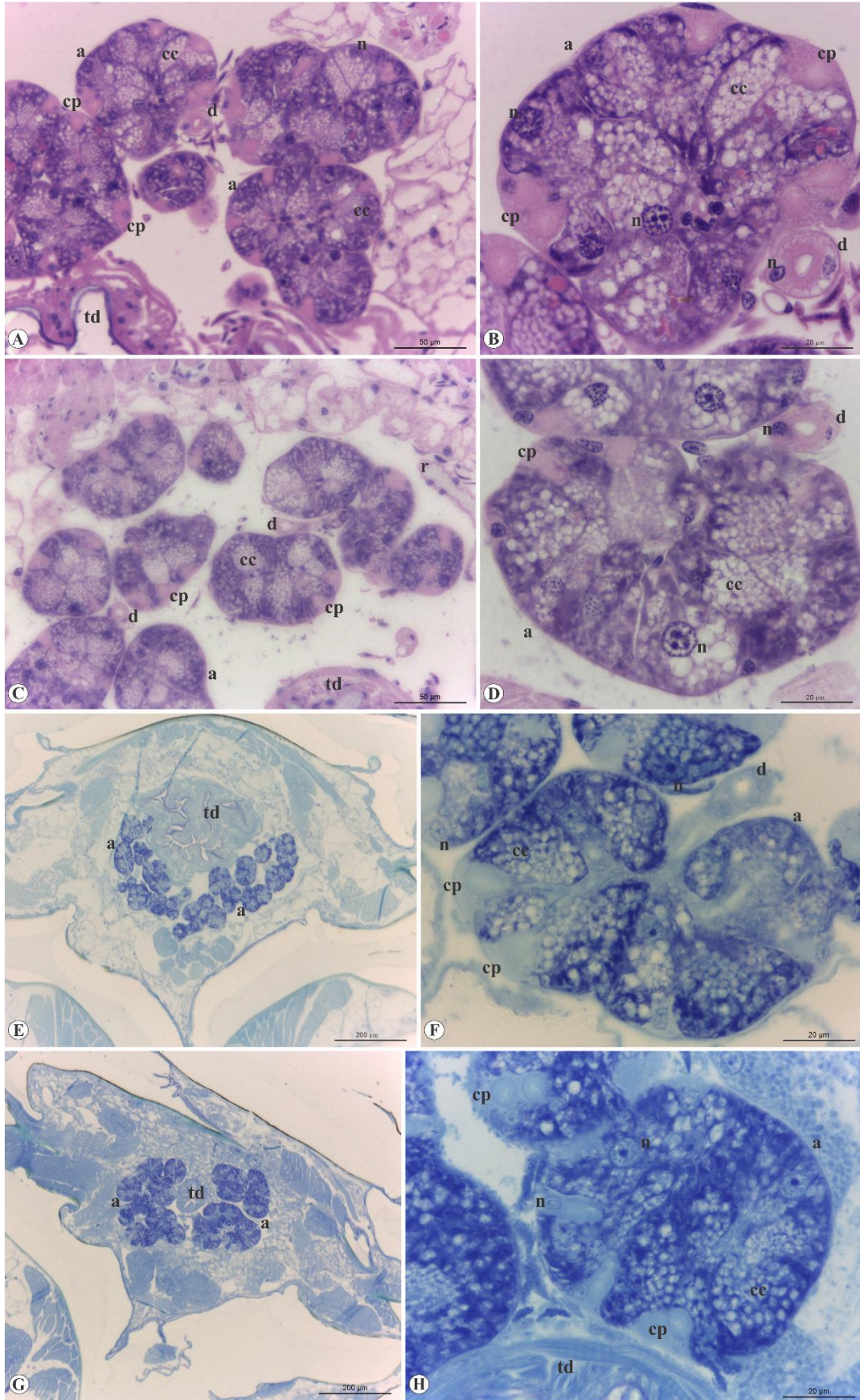


Figura 1 - Secção histológica do tórax de reprodutores de *Coptotermes gestroi*. A e B. Ácinos da glândula salivar da rainha (colônia 25). C e D. Ácinos da glândula salivar do rei (colônia 25). E. Vista geral do tórax da rainha (colônia 92) de *C. gestroi* mostrando a disposição dos ácinos salivares. F. Ácinos da glândula salivar da rainha (colônia 92). G. Vista geral do tórax do rei (colônia 92) de *C. gestroi* mostrando a disposição dos ácinos salivares. F. Ácinos da glândula salivar do rei (colônia 92). A-D: hematoxilina-eosina; E-H: azul de toluidina. a = ácino; cc = célula central; cp = célula parietal; d = ducto; n = núcleo; r = reservatório; td = tubo digestivo.

#### 4.2 Morfometria dos ácinos salivares de reis e rainhas de colônias de 2 meses de *Coptotermes gestroi*

A área dos ácinos salivares de reis e rainhas de *Coptotermes gestroi* provenientes das três colônias analisadas (colônias 25, 92 e 123) não foram significativamente diferentes (Figura 2).

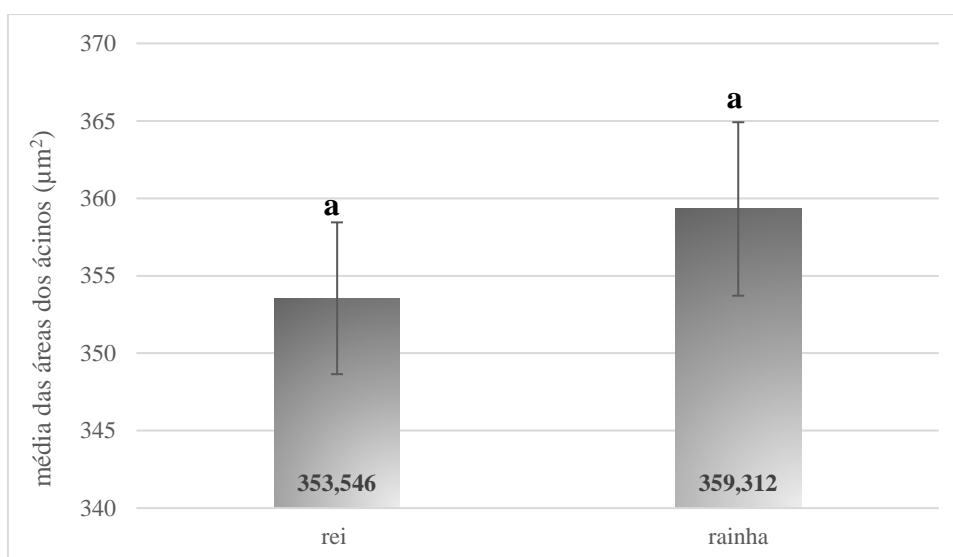


Figura 2 – Média e erro padrão das áreas dos ácinos dos reis e rainhas das três colônias analisadas. Letras iguais não apresentam diferença significativa ( $P > 0,05$ )

#### 4.3 Histoquímica das glândulas salivares de reprodutores de 2 meses de *Coptotermes gestroi*

A histoquímica dos ácinos dos reprodutores mostrou que reis e rainhas de *C. gestroi* apresentaram proteínas, lipídios e polissacarídeos na secreção das células centrais do tipo I (Figuras 3 e 4). A tabela 2 resume os resultados dos diferentes testes histoquímicos aplicados.

Tabela 2 – Resultados dos testes histoquímicos aplicados em secções histológicas dos ácidos das glândulas salivares de reprodutores de *Coptotermes gestroi*

Coloração	Rei		Rainha	
	Célula central tipo I	Célula parietal	Célula central tipo I	Célula parietal
azul do Nilo	+	-	+	-
azul de bromofenol	+	-	+	-
xylidine Ponceau	+	-	+	-
PAS	+	-	+	-

+ positivo – negativo

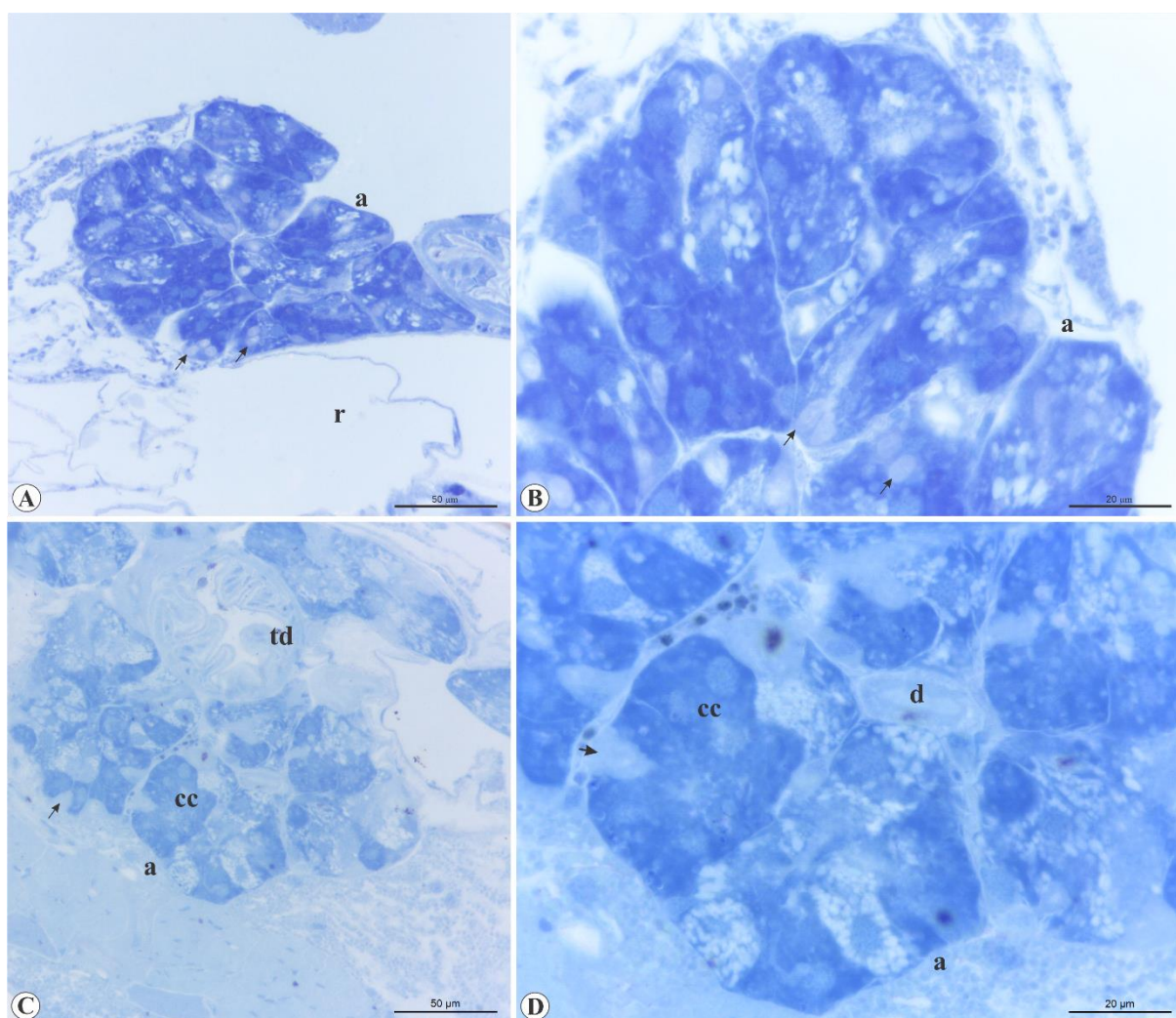


Figura 3 - Secção histológica do tórax dos reprodutores de *Coptotermes gestroi* (colônia 95). A e B. Ácino salivar de rainha corado com azul do Nilo para detecção de lipídios. C e D. Ácino salivar de rainha corado com azul do Nilo para detecção de lipídios. Setas indicam células parietais; a = ácino; cc = célula central; d = ducto; n = núcleo; r = reservatório; td = tubo digestivo.



O teste histoquímico de xylidine Ponceau mostrou grânulos característicos de proteínas. Grânulos de proteínas foram mais evidenciados pelo corante nos ácinos salivares do rei que nos da rainha (Figura 4).

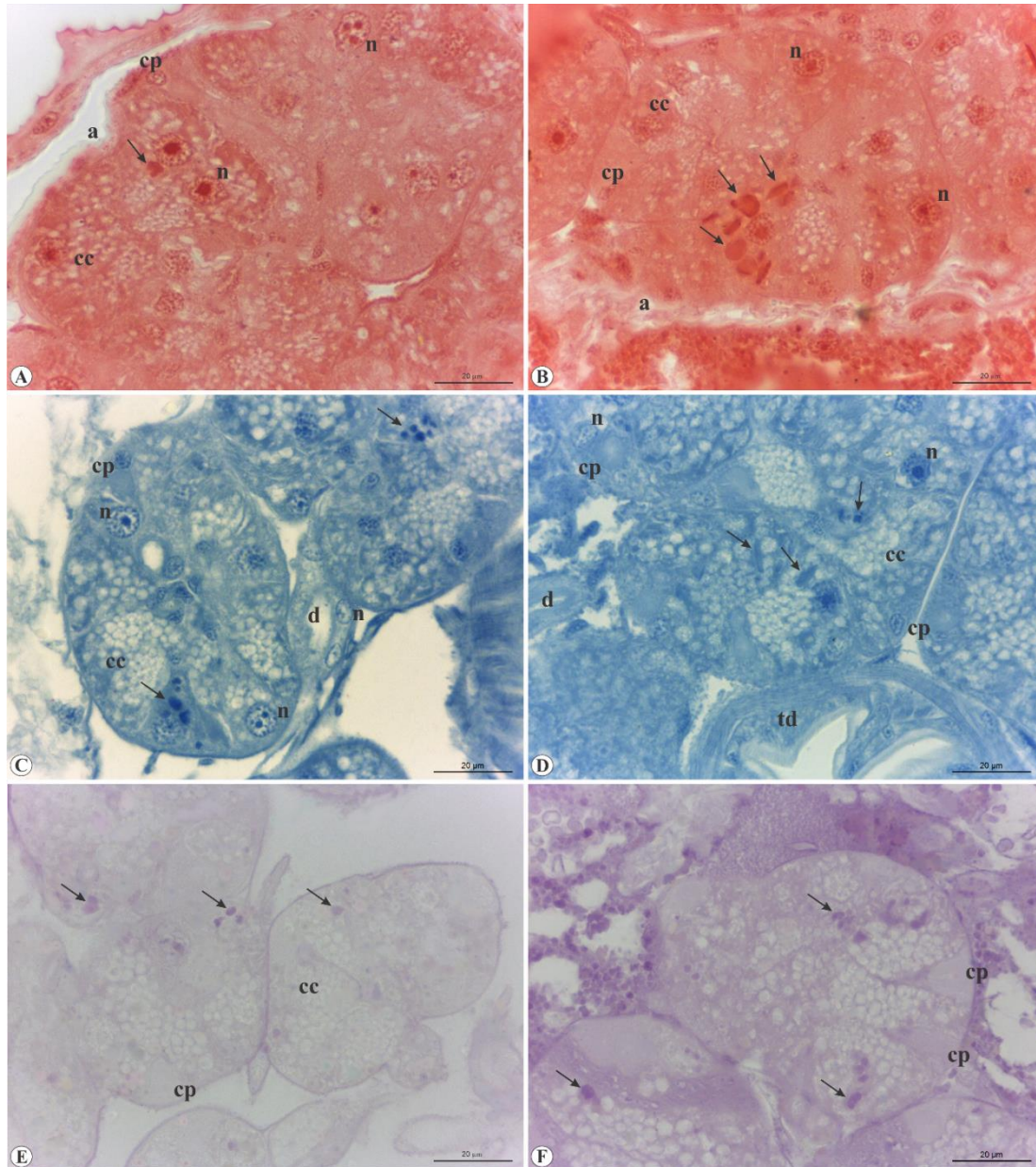


Figura 4 – Secção histológica das glândulas salivares de reprodutores de *Coptotermes gestroi*. A. Ácino salivar de rainha (colônia 83) corado com xylidine Ponceau. Seta indica grânulo de proteína. B. Ácino salivar de rei (colônia 83) corado com xylidine Ponceau. Setas indicam grânulos e cristais de proteína. C. Ácino salivar de rainha (colônia 92) corado com azul de bromofenol. Setas indicam grânulos de proteínas. D. Ácino salivar de rei (colônia 92) corado com azul de bromofenol. Setas indicam grânulos e cristais de proteína. E. Ácino salivar de rainha (colônia 92) corado com PAS. Setas indicam presença de polissacarídeos. F. Ácino salivar de rei (colônia 92) corado com PAS. Setas indicam presença de polissacarídeos. a = ácino; cc = célula central; cp = célula parietal; d = ducto; n = núcleo; td = tubo digestivo. Escala: 20 µm

#### 4.4 Morfometria comparada dos ácinos salivares de rainhas de 2 meses e de 1 ano de *Coptotermes gestroi*

As médias das áreas dos ácinos salivares das rainhas de dois meses e de um ano estão dispostas na Figura 5. As rainhas de 1 ano exibiram ácinos menores do que aqueles presentes nas rainhas mais jovens ( $P < 0,0001$ ), cujas tarefas incluíam alimentar os imaturos (Figura 6).

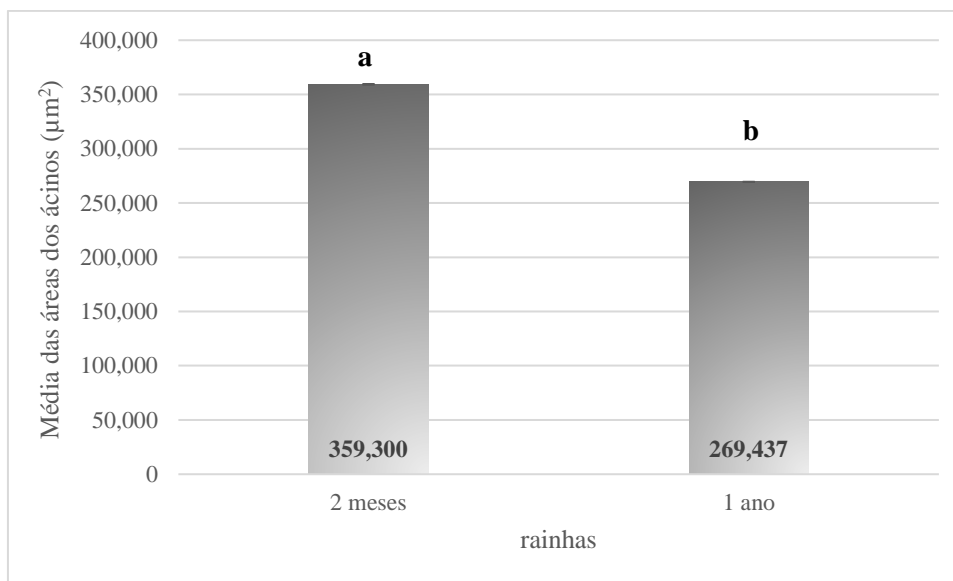


Figura 5 – Média e erro padrão das áreas dos ácinos de rainhas de colônias iniciais de 2 meses e de colônias com 1 ano de *C. gestroi*. Letras diferentes apresentam diferença significativa

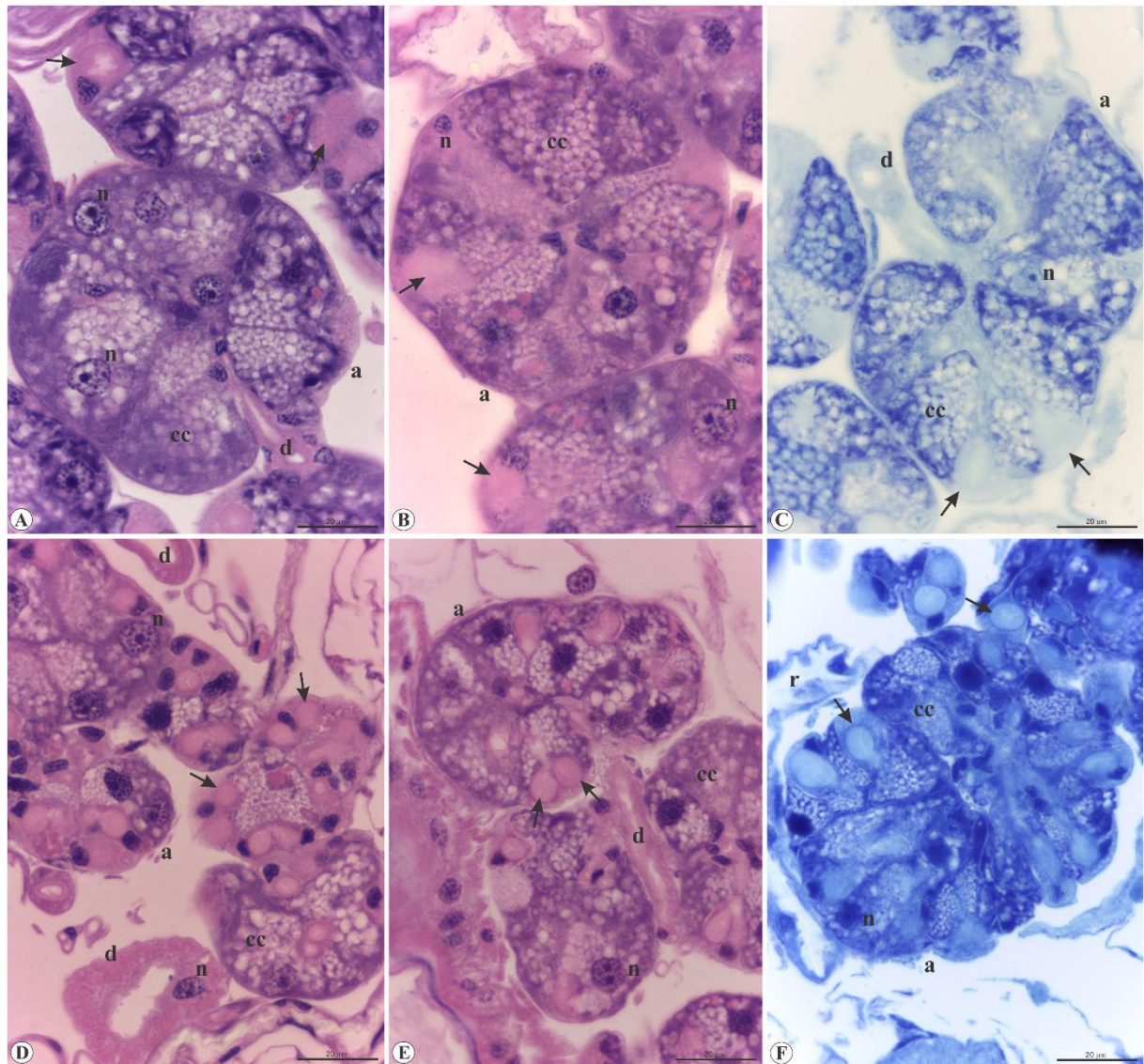


Figura 6 - Secção histológica das glândulas salivares de reprodutores de *Coptotermes gestroi*. A, B e C. Ácinos salivares de rainhas de 2 meses provenientes de colônias incipientes (colônias 25, 123 e 92, respectivamente) antes do aparecimento de operários. D, E e F. Ácinos salivares de rainhas provenientes de colônias de 1 ano de idade (colônias 7, 9 e 37, respectivamente). Notar que as rainhas de 2 meses possuem ácinos mais arredondados. A, B, D e E: hematoxilina-eosina; C e F: azul de toluidina. Setas indicam células parietais; a = ácino; cc = célula central; d = ducto; n = núcleo; r = reservatório. Escala: 20  $\mu$ m

#### 4.5 Morfometria comparada dos ácinos salivares de reis de 2 meses e de 1 ano de *Coptotermes gestroi*

A média das áreas dos ácinos salivares dos reis de dois meses e de um ano estão dispostas na Figura 7. Os reis de 1 ano exibiram ácinos menores ( $P < 0,0001$ ) do que aqueles presentes em reis mais jovens, cujas tarefas incluíam realizar “grooming” nas larvas (Figura 8).

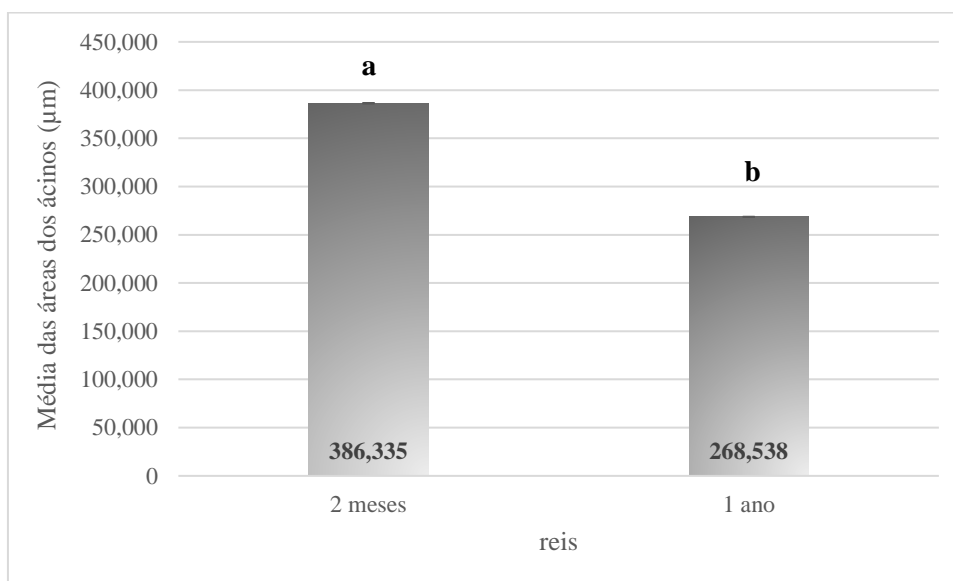


Figura 7 – Média e erro padrão das áreas dos ácinos de rainhas de colônias iniciais de 2 meses e de colônias com 1 ano de *C. gestroi*. Letras diferentes apresentam diferença significativa

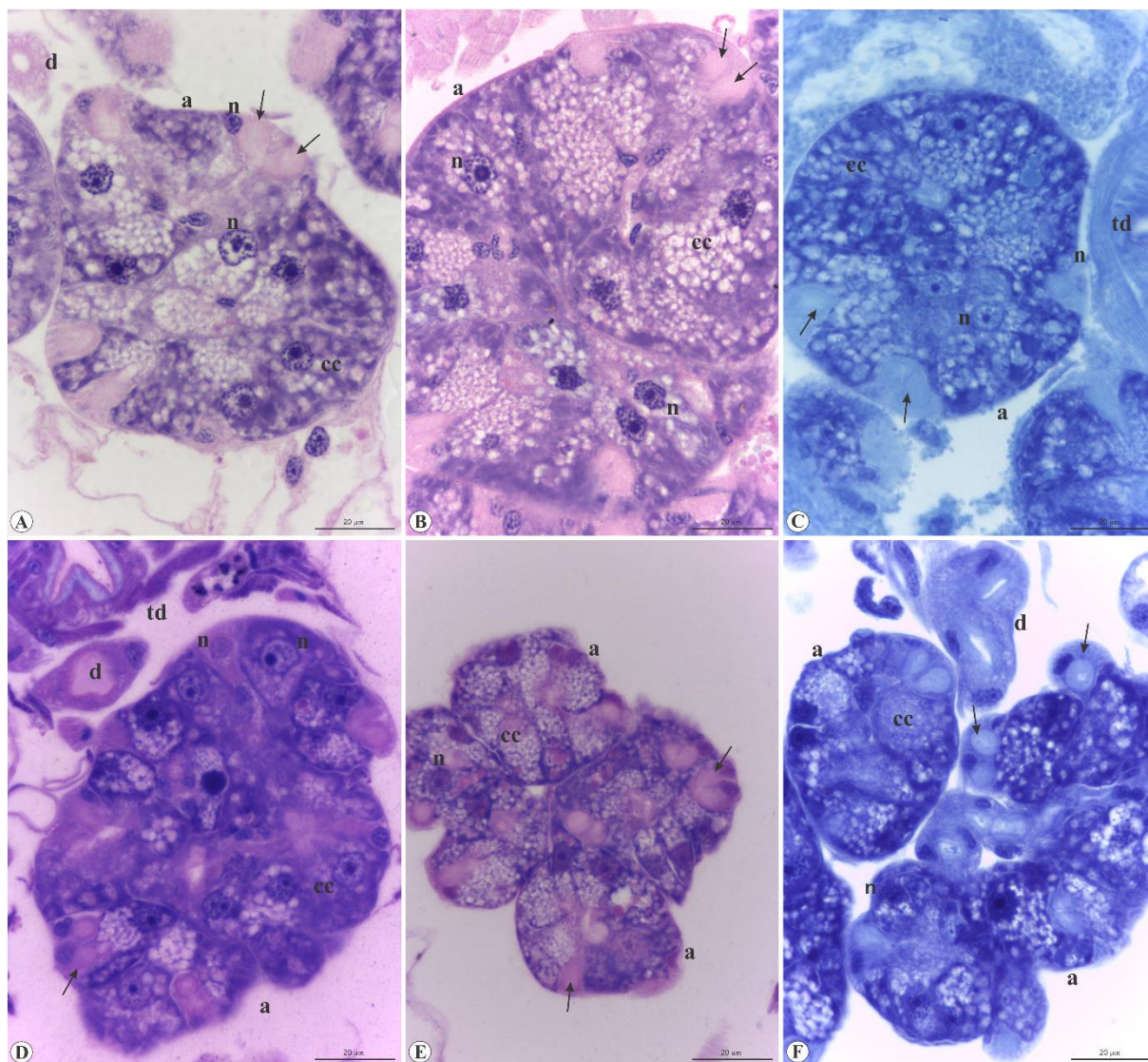


Figura 8 - Secção histológica das glândulas salivares de reis de *Coptotermes gestroi*. A, B e C. Ácinos salivares de reis de 2 meses provenientes de colônias incipientes (colônias 25, 123 e 92, respectivamente) antes do aparecimento de operários. D, E e F. Ácinos salivares de reis provenientes de colônias de 1 ano de idade (colônias 37, 7 e 15, respectivamente). Notar que os reis de 2 meses possuem ácinos mais arredondados. A, B, D e E: hematoxilina-eosina; C e F: azul de toluidina. Setas indicam células parietais; a = ácino; cc = célula central; d = ducto; n = núcleo; r = reservatório. Escala: 20  $\mu$ m

#### 4.6 Histoquímica comparada dos ácinos salivares de reis de 2 meses e de 1 ano de *Coptotermes gestroi*.

As células centrais do tipo I de ambos os reprodutores de 2 meses mostraram a presença de proteínas e polissacarídeos, além de lipídios. Contudo, a secreção proteica diminuiu nos reis e rainhas de 1 ano, diferente dos polissacarídeos cuja quantidade aumentou com o envelhecimento desses reprodutores (Figura 9).

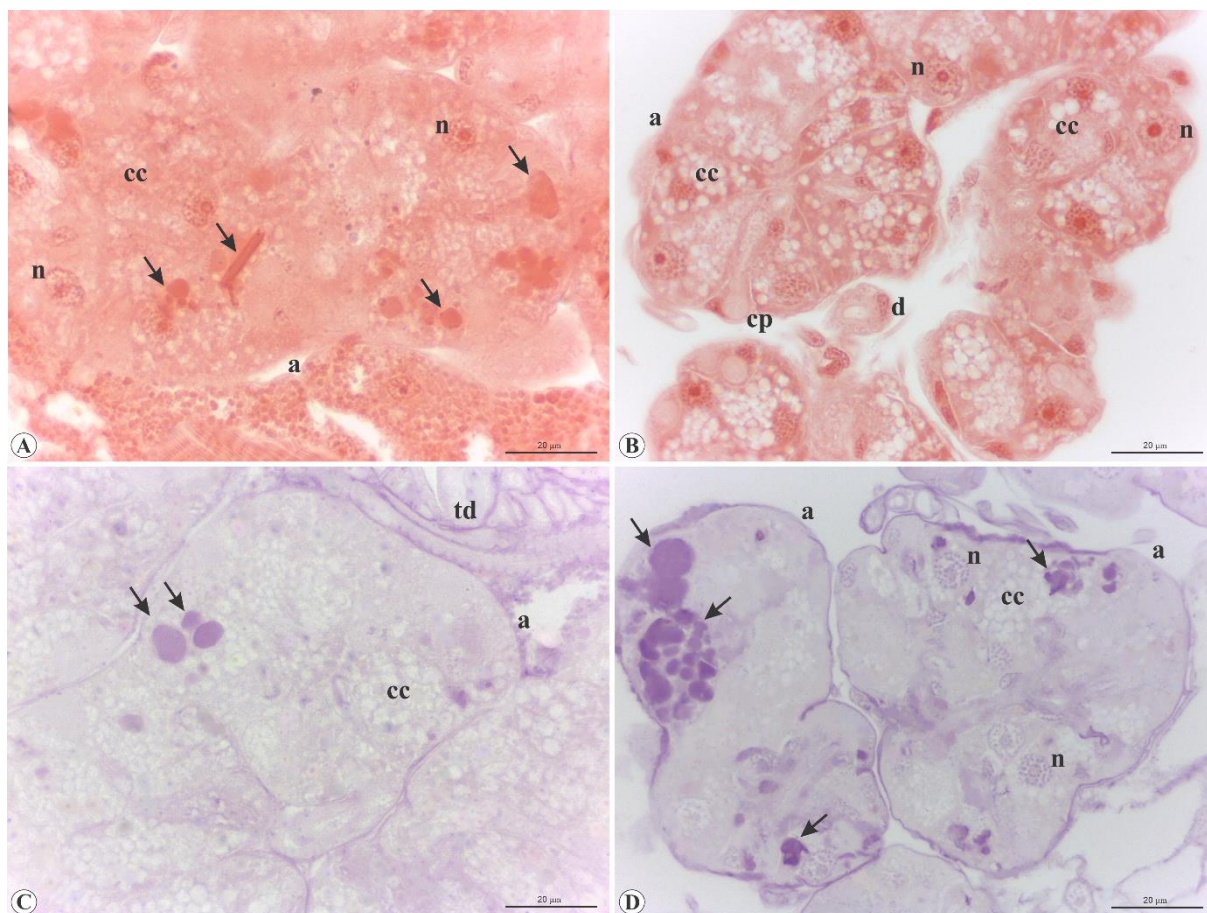


Figura 9 - Secção histológica das glândulas salivares de reis de 2 meses e de 1 ano de *Coptotermes gestroi*. A. Ácino salivar de rei de 2 meses (colônia 83) corado com xylydine Ponceau. Setas indicam grânulos e cristais. B. Ácino salivar de rei de 1 ano (colônia 15) corado com xylydine Ponceau. C. Ácino salivar de rei de 2 meses (colônia 92) corado com PAS. Setas indicam presença de polissacarídeos. D. Ácino de rei de 1 ano (colônia 7) corado com PAS. Setas indicam presença de polissacarídeos. a = ácino; cc = célula central; cp = célula parietal; d = ducto; n = núcleo; td = tubo digestivo. Escala: 20 µm

#### 4.7 Histologia dos ácinos das glândulas salivares de reis e rainhas de colônias de *Cornitermes cumulans*

Assim como em *C. gestroi*, as glândulas salivares presentes em reprodutores de *C. cumulans* são pares e compostas por ductos e grupos de ácinos multicelulares, conectados a dois reservatórios transparentes.

Os ácinos das glândulas salivares dos reprodutores de *C. cumulans* apresentaram três tipos de células: células secretoras centrais do tipo I, células secretoras centrais do tipo II e células parietais. Células do tipo I são mais numerosas, com grandes grânulos de secreções, enquanto células do tipo 2 são mais alongadas e menos comuns. Células parietais ocorrem em pares na periferia dos ácinos e não contém secreção (Figura 10).

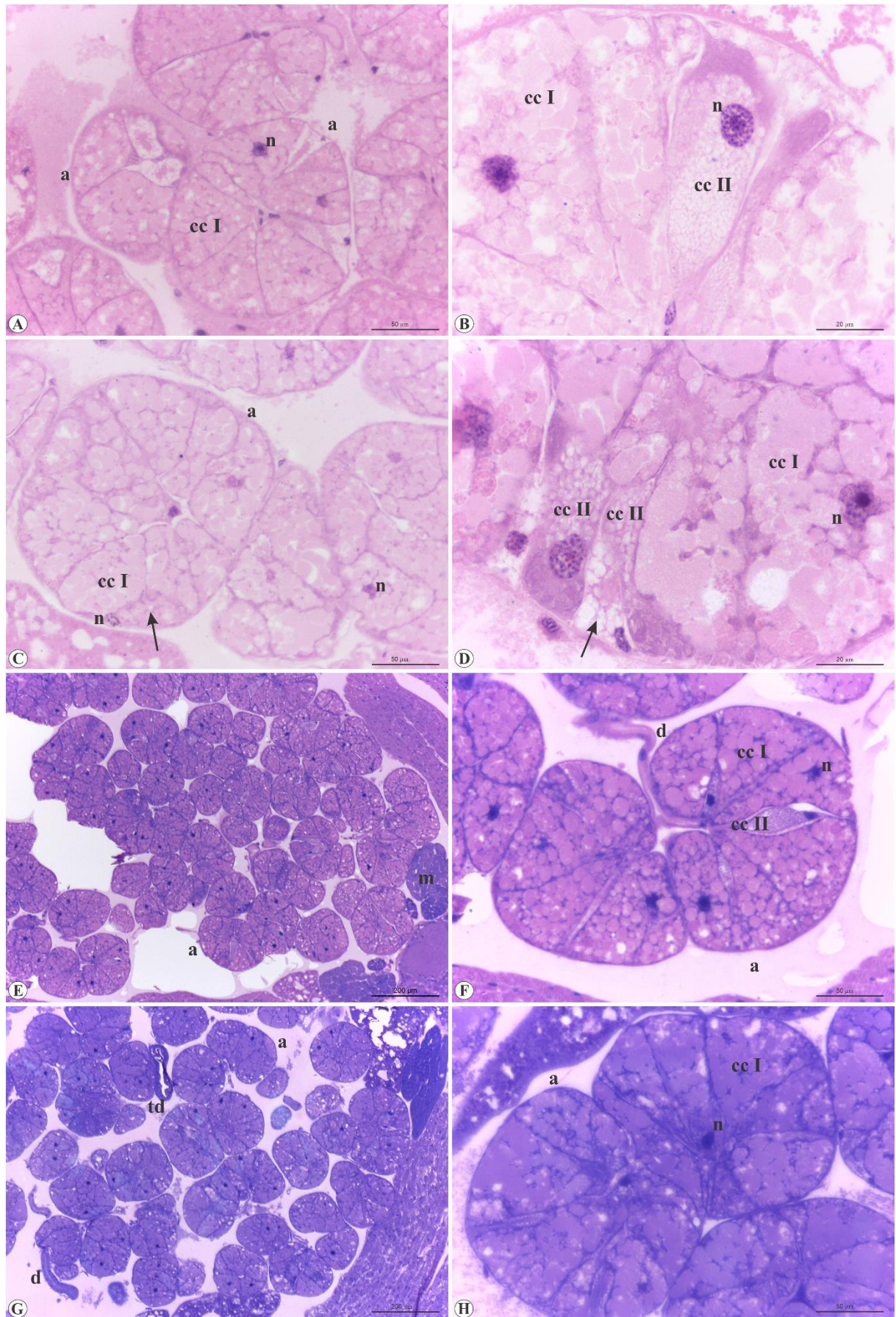


Figura 10 – Secção histológica do tórax de reprodutores de *Cornitermes cumulans*. A e B. Ácinos da glândula salivar da rainha (colônia 19). C e D. Ácinos da glândula salivar do rei (colônia 19). E. Vista geral do tórax da rainha (colônia 5) de *C. cumulans* mostrando a disposição dos ácinos salivares. F. Ácinos da glândula salivar da rainha (colônia 5). G. Vista geral do tórax do rei (colônia 5) de *C. cumulans* mostrando a disposição dos ácinos salivares. H. Ácinos da glândula salivar do rei (colônia 5). Coloração: A-D: hematoxilina-eosina; E-H: azul de toluidina fúcsina. Setas indicam células parietais; a = ácino; cc I = célula central tipo I; cc II = célula central tipo II; d = ducto; m = músculo; n = núcleo; td = tubo digestivo.

#### 4.8 Morfometria dos ácinos salivares de reis e rainhas de *Cornitermes cumulans*

A área dos ácinos salivares dos reprodutores de *C. cumulans* provenientes das três colônias analisadas (colônias 5, 19 e 49) não foram significativamente diferentes quando foram comparados reis e rainhas (Figura 11).

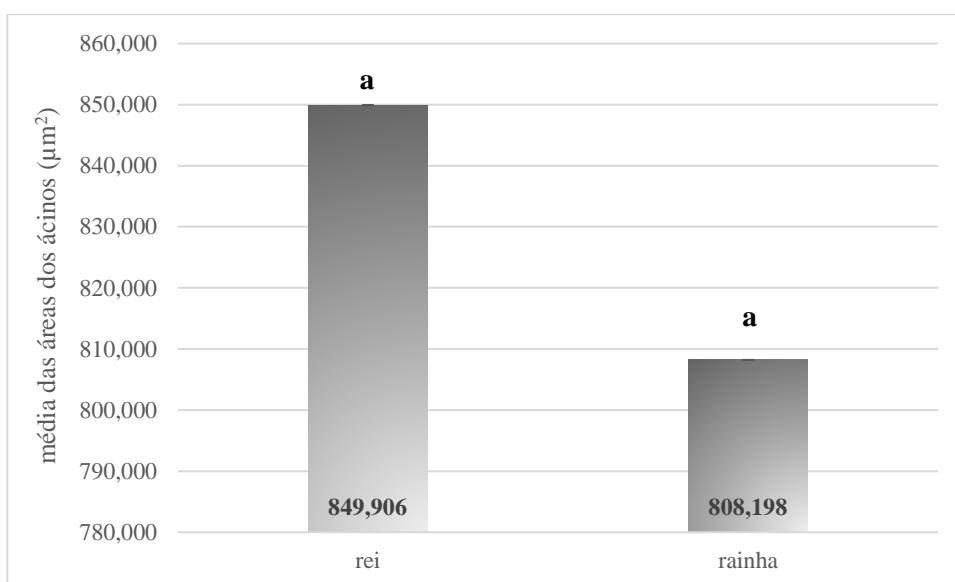


Figura 11 – Média e erro padrão das áreas dos ácinos dos reis e rainhas das três colônias analisadas. Letras iguais não apresentam diferença significativa ( $P > 0,05$ )



#### 4.9 Histoquímica das glândulas salivares em reprodutores de *Cornitermes cumulans*

A histoquímica dos ácinos salivares dos reprodutores mostrou que reis e rainhas de *C. cumulans* apresentaram proteínas e polissacarídeos na secreção das células centrais do tipo I (Figura 12). As células centrais do tipo II não reagiram com nenhum dos corantes, assim como as células parietais. A tabela 3 resume os resultados dos diferentes testes histoquímicos aplicados.

Tabela 3 – Resultados dos testes histoquímicos aplicados em secções histológicas dos ácinos das glândulas salivares de reprodutores de *Cornitermes cumulans*.

Coloração	Rei			Rainha		
	Célula central tipo I	Célula central tipo II	Célula parietal	Célula central tipo I	Célula central tipo II	Célula parietal
Azul de bromofenol	+	-	-	+	-	-
xilidine Ponceau	+	-	-	+	-	-
PAS	+	-	-	+	-	-

+ positivo - negativo

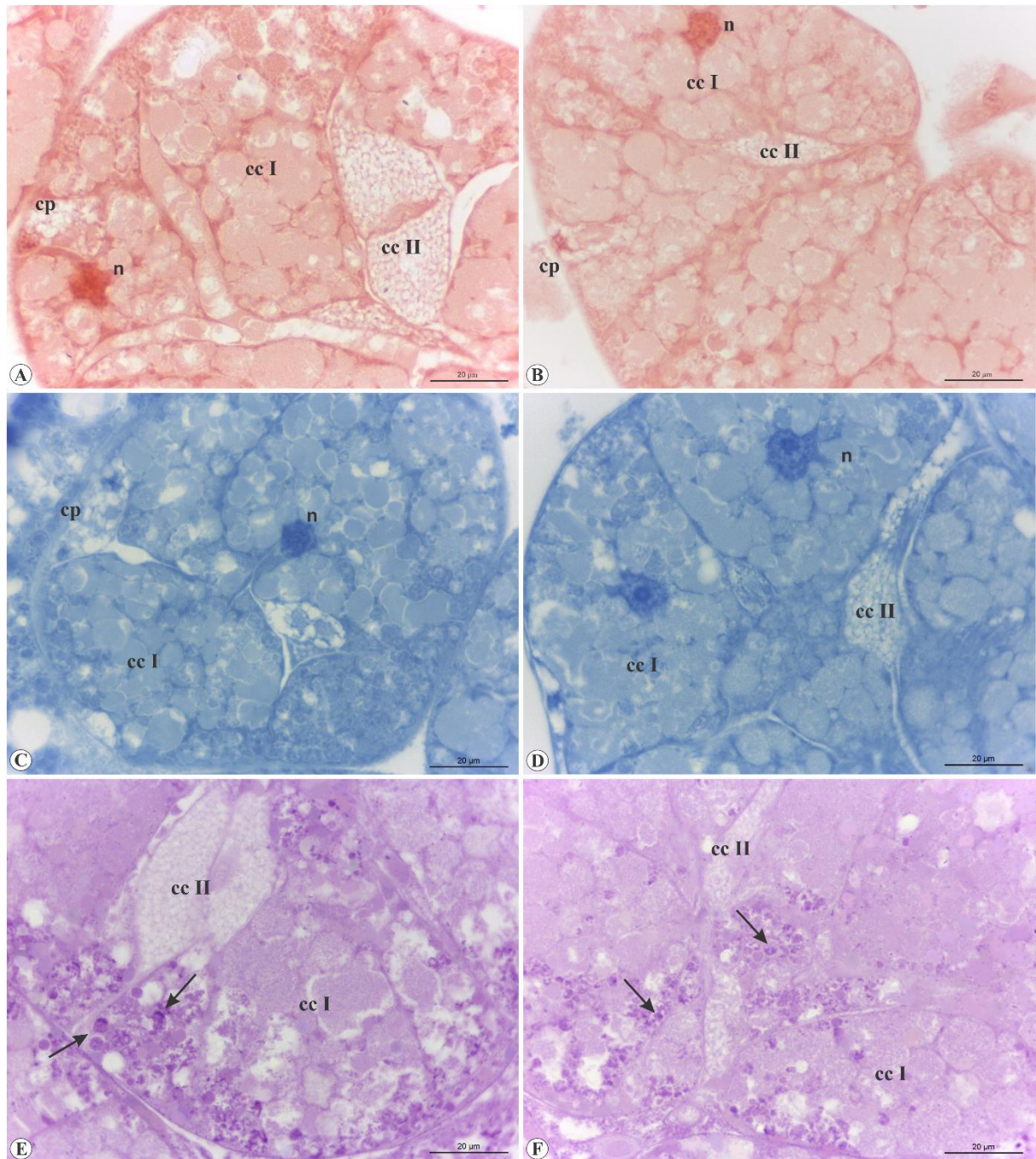


Figura 12 – Secção histológica das glândulas salivares de reprodutores de *Cornitermes cumulans* da colônia 5. A. Ácino salivar de rainha corado com xylidine Ponceau. B. Ácino salivar de rei corado com xylidine Ponceau. C. Ácino salivar de rainha corado com azul de bromofenol. D. Ácino salivar de rei corado com azul de bromofenol. E. Ácino salivar de rainha corado com PAS. Setas indicam presença de polissacarídeos. F. Ácino salivar de rei corado com PAS. Setas indicam presença de polissacarídeos. cc1 = célula central do tipo I; cc 2 = célula central do tipo II; cp = célula parietal. Escala: 20 µm

## 5. Discussão

As glândulas salivares ou labiais estão presentes em todas as castas de Isoptera, mas poucos trabalhos contemplam a morfologia dos ácinos em reprodutores. De acordo com Noirot (1969) e Costa-Leonardo (1986/1987, 1997), essas glândulas pares estão constituídas por um conjunto de ácinos e dois reservatórios ligados a um sistema de dutos, os quais desembocam em um duto comum na base da hipofaringe. Esta morfologia básica, com glândulas similares a cachos de uvas e reservatórios para armazenagem de secreção, é a mesma descrita para baratas por Day (1950), Kessel e Beams (1963), Bland e House (1971) e Just e Walz (1994). De acordo com Sillam-Dussès et al. (2012), a secreção das glândulas salivares de operários de cupins não está limitada a poucos compostos, mas contém celulasas e hidroquinonas, confirmando o papel dessas glândulas na digestão e defesa dessa casta, respectivamente. Além disso, existem alguns compostos tóxicos que foram identificados tanto em operários quanto em soldados de algumas espécies de Isoptera, confirmando o envolvimento defensivo dessas castas nas espécies estudadas pelos referidos autores. Portanto, fica claro que as glândulas salivares secretam enzimas que participam da digestão dos indivíduos, contudo, Noirot (1969) enfatiza a participação dessas glândulas exócrinas na alimentação dos imaturos, e afirma que larvas recebem apenas uma alimentação constituída por saliva, que é a mesma alimentação recebida pelos reprodutores de uma colônia que possui operários (GRASSÉ, 1982).

No presente estudo, constatou-se que o ácinos salivares dos reprodutores de *C. gestroi* e *C. cumulans* são constituídos por células parietais e células centrais, sendo que as últimas podem ainda apresentar vários tipos celulares diferentes, como descrito para glândulas salivares de outras espécies de cupins (NOIROT, 1969; BILLEN et al., 1989). Cinco diferentes tipos celulares foram observados nas glândulas salivares de falso operários de *Protrichotermes simplex* (ŠOBOTNÍK; WEYDA, 2003). No operário do cupim *Serritermes serrifer*, os ácinos salivares dos operários apresentam um tipo celular, que é caracterizado por uma grande quantidade de secreção eletrondensa, na forma de anéis ou espirais concêntricas, que nunca foi descrito para outras espécies (COSTA-LEONARDO, 1997). As células parietais têm características de células que transportam íons e água da hemolinfa para a glândula (BLAND; HOUSE, 1971; BILLEN et al., 1989; ŠOBOTNÍK; WEYDA, 2003) e só parecem exercer atividade secretora em algumas espécies de cupins onde as glândulas salivares estão envolvidas na defesa (ŠOBOTNÍK et al., 2014). As células parietais foram observadas em maior número nos ácinos salivares de reis e rainhas de *C. gestroi*, quando comparadas com aqueles ácinos de reprodutores de *C. cumulans*, o que sugere uma maior necessidade de água pelos ácinos da

primeira espécie. Além disso, em reprodutores mais velhos de *C. gestroi*, o número dessas células é ainda maior, indicando uma maior aquisição de água pelos ácinos nessa fase.

Nos cortes histológicos dos ácinos salivares de reprodutores de *C. gestroi* e *C. cumulans*, observou-se que as células centrais são secretoras, com citoplasma carregado de enormes grânulos de secreção. Em *Macrotermes belicosus* e *P. simplex*, reprodutores alados possuem ácinos constituídos pelos mesmos tipos celulares que ocorrem em operários (BILLEN et al., 1989; ŠOBOTNÍK; WEYDA, 2003). Contudo, em reprodutores neotênicos de *P. simplex*, falta um tipo de célula central (ŠOBOTNÍK; WEYDA, 2003). No caso de reprodutores de *C. gestroi*, não foram observados diferentes tipos de células centrais, mas pode ser que o tipo II seja extremamente raro e difícil de detectar com microscopia de luz.

Apesar da quase uniformidade estrutural das glândulas salivares entre diferentes castas, existem diferenças histoquímicas importantes entre as células acinares de diferentes espécies, e que também foram verificadas na presente pesquisa. De acordo com Noirot (1969), no operário de *Cephalotermes rectangularis* (Termitidae), as células centrais do tipo I secretam lipídios e polissacarídeos, enquanto as do tipo II secretam glicoproteínas. Proteínas e polissacarídeos também foram verificados nas células centrais dos ácinos de glândulas salivares de operários de *C. gestroi* (CICOTE, 2003), concordando em parte com os resultados encontrados nas glândulas salivares de reis e rainhas da espécie. É interessante destacar, que quando os reprodutores param de alimentar os imaturos e começam a receber alimento dos operários, a quantidade de polissacarídeos aumentou em seus ácinos salivares.

Resultados histoquímicos dos ácinos salivares de reprodutores também confirmam a presença de polissacarídeos e proteínas nas glândulas salivares de reis e rainhas fundadores dos ninhos de *C. cumulans*. De acordo com Klowden (2007), as glândulas salivares estão associadas com a produção de enzimas digestivas e é considerada por Tokuda et al. (2012) um dos principais locais de síntese de lignocelulases.

Estudos ultraestruturais das glândulas salivares mostrou que Sousa et al. (2017) encontraram extensa rede de retículo endoplasmático nas células secretoras dos ácinos salivares de operários de *C. cumulans*, enquanto Cicote (2003) também observou grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso nas formas lamelar e vesicular nas mesmas células de operários de *C. gestroi*. Estes relatos estão de acordo com os resultados histológicos observados no presente estudo para reprodutores, que evidenciaram uma rede citoplasmática nas células centrais coradas com azul de toluidina, e os resultados positivos de testes histoquímicos para xylidine Ponceau e azul de bromofenol. As características morfológicas das células centrais confirmam as atividades de biossíntese na produção de proteínas e polissacarídeos, sendo que

este últimos devem estar fornecendo energia para manter os processos metabólicos, como ocorre nas glândulas salivares de operários de cupins, onde muitos grânulos de glicogênio foram observados (COSTA-LEONARDO; CRUZ-LANDIM, 1991).

A morfometria da área dos ácinos salivares não resultou em diferença significativa entre reis e rainhas, contudo, reprodutores mais velhos de *C. gestroi*, os quais não alimentam os imaturos, apresentam um menor desenvolvimento das glândulas salivares. Operários mais velhos de *Nasutitermes lujae* mostraram glândulas salivares menos desenvolvidas do que operários jovens, que são os que permanecem no ninho alimentando a cria (PASTEELS, 1965).

Relatos de mudanças na habilidade de secretar produtos glandulares relacionados com a idade já foram descritos para outras glândulas. Noirot e Noirot-Timotheé (1965) encontraram que as glândulas esternais regredem muito em reprodutores funcionais velhos de *Kalloterme flavicollis* e esta regressão também foi documentada em rainhas fisogástricas de *Trinervitermes bettonianus* (QUENNEDEY; LEUTHOLD, 1978) e de *C. cumulans* (IGNATI; COSTA-LEONARDO, 2001). Polietismo e mudanças fisiológicas estão conectadas e, de acordo com os resultados obtidos para as glândulas salivares de reprodutores de *C. gestroi*, o polietismo está relacionado à idade. Adicionalmente, não existem evidências de polietismo sexual e tudo indica que ambos os reprodutores contribuem com as mesmas atividades funcionais das glândulas salivares. Hizen et al. (2002) assumem que o conteúdo de proteína representa atividade nas glândulas salivares e, devido a isto, concluem que estas estruturas estão mais ativas em os operários que estão nas câmaras reais de *Macrotermes bellicosus* em comparação àquelas glândulas encontradas em operários forrageiros. Os autores ainda sugerem que os operários da câmara real possuem alto conteúdo proteico nas glândulas salivares e atuam na transferência de saliva para os reprodutores.

Polietismo etário envolvendo glândulas salivares está bem documentado em operários, mas não em reprodutores, o que ressalta a importância do presente estudo com essa casta. Billen et al. (1987) foram os primeiros que relataram que operários forrageiros de *M. bellicosus* apresentavam glândulas salivares reduzidas, assim como Pasteels (1965) havia relatado para *Nasutitermes lujae*. Mais tarde, como já foi mencionado, em *M. bellicosus*, diferenças entre as glândulas salivares de operários que atendem a rainha e operários forrageiros foram relacionadas à idade, já que estes últimos não parecem estar envolvidos em muita síntese proteica (HINZE et al., 2002). Além disso, Costa-Leonardo e Soares (1996) observaram com estudos ultraestruturais, a presença de estruturas degenerativas nas glândulas salivares de operários forrageiros de *Heterotermes tenuis*, confirmando de certa forma a ocorrência de polietismo etário nesta casta. Os resultados obtidos aqui com reprodutores de *C. gestroi*

sugerem que após o aparecimento dos operários, os quais passam a alimentar a cria, a secreção salivar diminui e sofre alteração funcional em reis e rainhas.

## 6. Referências bibliográficas

BESHERS, S.N.; FEWELL, J.H. Models of division of labor in social insects. **Annual Review of Entomology**, 46, pp. 413–440, 2001.

BILLEN, J.; LEUTHOLD, R.H.; JOYE, L. Salivary gland morphology related to polyethism in the termite *Macrotermes bellicosus*. In: EDER, J.; REMBOLD, H. (Eds.). **Chemistry and Biology of Social Insects**. J. Peperny, Munich. p. 415, 1987.

BILLEN, J.; JOYE, L.; LEUTHOLD, R. H. Fine structure of the labial gland in *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Termitidae). **Acta Zoologica**, v. 70, p. 37-45, 1989.

BLAND, K.P.; HOUSE, C.R. Function of the salivary glands of the cockroach, *Nauphoeta cinerea*. **Journal of insect physiology**, v. 17, n. 11, p. 2069-2084, 1971.

CHOUVENC, T.; SU, N.Y. Irreversible transfer of brood care duties and insights into the burden of caregiving in incipient subterranean termite colonies. **Ecological entomology**, v. 42, n. 6, p. 777-784, 2017.

CICOTE, G.M. Morfologia histoquímica e bioquímica das glândulas salivares de *Coptotermes havilandi*. Dissertação de Mestrado, IB Unesp Rio Claro, 97p., 2003.

COSTA-LEONARDO, A.M. Morfologia das glândulas salivares de *Cornitermes cumulans* e *Armitermes euamignathus* (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). **Naturalia**, 11/12, p. 71-76, 1986/1987.

COSTA-LEONARDO, A.M. Secretion of salivary glands of the Brazilian termite *Serritermes serrifer* (Isoptera, Serritermitidae). **Ann. Soc. Entomol. Fr.**, v. 33, n. 1, p. 29-37, 1997.

COSTA-LEONARDO, A.M. Cupins-Praga: Morfologia, Biologia e Controle. A. M. Costa-Leonardo (Ed.), Rio Claro, 128 p., 2002.

COSTA-LEONARDO, A.M.; CRUZ-LANDIM, C. Morphology of the salivary gland acini in *Grigiotermes bequaerti* (Isoptera: Termitidae: Apicotermitinae). **Entomology Generalis**, v. 16, p. 13 – 21, 1991

COSTA-LEONARDO, A.M.; SOARES, H.X. Degenerative structures in the salivary glands of the termite *Heterotermes tenuis* (Isoptera, Rhinotermitidae). **Biociências**, v. 4, n. 1, p.145-153, 1996.

DAY, M.F. 1951. The mechanism of secretion by the salivary gland of the cockroach *Periplaneta americana* (L.). **Australian Journal of Biological Sciences**, v. 4, n. 2, p.136-143, 1951.

DELIGNE, J.; QUENNEDEY, A.; BLUM, M.S. **The enemies and defense mechanisms of termites**. In: HERMANN, H.R. (Ed.). *Social Insects*, Vol. 2, Academic Press, New York, pp. 1-76, 1981

GRASSÉ, P.-P. 1982. Les glandes tégumentaires. In: GRASSÉ, P.-P. (ed.). *Termitologia*, Masson, Paris, Tome I, p. 85-129.

- HINZE, B.; CRAILSHEIM, K.; LEUTHOLD, R.H. Polyethism in food processing and social organisation in the nest of *Macrotermes bellicosus* (Isoptera, Termitidae). **Insectes sociaux**, 49(1), pp.31-37, 2002.
- IGNATI, A.C.; COSTA-LEONARDO, A.M. The exocrine glands of swarming females and physogastric queens of *Cornitermes cumulans* (Kollar) (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae). *Revista Brasileira de Zoologia*, v.18, n. 4, 2001
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, M. M. S. Técnicas básicas de citologia e histologia. São Paulo: Livraria Editora Santos. 1983. 123p.
- JUST, F.; WALZ, B. Salivary glands of the cockroach, *Periplaneta americana*: new data from light and electron microscopy. **Journal of Morphology**, v. 220, n. 1, p.35-46, 1994
- KESSEL, R.G.; BEAMS, H.W. Electron microscope observations on the salivary gland of the cockroach, *Periplaneta americana*. **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, v. 59, n.6, pp.857-877, 1963.
- KLOWDEN, M.J. Physiological systems in insects, Second ed. Amsterdam: Elsevier Inc., p. 688, 2007
- MACHIDA, M.; MIURA, T.; KITADE, O.; MATSUMOTO, T. Sexual polyethism of founding reproductives incipient colonies of the japanese dump wood *Hodotermopsis japonica* (Isoptera: Termopsidae). **Sociobiology**, v. 38, p. 501-513, 2001.
- MACMAHAN, E.A. Temporal polyethism in termites. **Sociobiology** v. 4, n. 2, p. 153- 168, 1979.
- MELO, M. L. S.; VIDAL, B. C. Práticas de biologia celular. São Paulo: Editora Edgard Blucher, 1980, 69p.
- NOIROT, C. Glands and secretions. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F.M. (Eds.) **Biology of Termites**, New-York, Academic Press, Vol. I, pp. 89–123, 1969.
- NOIROT, C.; NOIROT-TIMOTHÉE, C. La glande sternale dans l'évolution des Termites. **Insectes sociaux**, v. 12, n. 3, p. 265-272, 1965.
- NUTTING, W. L. Flight and colony foundation. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F.M. (Eds.). **Biology of Termites**, Vol. 1, pp. 233-282. Academic Press, New York, 1969.
- OSTER, G.F.; WILSON, E. **Caste and ecology in the social insects**. Princeton University Press, Princeton (New Jersey), 1978.
- PASTEELS, J. M. Polyethisme chez les ouvriers de *Nasutitermes lujae* (Termitidae, Isopteres). **Biologia Gabonica**, 1-191, 1965.
- PEARSE, A. T. E. Histochemistry: theoretical and applied. London: J&A. Churchill, 1960, 998p.



QUENNEDEY, A.; LEUTHOLD, R.H. Fine structure and pheromonal properties of the polymorphic sternal gland in *Trinervitermes bettonianus* (Isoptera, Termitidae). **Insectes sociaux**, v. 25, n. 2, p. 153–162, 1978.

ROSENGAUS, R. B.; TRANIELLO, J. F. A. Biparental care in incipient colonies of the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Hagen) (Isoptera: Termopsidae). **Journal Insect Behavior**, v. 4, p. 633–648, 1991.

SILLAM-DUSSÈS, D.; KRASULOVÁ, J.; VRKOSLAV, V.; PYTELKOVÁ, J.; CVAČKA, J.; KUTALOVÁ, K.; BOURGUIGNON, T.; MIURA, T.; ŠOBOTNÍK, J. Comparative study of the labial gland secretion in termites (Isoptera). **PloS one**, v. 7, n.10, p. e46431, 2012.

ŠOBOTNIK, J.; WEYDA, F. Ultrastructural ontogeny of the labial gland apparatus in termite *Prorhinotermes simplex* (Isoptera, Rhinotermitidae). **Arthropod structure & development**, v. 31, n. 4, p. 255-270, 2003.

ŠOBOTNÍK, J.; KUTALOVÁ, K.; VYTISKOVÁ, B.; ROISIN, Y.; BOURGUIGNON, T. Age-dependent changes in ultrastructure of the defensive glands of *Neocapritermes taracua* workers (Isoptera, Termitidae). **Arthropod structure & development**, v. 43, n. 20, p.5e210, 2014.

SOUSA, G.; SANTOS, V.C.; FIGUEIREDO, N. G.; CONSTANTINO, R.; SILVA, G.D.O.P.; BAHIA, A.C.; GOMES, F.M.; MACHADO, E.A. Morphophysiological study of digestive system litter-feeding termite *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832). **Cell and tissue research**, v. 368, n. 3, p.579-590, 2017.

THORNE, B. L. Termite terminology. **Sociobiology**, v. 28, p. 253-263, 1996

TOKUDA, G.; WATANABE, H.; HOJO, M.; FUJITA, A.; MAKIYA, H.; MIYAGI, M.; ARAKAWA, G.; ARIOKA, M. Cellulolytic environment in the midgut of the wood-feeding higher termite *Nasutitermes takasagoensis*. **Journal of insect physiology**, v. 58, n. 1, p. 147-154, 2012.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Reprodutores primários de *Coptotermes gestroi* não apresentaram polietismo sexual no cuidado com os ovos no início da formação das colônias;
- Reprodutores primários de *Coptotermes gestroi* apresentaram polietismo sexual no cuidado com as larvas no início da formação das colônias;
- Rainhas primárias de *Coptotermes gestroi* investiram mais em trofalaxia estomodeal e proctodeal com larvas do que reis no início da formação das colônias;
- Reis primários de *Coptotermes gestroi* investiram mais na atividade de “grooming” das larvas do que rainhas no início da formação das colônias;
- Reprodutores primários de *Cornitermes cumulans* apresentaram polietismo sexual no cuidado com ovos no início da formação das colônias;
- Rainhas primárias de *C. cumulans* investiram mais no comportamento de “grooming” em ovos do que reis no início da formação das colônias;
- Reprodutores primários de *Cornitermes cumulans* não apresentaram polietismo sexual no cuidado com larvas no início da formação das colônias;
- Reprodutores primários de *Coptotermes gestroi* investiram mais em transporte de ovos do que os reprodutores de *Cornitermes cumulans* no início da formação das colônias;
- Reprodutores primários de *Cornitermes cumulans* investiram mais em atividade de “grooming” em ovos do que os reprodutores de *Coptotermes gestroi* no início da formação das colônias;
- Glândulas salivares de reis e rainhas primários de *Coptotermes gestroi* e *Cornitermes cumulans* apresentaram desenvolvimento similar no início da formação das colônias;
- Ácinos das glândulas salivares de reprodutores primários de *Coptotermes gestroi* mostraram um único tipo de célula central (tipo I) no início da formação das colônias;
- Ácinos das glândulas salivares de reprodutores primários de *Coptotermes gestroi* apresentaram mais células parietais do que aqueles presentes em glândulas salivares de reprodutores primários de *Cornitermes cumulans* no início da formação das colônias;
- Ácinos das glândulas salivares de reprodutores primários de *Cornitermes cumulans* mostraram dois tipos de células centrais secretoras (tipo I e II) no início da formação das colônias;
- Os reprodutores primários de *Coptotermes gestroi* mostraram um polietismo etário quanto ao desenvolvimento das glândulas salivares.