

DIOGO ANDRADE COSTA

**CUSTOS DO ENCONTRO ENTRE CUPINS INQUILINOS E
HOSPEDEIROS (BLATTODEA: ISOPTERA)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

C837c
2015
Costa, Diogo Andrade, 1980-
Custos do encontro entre cupins inquilinos e hospedeiros
(Blattodea: Isoptera) / Diogo Andrade Costa. – Viçosa, MG,
2015.
xi, 88f. : il. ; 29 cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Og Francisco Fonseca de Souza.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.67-81.

1. Térmita - Comportamento. 2. Térmita - Populações.
3. Inseto - Comportamento. 4. Sociedades de insetos.
5. Entomologia. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Entomologia. Programa de Pós-graduação
Entomologia. II. Título.

CDD 22. ed. 595.736

DIOGO ANDRADE COSTA

**CUSTOS DO ENCONTRO ENTRE CUPINS INQUILINOS E
HOSPEDEIROS (BLATTODEA: ISOPTERA)**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Entomologia, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 16 de Dezembro de 2015.

Thiago Santos

Ricardo Ribeiro de Castro Solar

Simon Luke Elliot

Terezinha Maria Castro Della Lucia

Og Francisco Fonseca de Souza
(Orientador)

AGRADECIMENTOS

Aos proprietários das fazendas Toca do Coelho (Vila Bela da Santíssima Trindade-MT), Cavalo Branco (Diamantino-MT), Tamboril (Gameleria de Goiás-GO) e Porto Alegre (Divinópolis-MG) que muito gentilmente permitiram que eu retirasse alguns cupinzeiros de suas terras.

Ao CNPq e ao Dr. Heraldo Vasconcelos, à UNEMAT, à UEG e à UFV por propiciar o trabalho nas diversas localidades que visitei.

À UNEMAT, que me financiou durante três anos deste doutorado.

À UFV, ao Departamento de Entomologia e ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia.

Aqueles que me conhecem sabem que não sou muito apegado a protocolos, então finalizarei com um agradecimento mais geral.

Muita gente contribuiu para minha formação científico-profissional e para que esta tese chegasse onde chegou: amigos, familiares, colegas de laboratório e de trabalho, professores, alunos, membros da banca, companheiros termitólogos e em especial o Orientador. Utilizando-se de termos de Lucila Murcia, fui recompensado pelo convívio com tais pessoas, e espero apenas que também possa ter recompensado àqueles que conviveram comigo neste período.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	viii
Resumo	x
Abstract	xi
1 Introdução	1
1.1 Problemática	2
1.2 Organização dos Capítulos	3
2 Inquilinismo em cupins: uma análise dos mecanismos co-evolutivos	5
2.1 Introdução	6
2.2 Mecanismos co-evolutivos do Inquilinismo	6
2.2.1 Detecção do ninho	7
2.2.2 Invasão do Ninho	7
2.2.2.1 Falha na Invasão	9
2.2.3 Permanência no Ninho	11
2.2.3.1 Estratégias de Reconhecimento dos Hospedeiros	11
2.2.3.2 Estratégias Repulsivas dos Inquilinos	12
2.2.3.3 Estratégias Evasivas dos Inquilinos	13
2.2.3.4 Resultados da Interação Inquilino-Hospedeiro	13
2.3 Considerações Finais	15
3 Incubadora portátil: uma alternativa para realização de bioensaios com insetos em condições de campo	17
3.1 Introdução	18
3.2 Material e Métodos	19
3.2.1 Idéia Geral do Experimento	19
3.2.2 Espécies Estudadas	20
3.2.3 Amostragem dos Ninhos	20
3.2.4 Montagem do Experimento	20
3.2.5 Análises dos Dados	22
3.3 Resultados	22
3.4 Discussão	23
4 Quem irá sofrer se eu não pagar o aluguel? Custos do encontro entre cupins inquilinos e hospedeiros	26
4.1 Introdução	27
4.2 Material e Métodos	28
4.2.1 Idéia Geral do Experimento	28
4.2.2 Espécies Estudadas	29
4.2.3 Amostragem dos Ninhos	29
4.2.4 Montagem do Experimento	30
4.2.5 Condução do Experimento	31

4.2.6	Análises dos Dados	31
4.3	Resultados	32
4.4	Discussão	34
5	Padrões ecológicos e evolutivos do custo do encontro entre cupins co-habitantes	38
5.1	Introdução	39
5.2	Material e Métodos	41
5.2.1	Idéia Geral do Experimento	41
5.2.2	Espécies Estudadas	41
5.2.3	Amostragem dos Ninhos	42
5.2.4	Montagem do Experimento	42
5.2.5	Condução do Experimento	43
5.2.6	Especialização do Inquilino	44
5.2.7	Condições Ambientais	45
5.2.8	Análises dos Dados	45
5.2.8.1	Análise de Sobrevivência	46
5.2.8.2	Contrastes Filogenéticos Independentes	46
5.2.8.3	Seleção de Modelos	48
5.3	Resultados	49
5.4	Discussão	50
6	First record of facultative inquilines in nests of <i>Constrictotermes cyphergaster</i> (Silvestri, 1901) (Blattodea: Isoptera)	56
6.1	Introduction	57
6.2	Material and Methods	58
6.2.1	Terms definition and general rationale	58
6.2.2	Focal species	59
6.2.3	Study area	59
6.2.4	Data collection	59
6.2.5	Analyses	60
6.3	Results	61
6.4	Discussion	61
A	Apêndice	82

LISTA DE FIGURAS

	Página
2.1 Possíveis etapas do inquilinismo em cupins (hospedeiros em preto e inquilinos com listras).	7
2.2 (a) Frequência de espécies de cupins hospedeiras em relação ao número de espécies invasoras (retirada de Marins, 2012); (b) Relação entre número de inquilinos e volume dos ninhos de <i>Cornitermes cumulans</i> (retirada de Marins et al. prep).	8
2.3 Número de soldados que chegam, por segundo, à um distúrbio na parede dos ninhos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> em relação ao volume (retirada de DeSouza et al., prep).	9
2.4 (a) Probabilidade de ocorrência de <i>Inquilinitermes microcerus</i> em relação ao volume dos ninhos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> (retirada de Cristaldo et al., 2012); (b) Probabilidade de ocorrência de <i>Inquilinitermes microcerus</i> em relação a presença de alados nos ninhos de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> (retirada de Rodrigues, 2013).	10
2.5 (a) Proporção de operários de <i>Inquilinitermes microcerus</i> que evitam a trilha de <i>Constrictotermes cyphergaster</i> , retornando (U-turn) ou abandonando a trilha, em bioensaios utilizando extratos do corpo inteiro (WBE) ou da glândula esternal (SGE) do hospedeiro (retirada de Cristaldo et al., 2014); (b) Resposta de <i>Inquilinitermes microcerus</i> às próprias substâncias de alarme (CS) e às de seu hospedeiro (HS), em bioensaios utilizando dois controles (UP: nenhuma substância, Hex: hexano), extratos da cabeça do operário (SWH), da cabeça do soldado (SSH) e da glândula frontal (FGE) (retirada de Cristaldo, 2014).	14
2.6 Diferenças na concentração de isótopos de nitrogênio em inquilinos e hospedeiros, evidenciando a segregação de dieta (retirada de Florencio et al., 2013).	15
3.1 Disposição do experimento dentro da caixa térmica e sensor interno do termômetro.	21
3.2 Sobrevivência de operários de <i>Cornitermes</i> spp. na caixa térmica e na incubadora dos ninhos amostrados em Viçosa-MG. Os pontos representam o momento de registro da morte de um ou mais indivíduos em cada tratamento. As duas curvas não são significativamente diferentes ($\chi^2 = 0.592$, $gl = 2$, $p = 0.74$).	23
3.3 Tempo médio para morte dos cupins de cada ninho em relação a variância da temperatura interna da caixa térmica durante o experimento. Cada ponto representa um ninho. Os ninhos de Viçosa-MG não foram utilizados nesta análise.	24

4.1	Efeito proporcional sobre a sobrevivência de inquilinos quando colocados em contato direto quando com hospedeiros (eixo x), e de hospedeiros quando colocados em contato direto com inquilinos (eixo y). Cada ponto corresponde a um par de espécies inquilino-hospedeiro. A elipse circunscreve os limites Bayesianos da nuvem de pontos. A linha demarcada representa o diâmetro maior da elipse com ângulo de inclinação $\theta = -0.099$, que significa que a redução de uma unidade de custo para os inquilinos equivale a um aumento de 0.0025 unidades de custo para os hospedeiros. O círculo representa o centróide, situado em $x=0.4187$ e $y= 0.6361$, e a excentricidade da elipse é de 0.84.	35
5.1	Efeito proporcional sobre a sobrevivência de inquilinos quando colocados em contato direto quando com hospedeiros (eixo x), e de hospedeiros quando colocados em contato direto com inquilinos (eixo y). Cada ponto corresponde a um par de espécies inquilino-hospedeiro. Os pontos preenchidos correspondem ao custos para o mesmo par de espécies em localidades distintas (quadrado: Diamantino, triângulo: Vila Bela). A elipse circunscreve os limites Bayesianos da nuvem de pontos. A linha demarcada representa o diâmetro maior da elipse com ângulo de inclinação $\theta = -0.099$, que significa que a redução de uma unidade de custo para os inquilinos equivale a um aumento de 0.0025 unidades de custo para os hospedeiros. O círculo representa o centróide, situado em $x=0.4187$ e $y= 0.6361$, e a excentricidade da elipse é de 0.84.	40
5.2	Filogenia dos gêneros utilizados neste trabalho (gêneros em cinza), baseada no cladograma proposto por Inward et al. (2007). Gêneros ausentes no cladograma original foram posicionados através de informações presentes em Krishna et al. (2013) e Rocha et al. (2012). Para o cálculo da distância filogenética assumiu-se o comprimento de cada ramo até o nó mais próximo como sendo 1.0.	47
5.3	Intervalos de confiança de 95% e contribuição das variáveis selecionadas para os modelos-candidatos do efeito do encontro na sobrevivência de inquilinos (gráfico superior), e hospedeiros (gráfico inferior).	51
5.4	Sobrevivência de inquilinos facultativos e obrigatórios quando em contato com seus hospedeiros. Valores iguais a 1.0 significa que não houve redução na sobrevivência, valores menores do que 1.0 representam a proporção na qual a sobrevivência foi reduzida quando houve o encontro.	52
5.5	Sobrevivência do hospedeiro quando em contato com o inquilino em relação a diferença entre as temperaturas interna e externa no momento do experimento (stress experimental) e a temperatura do ambiente original. Valores iguais a 1.0 significa que não houve redução na sobrevivência, valores menores do que 1.0 representam a proporção na qual a sobrevivência foi reduzida quando houve o encontro.	53
5.6	Número de espécies de inquilinos e hospedeiros em cada ecossistema. Os ecossistemas estão ordenados de acordo com a precipitação anual.	54

6.1	Nests of <i>Constrictotermes cyphergaster</i> sampled in Diamantino, Mato Grosso, Brazil. (a) Typical nest: intact, light-coloured, and free of mosses (b) Atypical nest: dark, eroded and covered by mosses.	64
6.2	Proportional number of termite species recorded as a host, relative to total number of species, in each subfamily of Blattodea: Isoptera: Termitidae. Mac: Macrotermininae; Sph: Sphaerotermitinae; For: Foraminitermitinae; Api: Apicotermitinae; Cub: Cubitermitinae; Ter: Termitinae; Syn: Syntermitinae; Nas: Nasutitermitinae.	64

LISTA DE TABELAS

	Página
5.1 Modelos considerados com maior evidência ($\Delta AICc < 2$) para explicar a variação no efeito do encontro sobre inquilinos e hospedeiros. Os modelos são derivados do modelo global conforme explicado no Material e Métodos. GL=graus de liberdade usados pelo modelo, AICc=critério de Akaike corrigido pelo tamanho da amostra, $\Delta AICc$ =diferença entre o AICc dos modelos selecionados, Peso=poder explicativo do modelo.	50
6.1 Inquiline termite species recorded in nests of <i>Constrictotermes cyphergaster</i> (Blattodea: Isoptera) sampled in Diamantino, Mato Grosso, Brazil, in March 2014. Each line refers to a single host nest, with respective field code (Nest ID), record of the presence of inquiline species, the nest volume (in litres), the status of the external nests wall (“typical” or “atypical”), and nest location (latitude \times longitude). Typical nest walls are light-coloured, intact, and free of mosses. Atypical nest walls are dark-coloured, eroded, covered by mosses, or any combination of these (see Fig. 6.1). All host and inquiline colonies inhabiting these nests were active and healthy. Nest DM12 held no inquilines. <i>Inquilinitermes fur</i> are obligate inquilines, all the others are facultative.	65
6.2 Effect of external nest wall status and nest volume on inquilinism by (a) facultative and (b) obligate termite inquilines in <i>Constrictotermes cyphergaster</i> . Nest wall <i>status</i> refers to typical (intact light-coloured walls free of mosses) or atypical (eroded dark walls covered by mosses) host nests walls.	66
A.1 Espécies de cupins hospedeiros e inquilinos utilizadas nos experimentos. Hospedeiros avaliados estão marcados com (*).	83
A.2 Quantidade de ninhos de cada cupim hospedeiro (Insecta: Blattodea: Isoptera) ocupados por cada espécie de cupim inquilino em quatro localidades do bioma Cerrado, nas regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. Dentre os hospedeiros, <i>Constrictotermes cyphergaster</i> e <i>Velocitermes heteropterus</i> pertencem à subfamília Nasutitermitinae enquanto que os demais pertencem aos Syntermitinae. <i>Constrictotermes cyphergaster</i> constrói ninhos arborícolas e os demais constroem ninhos epígeos. Localidades: VB = Vila Bela da Santíssima Trindade-MT, DM = Diamantino-MT, GM = Gameleira de Goiás-GO, DV = Divinópolis-MG. As localidades estão dispostas no sentido noroeste-sudeste ao longo de um transecto de aproximadamente 1700 Km, abrangendo cerca de 5 graus de latitude e 15 graus de longitude. Os números marcados com (*) referem-se aos pares inquilino-hospedeiro utilizados no experimento.	87

A.3	Número de indivíduos e densidade em cada arena com cada espécie de inquilino e/ou hospedeiro utilizada no experimento de sobrevivência dos grupos mono-específicos e heteroespecíficos. As espécies foram coletadas nos municípios de Vila Bela da Santíssima Trindade-MT, Diamantino-MT, Gameleira de Goiás-GO e Divinópolis-MG durante os meses de Fevereiro a Maio de 2014 e Janeiro e Fevereiro de 2015.	88
-----	--	----

RESUMO

COSTA, Diogo Andrade, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2015. **Custos do encontro entre cupins inquilinos e hospedeiros (Blattodea: Isoptera)**. Orientador: Og Francisco Fonseca de Souza. Co-orientadora: Alessandra Marins.

A definição do caráter positivo ou negativo de uma interação interespecífica depende da relação custo-benefício para ambas espécies envolvidas. Entretanto, a quantificação destes custos não é sempre realizada, dificultando a determinação do caráter das interações. Um tipo de interação que representa bem este cenário é o inquilinismo. Dependendo do grupo estudado pode ser considerado mutualismo, comensalismo ou parasitismo. Em cupins, o inquilinismo é relativamente comum, mas seu caráter positivo ou negativo ainda permanece incerto. Aqui, mensuramos potenciais custos relativos ao encontro de inquilinos e hospedeiros através da quantificação da sobrevivência, na tentativa de quantificar algum custo relacionado ao inquilinismo. Além disso, verificamos se tais custos dependem de alguns fatores bióticos e abióticos. O encontro entre hospedeiros e inquilinos implica custos para sobrevivência de ambas as espécies, principalmente devido a comportamentos agonísticos. Entretanto, estes custos são distintos para cada espécie, sendo mais severos para os inquilinos. Além disso, o efeito do encontro sobre os inquilinos depende do grau de especialização dos mesmos, enquanto os hospedeiros são mais influenciados pelo contexto ecológico em que estão inseridos. Nossos resultados dão suporte à idéia de que o conhecido comportamento evasivo dos inquilinos trazem vantagens para este e para seu hospedeiro, por reduzir os riscos de um eventual encontro. Além disso, demonstramos o papel de fatores ecológicos e evolutivos na atenuação dos efeitos negativos de tais encontros. Esta é a primeira quantificação do custo do encontro entre cupins inquilinos e hospedeiros. A existência destes custos sugere que as estratégias para evitar o encontro já descritas para os inquilinos possuem um papel importante para o sucesso do inquilinismo.

ABSTRACT

COSTA, Diogo Andrade, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, december, 2015. **Costs of the encounter between termites inquilines and hosts (Blattodea: Isoptera)**. Adviser: Og Francisco Fonseca de Souza. Co-adviser: Alessandra Marins.

The right definition of the positive or negative character of an interspecific interaction depends on the cost-benefit ratio experienced by the involved species. However, the quantification of these costs is rarely done, impairing the determination of the character of the interactions. The inquilinism is a type of interaction that represents well this scenario, as it can tend towards mutualism, commensalism or parasitism depending on the group under study. In termites, the inquilinism is relatively common, but still there are many doubts about its positive or negative character. Here, we measure some potential costs relative to encounters between inquilines and hosts through the quantification of the survival, trying to quantify some costs related to the inquilinism. Additionally, we relate such costs with some biotic and abiotic factors. The encounter between inquilines and hosts implied on costs to survival for both species, mainly because of agonistic behaviours. These costs were, however, distinct to each species, more severe to the inquilines than to the hosts. Besides that, the effects of the encounter on the inquilines depend on their specialization degree, while hosts were more influenced by the ecological context. Our results support the idea that the evasive behavior known for inquilines brings advantages to them and to its host, reducing the risks of eventual encounters. Additionally, we demonstrate the role of evolutionary and ecological factors in attenuation of the negative effects of such encounters. This is the first quantification of the cost of the encounter between termites inquilines and hosts. The existence of these costs suggests the strategies of encounter avoiding already described for inquilines have an important role to the success of inquilinism.

Capítulo **1**

Introdução

1.1 Problemática

A definição do caráter positivo ou negativo de uma interação interespecífica depende da relação custo-benefício para ambas espécies envolvidas (Bronstein, 1994, 2001a,b; Nielsen et al., 2006; Sapp, 1994). Estes custos e benefícios devem estar relacionados ao *fitness* e sua quantificação, quando realizada, é feita através de medidas de crescimento, reprodução ou sobrevivência (Bronstein, 2001a; Galetti, 2002; Grutter, 1999; Heil & McKey, 2003; Stadler & Dixon, 2005). Além de nem sempre esta quantificação ser realizada, várias interações podem não ter seus saldos finais estáveis, e transitar dentro de um continuum de parasitismo até mutualismo, dependendo do contexto (Bronstein, 1994; Holland & DeAngelis, 2009; Johnstone & Bshary, 2002; Parmentier & Michel, 2013; Price, 1984; Travis et al., 2006; Yu, 2001). Isto pode tornar a definição do caráter de uma interação uma tarefa não tão simples.

Um tipo de interação que representa bem este cenário é o inquilinismo. Em termos gerais, é uma interação em que a vantagem para a espécie inquilina é o abrigo proporcionado por construções feitas pela espécie hospedeira, ou mesmo pelas estruturas oriundas do desenvolvimento corporal desta última (Parmentier & Michel, 2013). Existem diversas interpretações quanto a seu caráter. Para a maioria dos grupos de animais, é considerado um tipo de comensalismo, cuja presença do inquilino não acarreta em nenhum prejuízo ao hospedeiro (Gilbert et al., 2012; Parmentier & Michel, 2013; Parmentier & Vandewalle, 2005; Schiaparelli et al., 2011; Yang et al., 2001). Em outros casos, como para maioria dos insetos sociais, o inquilinismo é considerado um tipo de parasitismo social (Bogusch et al., 2006; Dronnet et al., 2005; Errard et al., 2006; Hines & Cameron, 2010; Miller III, 2004; Nash & Boomsma, 2008; Wilson, 1971; Zamora-Muñoz et al., 2003). Entretanto, mesmo nestes grupos, existem relatos de inquilinos potencialmente parasitas auxiliando na defesa das colônias de seus hospedeiros (Adams et al., 2013; Bruner et al., 2014; Menzel et al., 2014).

Em cupins, o inquilinismo é relativamente comum, mas seu caráter positivo ou negativo ainda permanece incerto (Eggleton & Bignell, 1997). Existem tanto indícios de mutualismo, com inquilinos podendo auxiliar na defesa do ninho (Darlington, 2012; Redford, 1984), de comensalismo, com inquilinos evitando sobrepor dieta com seus hospedeiros (Florencio et al., 2013), como de parasitismo, com inquilinos podendo se alimentar das paredes do ninho do hospedeiro (Bouillon, 1970; Mathews, 1977; Wilson, 1971), ou mesmo usurparem os ninhos invadidos (Bandeira, 1989; Bequaert, 1913). Em nenhum dos casos, porém, existe uma quantificação real de custos ou benefícios para nenhuma das espécies.

O presente trabalho objetiva contribuir para a futura elucidação da incerteza acima descrita, mensurando os potenciais custos de um eventual encontro entre hospedeiro e inquilino dentro do termiteiro. Ao término deste trabalho ainda estaremos distantes de elucidar os custos do inquilinismo em cupins como um todo, mas já teremos a primeira quantificação objetiva de um dos componentes de tal custo. Partimos da premissa que, caso os encontros entre as espécies sejam prejudiciais para uma ou ambas as espécies, a presença de estratégias que permitem evitar tais encontros (constatada por outros autores) sejam, então, estratégias que reduzem potenciais custos do inquilinismo e poderiam realmente favorecer a coexistência entre elas.

1.2 Organização dos Capítulos

Inicialmente (Capítulo 2), realizamos uma revisão das estratégias associadas ao inquilinismo registradas na literatura, na tentativa de traçar possíveis trajetórias coevolutivas, e identificar em quais contextos o encontro poderia ser importante. No capítulo 3, descrevemos e testamos o método utilizado para realizar os experimentos de sobrevivência, a fim de validá-lo como adequado para nosso objetivo. O capítulo 4 trata da quantificação dos custos do encontro entre inquilinos e hospedeiros através da mensuração dos efeitos de tais encontros sobre a sobrevivência de cada espécie. No capítulo 5, buscamos delimitar fatores evolutivos e ecológicos que podem estar associados aos efeitos do encontro entre inquilinos e hospedeiros. Finalmente, no

Capítulo 6 utilizamos uma ocorrência incomum de inquilinos facultativos em ninhos de *Constrictotermes cyphergaster* - um hospedeiro amplamente conhecido por abrigar apenas um inquilino obrigatório - para sugerir fatores que podem determinar a invasão dos ninhos pelos inquilinos.

Capítulo **2**

Inquilinismo em cupins: uma análise
dos mecanismos co-evolutivos

Diogo A. Costa, Vinicius B. Rodrigues, Alessandra Marins, Paulo F. Cristaldo

⁵ & Og DeSouza

2.1 Introdução

Os insetos sociais, de forma geral, são agressivos contra invasores. A construção e manutenção de seus ninhos requer elevados custos, e o comportamento agressivo contra potenciais invasores destes ninhos é bastante comum (Queller & Strassmann, 5 2002). Os cupins não fogem deste padrão. Grande parte das espécies constroem ninhos com paredes rígidas e possuem uma casta especializada na defesa da colônia. Entretanto, toda esta defesa parece não impedir o inquilinismo em seus ninhos. Marins (2012) listou mais de 150 espécies de inquilinos e 50 espécies de hospedeiros em todo mundo, e alguns inquilinos chegam a ocorrer em mais de 70% dos ninhos 10 em algumas localidades (Costa et al., 2009; Cristaldo et al., 2012).

Os cupins inquilinos podem ser separados em pelo menos duas categorias: os obrigatórios, que não capazes de construir o próprio ninho e só habitam ninhos 15 construídos por uma espécie ou um gênero determinado (Noirot, 1970; Shellman-Reeve, 1997), e os facultativos, que podem ocasionalmente ser encontrados em ninhos de várias espécies (Redford, 1984), mas ainda são capazes de construir o próprio 20 ninho.

2.2 Mecanismos co-evolutivos do Inquilinismo

Inquilinos e hospedeiros sofrem pressões seletivas distintas e opostas, de modo que as estratégias para invasão do primeiro devem ser contra-adaptadas por defesas 20 do segundo (Haraguchi & Sasaki, 1996; Kilner & Langmore, 2011). Esta disputa armamentista pode resultar desde o sucesso até fracasso da invasão - caso em que o inquilinismo não seria observado. No caso de uma invasão bem sucedida, o hospedeiro poderia ainda tentar expulsar os inquilinos, e estes teriam que sobrepujar as estratégias defensivas do hospedeiro dentro do ninho. Em alguns casos, é possível 25 que os ajustes dos inquilinos possam levar a estratégias de tolerância do hospedeiro, principalmente no caso de inquilinos obrigatórios (Fig. 2.1).

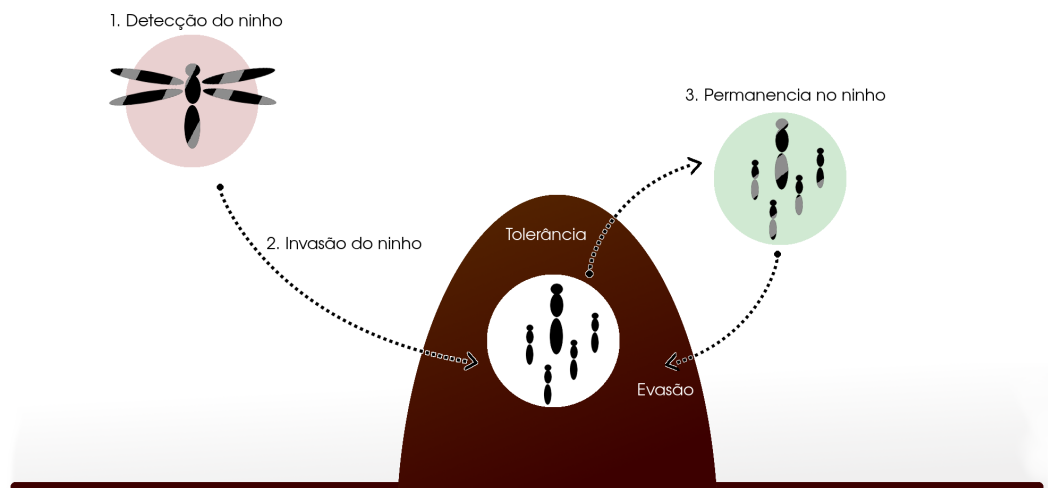


Figura 2.1: Possíveis etapas do inquilinismo em cupins (hospedeiros em preto e inquilinos com listras).

2.2.1 Detecção do ninho

O primeiro passo para ocorrência do inquilinismo é a detecção do ninho hospedeiro pelos inquilinos. Apesar da estratégia utilizada pelos inquilinos para encontrar o ninho hospedeiro não ser devidamente conhecida, algumas hipóteses podem ser levantadas. Os cupins se dispersam realizando revoadas e se utilizam de diferentes pistas para encontrar um local adequado para a fundação de uma nova colônia. Esta

5 pistas podem ser visuais ou químicas (Nutting, 1969). Pelo menos para um caso de inquilinismo, o par *Ahmitermes-Coptotermes acinaciformis*, há a sugestão que os inquilinos utilizam estímulos visuais para encontrar os ninhos de seus hospedeiros

10 (Calaby, 1956). Cristaldo et al. (2014) mostraram que os operários de inquilinos reconhecem o feromônios de trilha de seus hospedeiros, então, é possível inferir que os inquilinos reprodutores também sejam capazes de reconhecer os sinais químicos, e utilize-os para encontrar o ninho hospedeiro.

2.2.2 Invasão do Ninho

15 Uma vez encontrado o ninho hospedeiro, os inquilinos devem ultrapassar as defesas impostas pelo hospedeiro. O sistema defensivo dos cupins é formado por duas linhas: a barreira física dos ninhos e a presença de uma casta especializada.

A primeira é formada pela estrutura física do ninho, construída com partículas do solo, madeira, saliva ou material fecal. Esta estrutura permite proteger a colônia

de ataques e manter um microclima estável (Emerson, 1938; Noirot, 1970; Noirot & Darlington, 2000). O número de espécies de inquilinos habitando o ninho não é o mesmo para todas as espécies de hospedeiro, e algumas parecem ser mais susceptíveis ao inquilinismo do que outras. Uma evidência disto é que a maioria das espécies hospedeiras apresenta um ou dois inquilinos, enquanto uma minoria pode abrigar várias espécies diferentes (Marins, 2012, Fig. 2.2a). Além disso, outras características dos ninhos, tais como o volume ou idade, podem afetar a ocorrência de inquilinos em uma mesma espécie hospedeira (Cristaldo et al., 2012, Fig. 2.2b e 2.4a). Estes padrões sugerem que a invasão dos ninhos pelos inquilinos não ocorre de forma aleatória, parecendo haver alguma preferência por certos hospedeiros, ou por certas características dos ninhos.

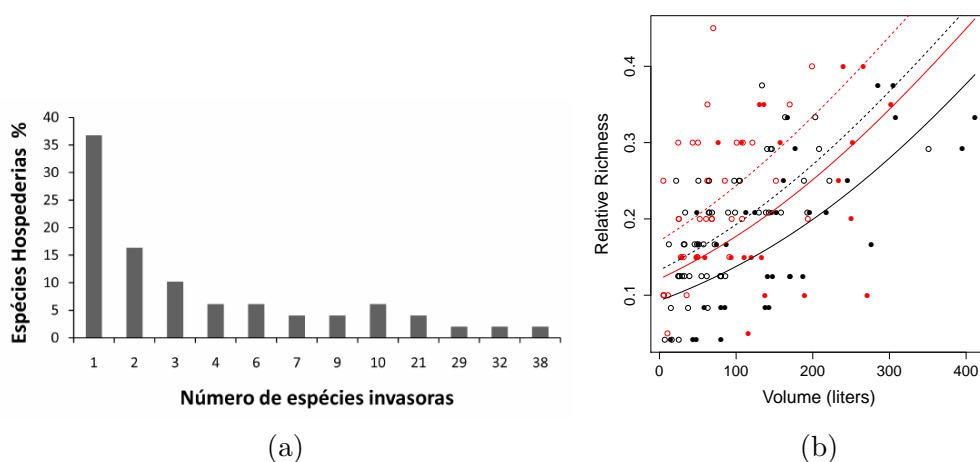


Figura 2.2: (a) Frequência de espécies de cupins hospedeiras em relação ao número de espécies invasoras (retirada de Marins, 2012); (b) Relação entre número de inquilinos e volume dos ninhos de *Cornitermes cumulans* (retirada de Marins et al. prep).

A segunda linha de defesa é formada pelo comportamento defensivo dos indivíduos da colônia, realizada principalmente pela casta soldado. Os soldados de cupins possuem aparatos cefálicos especializados, que podem ser desde mandíbulas bem desenvolvidas até estruturas capazes de lançar compostos tóxicos, irritantes ou oleosos, ou mesmo uma combinação de ambas (Prestwich, 1984). Além disso, a casta dos operários também pode atuar na defesa, através de mordidas, defecação ou autólise (Prestwich, 1984; Sobotnik et al., 2010). Para o inquilinismo, o comportamento de patrulhamento dos soldados parece ser relevante. O aumento do volume dos ninhos reduz este patrulhamento (Fig. 2.3), ao mesmo tempo que aumenta a probabilidade

de encontrar inquilinos (Cristaldo et al., 2012, Fig. 2.4a). Este padrão pode sugerir que os inquilinos provavelmente invadem os ninhos hospedeiros durante o período de revoadas (Rodrigues, 2013 e Fig. 2.4b).

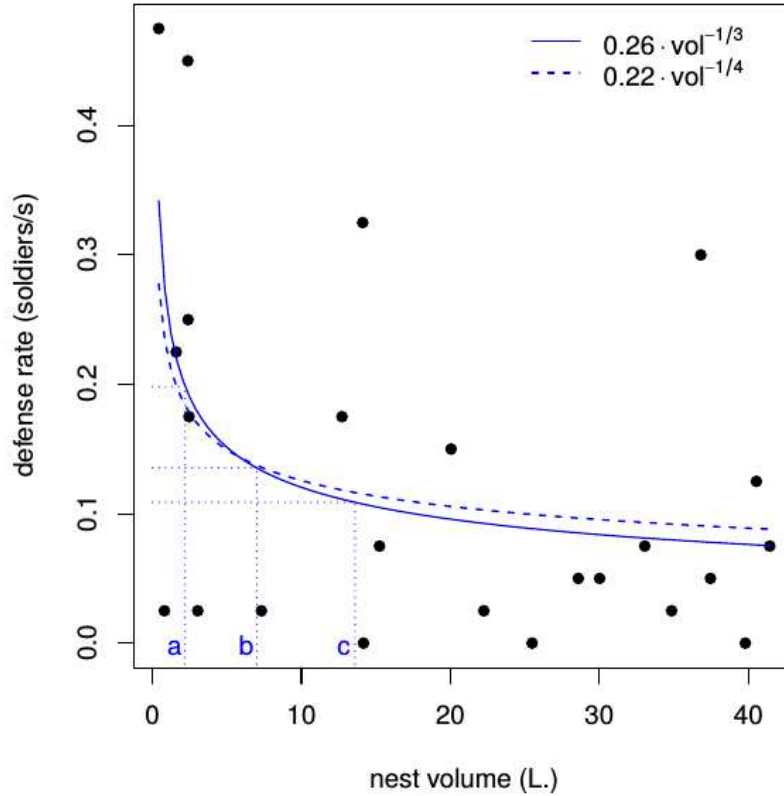


Figura 2.3: Número de soldados que chegam, por segundo, à um distúrbio na parede dos ninhos de *Constrictotermes cyphergaster* em relação ao volume (retirada de DeSouza et al., prep).

Já nesta primeira fase começa a ser possível uma disputa armamentista envolvendo hospedeiros e inquilinos. Afinal, provavelmente as mesmas pressões que levam ao surgimento de defesas contra os inquilinos favoreceriam, nos inquilinos, o surgimento de estratégias para suplantar tais defesas. O resultado desta disputa determinará o sucesso da invasão pelos inquilinos.

2.2.2.1 Falha na Invasão

Não existem relatos de casos de tentativas de invasões mal-sucedidas. Entretanto, nota-se que as espécies construtoras de ninho possuem quantidades de inquilinos diferentes, algumas abrigam muitas, outras abrigam poucos ou só uma espécie (ver Fig. 2.2a) e a maioria não abriga nenhum inquilino. No trabalho realizado por Mathews (1977), por exemplo, dezoito espécies construtoras de ninhos foram regis-

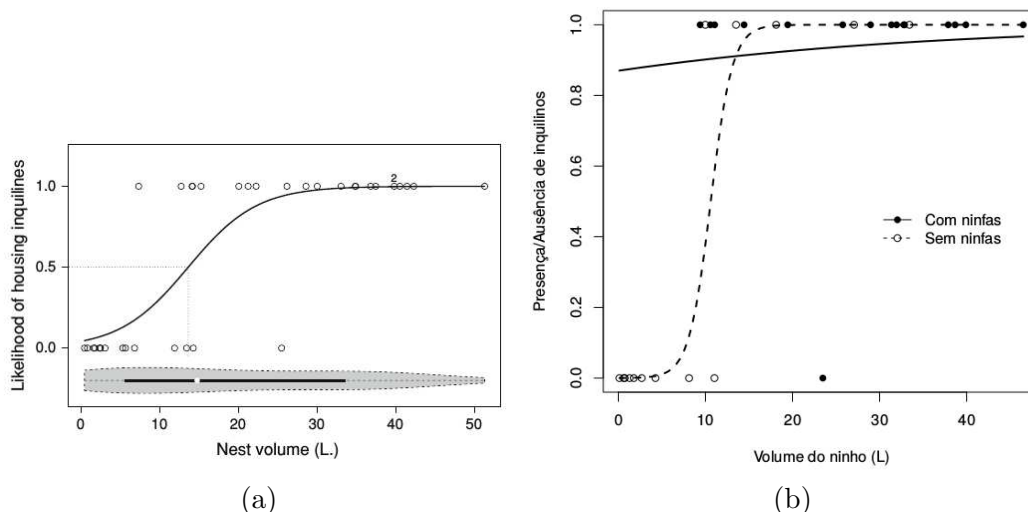


Figura 2.4: (a) Probabilidade de ocorrência de *Inquilinitermes microcerus* em relação ao volume dos ninhos de *Constrictotermes cyphergaster* (retirada de Cristaldo et al., 2012); (b) Probabilidade de ocorrência de *Inquilinitermes microcerus* em relação a presença de alados nos ninhos de *Constrictotermes cyphergaster* (retirada de Rodrigues, 2013).

tradas, das quais apenas sete abrigavam algum inquilino. Uma análise comparativa entre espécies que abrigam inquilinos e espécies que nunca abrigam nenhum inquilino sequer permite nos sugerir hipóteses a respeito do que determina a ocorrência de inquilinismo: i) atratividade do ninho, e ii) resistência da espécie hospedeira.

5 É possível que algumas espécies construtoras não abriguem inquilinos simplesmente porque seus ninhos não são atrativos. Os cupins são capazes de manter um microclima estável, com temperatura e umidade adequadas à suas necessidades, mas cada espécie possui exigências distintas (Field & Duncan, 2013; Korb & Linsenmair, 2000; Mitchell et al., 1993; Smith & Rust, 1994). Assim, é possível que os inquilinos
 10 busquem ninhos cujo microclima mais se adéquem às suas próprias necessidades.

Alguns autores especulam que alguns inquilinos podem se alimentar das paredes dos ninhos hospedeiros (Bouillon, 1970; Wilson, 1971). Apesar desta informação não ser confirmada, existem algumas evidências a seu favor. A maioria dos inquilinos são
 15 humívoros e os hospedeiros que possuem maior quantidade de inquilinos pertencem a guilda dos ceifadores. Os ceifadores - também chamados de consumidores de gramínea ou serapilheira - acumulam grande quantidade de matéria orgânica nas paredes de seus ninhos, e isto poderia favorecer a ocorrência de inquilinos humívoros em busca desta fonte alimentar (Bouillon, 1970).

Além disso, a relação do volume do ninho com a ocorrência de inquilinos (ver Fig. 2.2b e 2.4a) também pode ser um indício de atratividade. Ninhos maiores, ou mais velhos, teriam alguma característica favorável ao inquilinismo, independente da associação com a invasão.

5 Uma outra linha de raciocínio é que a ausência de registros de inquilinos em uma dada espécie pode ser devido a um forte sistema de defesa. A subfamília Nasutitermitinae (Termitidae), por exemplo, possui um grande número de espécies (Krishna et al., 2013), das quais muitas constroem ninhos. Entretanto, os registros de inquilinismo nesta subfamília são restritos a poucas espécies. Em alguns casos seus
 10 únicos inquilinos são altamente ajustados aos hospedeiros a ponto de possuírem uma associação obrigatória, em que o inquilino é incapaz de construir o próprio ninho e depende do ninho de um hospedeiro específico, como é o caso de *Serritermes serrifer* (Araujo, 1977), todas as espécies do gênero *Inquilinitermes* (Araujo, 1970; Constantino & Costa-Leonardo, 1997; Mathews, 1977), algumas espécies de *Termes* (Miura
 15 & Matsumoto, 1997), e algumas espécies de *Microcerotermes* (Paulian, 1970), todos inquilinos obrigatórios. Uma das características mais marcantes desta subfamília é a presença de soldados com defesa química bastante desenvolvida, cujas substâncias são tóxicas e repelentes para outros insetos (Prestwich, 1979, 1984). Então, esta defesa elaborada pode repelir, ou pelo menos restringir, a invasão de inquilinos em
 20 seus ninhos.

2.2.3 Permanência no Ninho

Apesar da possibilidade de falha na invasão, o inquilinismo apenas é registrado quando a invasão é bem-sucedida. Entretanto, os hospedeiros ainda podem reagir à presença dos inquilinos, e estes podem se utilizar de estratégias que garantam sua
 25 permanência.

2.2.3.1 Estratégias de Reconhecimento dos Hospedeiros

A comunicação entre os cupins é predominantemente química (Bagneres & Hanus, 2015; Stuart, 1969). Os cupins produzem uma gama de substâncias químicas com diversas funções (Bagneres & Hanus, 2015; Billen & Morgan, 1998; Bordereau
 30 & Pasteels, 2011), entre elas o reconhecimento dos indivíduos da colônia (Costa-

Leonardo et al., 2009; Kaib et al., 2002; van Zweden & D'Etorre, 2010). Estas substâncias utilizadas no reconhecimento, normalmente hidrocarbonetos cuticulares (CHC), são específicas para cada espécie e, como podem ser modificadas pela alimentação, muitas vezes são específicas para cada colônia (Kaib et al., 2002; van Zweden & D'Etorre, 2010). Este aparato químico complexo pode favorecer o reconhecimento de invasores dentro da colônia, permitindo que os indivíduos reajam agonisticamente ao encontro. Assim, para permanecer dentro do ninho hospedeiro, os inquilinos precisariam adotar contra-adaptações às estratégias do hospedeiro. Aqui, propomos estratégias repulsivas ou evasivas como dois grupos de estratégias que podem ser adotadas pelos inquilinos.

2.2.3.2 Estratégias Repulsivas dos Inquilinos

Uma primeira possibilidade de estratégia do inquilino para permanecer no ninho poderia ser a utilização de estratégias repulsivas ao hospedeiro. Definimos estratégias repulsivas como comportamentos ativos dos inquilinos que repelem os hospedeiros, quando ocorre o encontro entre indivíduos de ambas as espécies. Neste contexto, as estratégias de reconhecimentos adotadas pelo o hospedeiro teriam pouca relevância para os inquilinos, uma vez que estes adotam uma postura de se defender do hospedeiro ao invés de tentar esconder-se dele. Novamente, não existem informações de estratégias repulsivas diretamente conectadas a inquilinos. Entretanto, diversos comportamentos de defesa descritos para cupins em geral poderiam servir a este propósito.

Primeiramente, soldados de várias espécies produzem substâncias químicas que são repelentes (Prestwich, 1979, 1984). A utilização de tais substâncias poderiam permitir que os inquilinos escapassem de eventuais ataques do hospedeiro. Além disso, o comportamento de defecação é comum a operários de diversas espécies quando perturbados (Coaton, 1971; Prestwich, 1984). O conteúdo das fezes destes operários também podem possuir compostos repelentes ou mesmo tóxicos. Em pelo menos um caso observou-se que o hospedeiro *Constrictotermes cyphergaster* evita as fezes de seu inquilino, *Inquilinitermes microcerus* (H. Santos, com. pess). Poucos indícios de estratégias repulsivas são encontrados em inquilinos, mas é possível que sejam principalmente utilizados por inquilinos classificados como facultativos. Tais

estratégias estariam mais vinculadas a comportamentos de defesa comuns aos cupins, e não precisariam, necessariamente, de maiores ajustes evolutivos aos hospedeiros.

2.2.3.3 Estratégias Evasivas dos Inquilinos

A maioria dos indícios nos levam a supor que os inquilinos preferem utilizar es-
5 tratégias mais evasivas do que repulsivas. Definimos estratégias evasivas como quais-
quer comportamento ou alterações fisiológicas que permitem aos inquilinos burlar
o reconhecimento pelo hospedeiro ou evitar potenciais encontros. A insignificância
química dos inquilinos já foi levantada como possibilidade (Cristaldo, 2014), mas
ainda necessita confirmação. Entretanto, outras estratégias parecem existir.

10 Os inquilinos parecem ter colônias menores do que dos hospedeiros e utilizam de
galerias distintas (Bouillon, 1970; Cunha et al., 2003; Mathews, 1977), estratégias
estas que podem reduzir a probabilidade de encontro com os hospedeiros. Além
disso, pelo menos uma espécie de inquilino (*Inquilinitermes microcerus*) parece re-
conhecer os feromônios de trilha produzidos pelo hospedeiro, e este reconhecimento
15 pode permitir que evitem as regiões do ninho em que os hospedeiros se encontrem
(Cristaldo et al., 2014 e Fig. 2.5a). De forma similar, estes mesmos inquilinos reco-
nhecem o feromônio de alarme do hospedeiro, e o utilizam para, novamente, evitar
as galerias ocupadas pelo hospedeiro (Cristaldo, 2014 e Fig. 2.5b). Tal constatação
suporta a idéia que as estratégias evasivas são a estratégias preferíveis pelos inquil-
20 nos, principalmente para aqueles classificados como obrigatórios, que possuem maior
dependência da colônia hospedeira.

2.2.3.4 Resultados da Interação Inquilino-Hospedeiro

Uma vez que o inquilinismo consiste na co-habitação de ambas as espécies inqui-
linas e hospedeiras, o resultado esperado é que, independente da estratégia utilizada,
25 os inquilinos consigam permanecer no ninho hospedeiro. Ainda assim, este resultado
pode não ser sempre o observado em todos espécies de cupins. Alguns inquilinos po-
dem ter uma permanência relativamente não prejudicial ao hospedeiro, enquanto
outros podem gerar custos diretos ou indiretos aos hospedeiros, e eventualmente,
comportamentos de usurpação poderiam ser observados (Eggleton & Bignell, 1997).

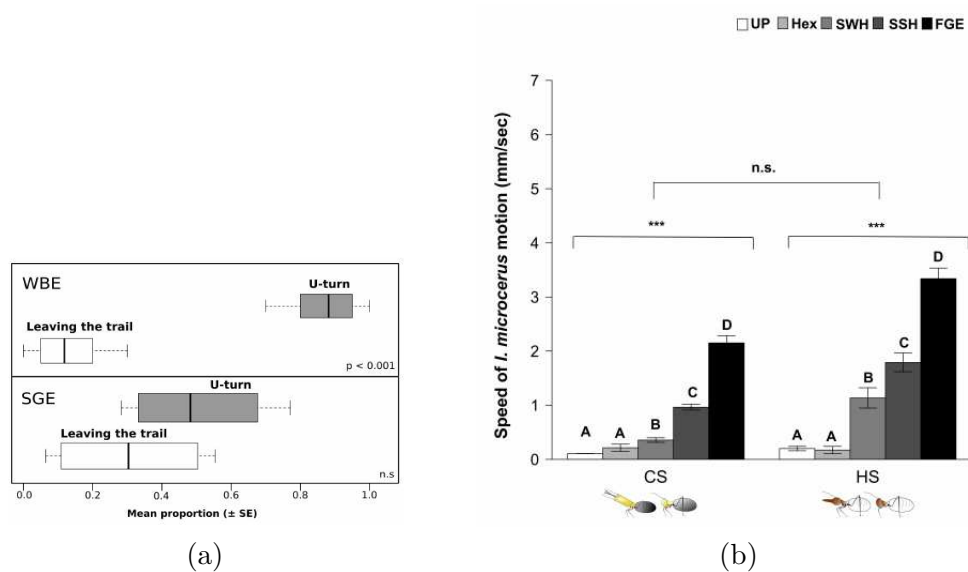


Figura 2.5: (a) Proporção de operários de *Inquilinitermes microcerus* que evitam a trilha de *Constrictotermes cyphergaster*, retornando (U-turn) ou abandonando a trilha, em bioensaios utilizando extratos do corpo inteiro (WBE) ou da glândula esternal (SGE) do hospedeiro (retirada de Cristaldo et al., 2014); (b) Resposta de *Inquilinitermes microcerus* às próprias substâncias de alarme (CS) e às de seu hospedeiro (HS), em bioensaios utilizando dois controles (UP: nenhuma substância, Hex: hexano), extratos da cabeça do operário (SWH), da cabeça do soldado (SSH) e da glândula frontal (FGE) (retirada de Cristaldo, 2014).

Algumas estratégias adotadas pelos inquilinos podem favorecer a tolerância pelos hospedeiros. Alguns autores sugerem que os inquilinos poderiam auxiliar na defesa dos ninhos, gerando um sistema integrado com diversas estratégias de defesa, que poderia trazer vantagens tanto para hospedeiros e inquilinos (Coles, 1980; Mathews, 1977; Redford, 1984). Além disso, existe uma relação ainda não esclarecida da presença de inquilinos com a reprodução dos hospedeiros (Rodrigues, 2013 e Fig. 2.4b). Caso os inquilinos favoreçam a reprodução dos hospedeiros, poderia haver um acréscimo no *fitness* do hospedeiros. Em quaisquer dos casos, os inquilinos trariam vantagens aos hospedeiros, o que sugeriria, nestes casos, uma interação mutualística.

Por outro lado, os inquilinos podem, simplesmente, reduzir os eventuais custos infligidos ao hospedeiro. Por exemplo, os inquilinos, sejam obrigatórios ou facultativos, parecem não utilizar os mesmos recursos alimentares que seus hospedeiros, utilizando-se aparentemente dos subprodutos gerados por estes (Florencio et al., 2013 e Fig. 2.6). Esta estratégia reduziria uma possível competição por recursos e poderia favorecer a tolerância pelo hospedeiro. Além disso, o fato de possuírem, de maneira geral, colônias pequenas (Bouillon, 1970; Cunha et al., 2003; Mathews, 1977), já minimizaria uma competição por espaço e poderia também reduzir os cus-

tos para o hospedeiro. Nestes casos, o inquilinismo se aproximaria de uma interação comensal, sem prejuízos ou benefícios para o hospedeiro.

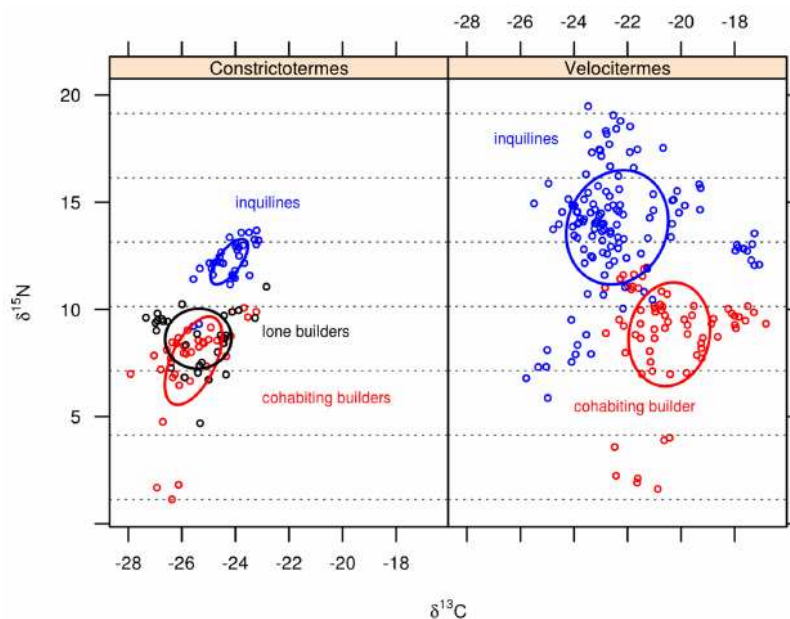


Figura 2.6: Diferenças na concentração de isótopos de nitrogênio em inquilinos e hospedeiros, evidenciando a segregação de dieta (retirada de Florencio et al., 2013).

Existem, ainda, alguns casos raros de usurpação observada para alguns pares de espécies (Bandeira, 1989; Bequaert, 1913; Eggleton & Bignell, 1997), o que poderia
5 indicar um caso de parasitismo.

2.3 Considerações Finais

Em resumo, poderíamos sugerir que o principal agente da disputa coevolutiva do inquilinismo é o inquilino. O que se justifica uma vez que ele é o componente da interação mais beneficiado pelo sucesso da mesma. Neste sentido, os inquilinos
10 devem detectar e invadir os ninhos, ultrapassar as estratégias de reconhecimento e defesa dos hospedeiros, e finalmente desenvolver estratégias que favoreçam sua permanência no ninho por reduzir potenciais custos aos hospedeiros. Várias questões permanecem abertas, como o caráter positivo ou negativo da interação. Provavelmente, os inquilinos possuem vantagens por economizar energia na construção de
15 um ninho, mas para os hospedeiros o efeito dos inquilinos em seus ninhos pode gerar qualquer resultado dependendo do par de espécies interagindo. Não existe qualquer

quantificação real de custos ou benefícios para nenhuma das espécies envolvidas, mas o sucesso da interação sugere um estratégia evolutivamente estável, principalmente no que se refere às associações obrigatórias.

Capítulo 3

Incubadora portátil: uma alternativa para realização de bioensaios com insetos em condições de campo

5 Diogo A. Costa, Alessandra Marins & Og DeSouza

3.1 Introdução

Seja em campo ou em laboratório, a experimentação exige que as condições sejam controladas, para isolar os efeitos da variável de interesse. Entretanto, a manutenção destas condições ideais pode não ser tão simples em locais mais remotos, onde é logisticamente difícil o acesso aos equipamentos necessários para tal controle. Então, faz-se necessário o desenvolvimento de alternativas portáteis, mas que ao mesmo tempo produzam resultados satisfatórios.

A temperatura é uma das condições que devem ser controladas durante a realização de experimentos, uma vez que pode afetar a sobrevivência e o comportamento dos indivíduos (Abdullah, 1961; Prasad et al., 2012; Régnière et al., 2012). Em experimentos com insetos é comum a utilização de câmaras incubadoras refrigeradas (BOD), que são altamente eficientes, mas exigem infraestrutura elétrica adequada. Tal estrutura, entretanto, nem sempre é disponível em locais remotos, o que implica na necessidade de transportar os insetos por longas distâncias até onde haja equipamento em pleno funcionamento. Isto compromete a realização de experimentos que pressupõem que os organismos-teste tenham sofrido o mínimo possível de distúrbio, como é o caso de ensaios comportamentais. Uma alternativa às câmaras incubadoras para controle da temperatura pode ser caixas de Poliestireno Expandido (EPS) que são frequentemente usadas para armazenamento de alimentos, devido seu isolamento térmico. Se eficaz, pode ser uma opção portátil e barata que pode facilitar o controle térmico de experimentos realizados em locais mais remotos.

Naturalmente, espera-se que a variação de temperatura dentro de uma caixa térmica seja maior do que em uma incubadora convencional que possui controle automático da temperatura. Entretanto, é possível que exista uma variação aceitável desta temperatura, de forma a não alterar significativamente os resultados de um experimento. A utilização de organismos sensíveis a variações na temperatura podem servir como indicadores do efeito da variação interna da caixa térmica, permitindo avaliar sua eficácia.

Neste sentido, os cupins podem ser uma boa opção. São insetos sociais abundantes nos trópicos, que mantém um microclima estável dentro de seus ninhos regulando a temperatura e umidade, tanto de forma ativa (pela produção de calor metabólico ou acúmulo de umidade em determinadas galerias) como passiva (paredes externas dos ninhos atuando como isolantes) (Bristow & Holt, 1987; Field & Duncan, 2013; Korb & Linsenmair, 2000). Eles possuem restrições quanto a variações na temperatura, exibindo maior tolerância entre 25 e 32°C, dependendo da espécie (Field & Duncan, 2013; Garcia & Becker, 1975; Korb & Linsenmair, 2000; Mitchell et al., 1993; Smith & Rust, 1994; Steward, 1981). Esta susceptibilidade a variações da temperatura os tornam bons organismos modelos para se testar nossa metodologia.

Assim, este trabalho objetivou avaliar a funcionalidade de uma técnica portátil, caseira e barata para condução de experimentos de comportamento de insetos em locais remotos. Testamos a hipótese de que uma caixa térmica devidamente monitorada com auxílio de um termômetro, e com adição de água quente ou fria (quando necessário) pode ser uma alternativa a utilização de uma incubadora convencional, sem grandes impactos sobre a sobrevivência de um agrupamento de cupins, organismos susceptíveis a variações na temperatura.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Idéia Geral do Experimento

O experimento objetivou estimar o efeito da variação de temperatura interna em uma caixa térmica portátil sobre a sobrevivência de um agrupamento de cupins. Para tanto, quantificamos a sobrevivência de indivíduos em uma câmara incubadora convencional em contraste com sua sobrevivência em uma caixa térmica. Adicionalmente, verificou-se o efeito da variação interna da temperatura da caixa térmica de diferentes localidades sobre o padrão de sobrevivência dos indivíduos. Considera-se que a ausência de efeito da mesma sobre o padrão de sobrevivência dos cupins, indica a caixa térmica como uma alternativa viável.

3.2.2 Espécies Estudadas

Foram utilizados operários de cupins do gênero *Cornitermes*, muito comum em áreas abertas e pastagens. Constroem ninhos epígeos (acima do solo) argilosos grandes e conspícuos (Emerson, 1952; Canello, 1991; Grassé, 1968; Mathews, 1977). A arquitetura de seus ninhos permite manter um microclima estável, com não mais de 2°C de amplitude de variação da temperatura interna durante o dia (Parra et al., 1974). Normalmente, forrageiam no subsolo (Mathews, 1977; Redford, 1984), o que pode ser uma forma de minimizar os efeitos de temperatura e umidade, além de reduzir o risco de predação.

10 3.2.3 Amostragem dos Ninhos

Foram coletados vinte ninhos distribuídos em quatro localidades distintas com diferentes graus de temperatura média anual. Dois ninhos no município de Viçosa, Minas Gerais, Brasil (20°45'14"S, 42°52'55"W, 19.3°C), oito ninhos no município de Gameleira de Goiás, Goiás, Brasil (16°27'50"S, 48°40'12"W, 23.2°C), cinco ninhos no município de Diamantino, Mato Grosso, Brasil (14°24'32"S, 56°26'45"W, 25.2°C) e cinco ninhos no município de Vila Bela da Santíssima Trindade, Mato Grosso, Brasil (15°00'28"S, 59°57'03"W, 25.2°C). Os ninhos foram abertos no campo e partes deles foram transportados para posterior triagem dos indivíduos.

3.2.4 Montagem do Experimento

20 A eficácia da caixa térmica foi avaliada de duas maneiras. Primeiramente, contrastou-se a sobrevivência de grupos de indivíduos retirados de um mesmo ninho dispostos simultaneamente em uma câmara incubadora e na caixa térmica. Para este experimento, apenas os ninhos coletados em Viçosa foram utilizados, devido a disponibilidade da câmara incubadora para realizar a comparação. Posteriormente, verificou-se se o efeito da amplitude de variação da temperatura na caixa térmica sobre a sobrevivência de indivíduos em diferentes localidades. Neste caso, os ninhos amostrados em Viçosa não foram utilizados. Para tanto, foi utilizada uma caixa térmica de poliestireno de 37L (dimensões internas: 400 × 305 × 330mm, 28mm de espessura da parede). Uma placa de poliestireno foi colocada como suporte para o

experimento dentro da caixa, mantendo-se uma altura que permitisse tanto o manuseio do experimento como a introdução de uma bandeja plástica contendo água (aquecida ou congelada). Um termômetro digital foi posicionado sobre a caixa com um sensor interno para verificar simultaneamente a temperatura interna e externa
5 (Fig. 3.1).



Figura 3.1: Disposição do experimento dentro da caixa térmica e sensor interno do termômetro.

Os indivíduos coletados foram dispostos em arenas construídas com uma anel de PVC de 38mm de diâmetro interno sobre uma base de vidro jateado, a fim de facilitar o deslocamento dos indivíduos. Cada arena foi montada com oito operários retirados de um mesmo ninho. A quantidade de operários foi determinada respeitando-se uma
10 densidade de 0.146, que se encontra dentro de um intervalo de densidade ótima na qual ocorre máxima sobrevivência em indivíduos confinados, segundo estabelecido em outros estudos realizados com cupins (DeSouza & Miramontes, 2004; Miramontes & DeSouza, 1996). A densidade foi calculada dividindo-se a área total ocupada por todos os indivíduos pela área total da arena. As arenas foram, então, posicionadas
15 no interior de uma câmara incubadora ou da caixa térmica, dependendo do objetivo do experimento. As arenas foram mantidas a 25°C na câmara incubadora, e entre 24 e 27°C na caixa térmica. Estes últimos limites estão circunscritos dentro do intervalo de temperatura (22-28°C) tolerado por espécies de cupins tropicais em condições de laboratório (Becker, 1969). Caso a temperatura interna da caixa se aproximasse
20 muito desses limites a temperatura era controlada com a introdução de ± 160 mL de cubos de gelo (0°C) ou água aquecida ($\pm 60^\circ\text{C}$). Este volume foi determinado em uma avaliação prévia, como sendo o suficiente para alterar 1°C da temperatura interna da caixa em menos de 30 min.

Para estimar a sobrevivência dos indivíduos na câmara incubadora e na caixa de isopor foram realizadas observações periódicas dos mesmos. Durante a primeira hora do experimento, o número de indivíduos vivos de cada arena foi registrado em intervalos de 15 minutos. Após este período, a contagem foi realizada em intervalos
5 de 30 minutos, até se completarem 10 horas desde o início do experimento.

3.2.5 Análises dos Dados

Os dados foram submetidos a análise de sobrevivência sob distribuição de Weibull para se estimar o tempo médio para morte (i.e., o momento em que restavam vivos apenas 50% dos indivíduos) dos operários confinados na incubadora ou na caixa
10 térmica.

Adicionalmente, utilizou-se Modelagem Linear Generalizada (GLM) com erros normais para verificar o efeito da variância da temperatura interna (x-var) sobre o tempo médio para morte dos indivíduos (y-var). O intuito foi verificar se a variação da temperatura interna poderia afetar a sobrevivência dos indivíduos. Todas as
15 análises foram realizadas utilizando-se o Sistema Estatístico R (R Development Core Team, 2015).

3.3 Resultados

A amplitude de variação de temperatura da caixa térmica foi maior que a câmara incubadora, porém o padrão de sobrevivência dos operários de cupins sob ambas con-
20 dições não apresentou diferenças significativas ($\chi^2 = 0.592$, $gl = 2$, $p = 0.74$) (Fig. 3.2). Isto suporta nossa hipótese de que a caixa térmica possa ser uma alternativa viável à incubadora para experimentos em locais remotos.

Os tempos médios para morte dos operários em cada arena foram distintos, porém essa diferença foi independente da variância da temperatura interna da caixa
25 medida durante o experimento ($F_{5,17} = 2.104$, $p = 0.13$, Fig. 3.3).

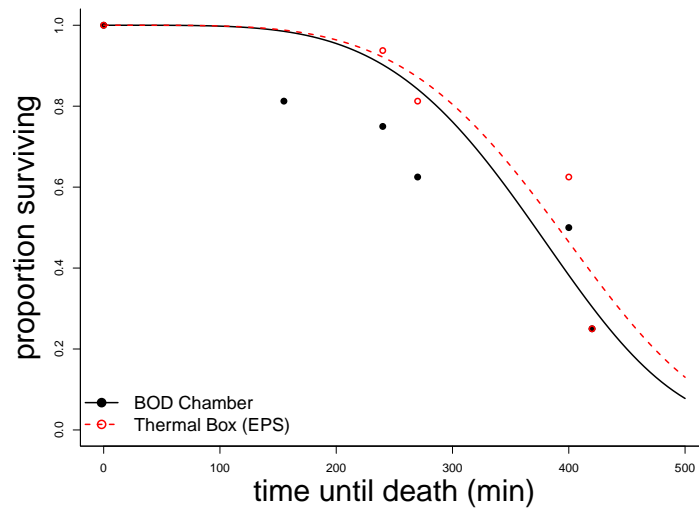


Figura 3.2: Sobrevivência de operários de *Cornitermes* spp. na caixa térmica e na incubadora dos ninhos amostrados em Viçosa-MG. Os pontos representam o momento de registro da morte de um ou mais indivíduos em cada tratamento. As duas curvas não são significativamente diferentes ($\chi^2 = 0.592$, $gl = 2$, $p = 0.74$).

3.4 Discussão

A caixa térmica apresentou resultados satisfatórios em relação a sobrevivência dos cupins. Não se observou diferenças na sobrevivência entre os indivíduos mantidos na câmara incubadora e aqueles mantidos na caixa térmica (Fig. 3.2). Além disso, mesmo permitindo-se uma variação na temperatura interna, esta não afetou significativamente o tempo para morte dos indivíduos (Fig. 3.3). Assim, a caixa térmica é indicada como uma alternativa para realização de experimentos em locais remotos.

Apesar das vantagens apresentadas, existem limitações importantes que devem ser levadas em conta. Primeiramente, o controle da temperatura é manual, o que exige que o experimento seja acompanhado com maior frequência, a fim de evitar alterações significativas da temperatura. Além disso, para produção dos cubos de gelo é necessário que ao menos uma geladeira esteja disponível, o que exige que exista no mínimo energia elétrica próximo aos locais de estudo.

Para que a caixa térmica possa ser adequadamente utilizada em substituição a uma câmara incubadora sugere-se o seguinte protocolo:

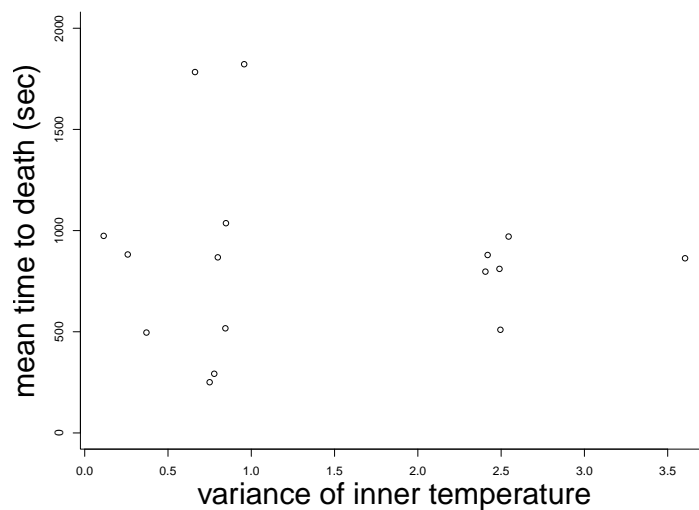


Figura 3.3: Tempo médio para morte dos cupins de cada ninho em relação a variância da temperatura interna da caixa térmica durante o experimento. Cada ponto representa um ninho. Os ninhos de Viçosa-MG não foram utilizados nesta análise.

- Primeiramente, deve-se estabelecer o intervalo de variação térmica aceitável de acordo com as restrições do grupo a ser estudado.
- Em seguida, uma breve avaliação para determinar a quantidade de água (congelada ou aquecida) capaz de modificar não mais que 1°C na temperatura interna, para que seja utilizada quando a temperatura aproximar-se dos limites determinados.
- Por fim, escolher o tamanho ideal da caixa térmica para realização do experimento. Uma caixa de 37L, como a utilizada em nosso trabalho, permite a utilização de até vinte arenas de 40mm de diâmetro.

10 Concluindo-se, a caixa térmica é uma alternativa portátil e de baixo custo (entre R\$ 50 e 70) para realização de experimentos de comportamento de insetos. Pode ser facilmente transportada para campo, e utilizada em locais mais remotos, desde que ao menos a produção de cubos de gelos seja disponível. Os cupins, utilizados como um modelo de estudo sensível à temperatura, responderam bem às variações

15 na temperatura interna da caixa, o que sugere que o mesmo procedimento possa ser utilizado para outros grupos. Naturalmente, testes prévios devem ser realizados para melhor ajuste de cada situação. Além disso, a utilização de água para controle da

temperatura pode simultaneamente permitir controle da umidade dentro da caixa térmica, e outros trabalhos podem ser realizados a fim de se verificar esse potencial.

Capítulo **4**

Quem irá sofrer se eu não pagar o aluguel? Custos do encontro entre cupins inquilinos e hospedeiros

4.1 Introdução

Interações interespecíficas normalmente envolvem custos e benefícios (Bronstein, 1994; Nielsen et al., 2006). A definição do caráter positivo ou negativo de uma interação depende da mensuração destes custos e benefícios para ambas as espécies
5 envolvidas. Em cupins, uma interação relativamente comum é o inquilinismo, em que uma espécie de cupim se abriga no ninho de outra espécie. Até onde sabemos, não existe nenhuma mensuração de custos ou benefícios do inquilinismo em cupins. Um dos possíveis custos associados ao inquilinismo pode ser o custo do encontro entre inquilinos e hospedeiros, que pode resultar em comportamentos agonísticos
10 (Noirot, 1970). É este custo que quantificaremos aqui.

Os ninhos de insetos sociais são comumente sujeitos a invasão por outras espécies que aí obtêm diversas vantagens, tais como um microclima estável (Jones & Oldroyd, 2006; Noirot, 1970), ou alta disponibilidade de recursos (Jaffe et al., 1995). Como a construção e manutenção de um ninho para abrigar a colônia acarreta em
15 custos (Queller & Strassmann, 2002), a expulsão dos invasores pode ser vantajosa para o hospedeiro. Diversas estratégias podem ser utilizadas pelos os invasores para burlar os sistemas de reconhecimento e consequente defesa do ninho pelos hospedeiros (Kilner & Langmore, 2011). Em cupins, por exemplo, os inquilinos parecem utilizar galerias distintas de seus hospedeiros (Cunha et al., 2003; Mathews, 1977).
20 Isto pode ser apenas um exemplo de comportamento críptico, comum aos cupins, mas pode indicar que o encontro com hospedeiro cause algum custo para o inquilino e, por isso, deva ser evitado. Outros comportamentos exibidos pelos inquilinos parecem reforçar a idéia de que eles sejam caracterizados por um comportamento críptico ou mesmo evasivo. Florencio et al. (2013), por exemplo, demonstrou que
25 inquilinos de várias espécies tendem a utilizar uma dieta diferente daquela usada por seus próprios hospedeiros. Da mesma forma, certos inquilinos são capazes de detectar sinais químicos de seus hospedeiros, evitando-os (Cristaldo et al., 2014). Se tais comportamentos forem interpretados como estratégias para evitar o encontro

e eventuais antagonismos com hospedeiro, as vantagens para o inquilino passam a ser justificáveis. Por outro lado, estes mesmos comportamentos podem trazer vantagens indiretas ao hospedeiro, por evitar os custos de um eventual conflito. Assim, ao beneficiar ambas as espécies, a redução na frequência dos encontros interespecíficos dentro dos ninhos poderia facilitar a co-habitação.

O potencial custo inerente ao encontro entre inquilinos e hospedeiros é apenas uma parte do custo do inquilinismo que, sozinho, não determina o caráter positivo ou negativo do inquilinismo. Entretanto, sua quantificação pode sugerir a importância das estratégias para evitar o encontro como mecanismos de redução do custo da interação para pelo menos uma das espécies.

Diante disto, testamos a hipótese que o contato direto resultante do encontro entre inquilinos e hospedeiros acarreta em custos para pelo menos a espécie inquilina, uma vez que esta apresenta estratégias para evitar o encontro. Para tanto, estimamos os custos do encontro de diferentes pares de espécies inquilinas e hospedeiras, quantificando a sobrevivência de indivíduos de ambas as espécies quando experimentalmente expostos ao contato direto entre si em contraste com a sobrevivência de grupos de indivíduos de apenas uma das espécies. Caso o encontro interespecífico acarrete em custos, esperamos detectar uma redução na sobrevivência dos indivíduos quando comparada à sua sobrevivência em grupos monoespecíficos.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Idéia Geral do Experimento

O experimento objetivou estimar o efeito do encontro entre inquilinos e hospedeiros sobre a sobrevivência dos indivíduos envolvidos. Para tanto, quantificamos a sobrevivência de indivíduos quando experimentalmente expostos ao contato interespecífico direto, em contraste com sua sobrevivência em grupos contendo indivíduos de apenas uma das espécies. Caso este encontro resultasse em custos diretos (p.ex. oriundos de comportamentos agonísticos), a sobrevivência dos indivíduos nos grupos monoespecíficos (apenas uma das espécies) seria maior que aquela em grupos heteroespecíficos (ambas espécies). O oposto ocorreria caso os encontros trouxessem

vantagem às espécies envolvidas. Valores iguais de sobrevivência entre os grupos denunciariam a ausência de custos ou benefícios do encontro direto.

Para tanto, operários de cupins hospedeiros e de seus inquilinos foram coletados no campo e trazidos para o laboratório onde foram confinados em grupos mo-
 5 noespecíficos (apenas hospedeiros ou apenas inquilinos) e grupos heteroespecíficos (hospedeiros e inquilinos juntos; um par de espécies por vez).

4.2.2 Espécies Estudadas

Informações relacionadas a nidificação e inquilinismo de cada uma das espécies utilizadas neste trabalho encontram-se na Tabela A.1 (Apêndice).

10 4.2.3 Amostragem dos Ninhos

Trinta e nove ninhos contendo cupins hospedeiros e inquilinos foram coletados em quatro localidades distintas, ao longo de um transecto Noroeste-Sudeste de aproximadamente 1700km em linha reta, englobando 5 graus de latitude e 15 graus de longitude, dentro do Bioma Cerrado, no Brasil. A área de Vila Bela da Santíssima
 15 Trindade-MT (15°00'28"S, 59°57'03"W) é caracterizada como um campo de murundus (Eiten, 1994). As áreas de Diamantino-MT (14°24'32"S, 56°26'45"W), Gameleira de Goiás-GO (16°27'50"S, 48°40'12"W) e Divinópolis-MG (20°08'20"S, 44°53'02"W) podem ser classificadas como cerrado *stricto sensu* (Eiten, 1994).

Todos os ninhos foram georreferenciados e foram realizadas medidas para pos-
 20 terior cálculo do volume. Para o ninhos epígeos mediu-se a altura da parte epígea (h), o diâmetro maior da base (D) e o diâmetro menor da base (d), calculando-se o volume como proposto por Domingos (1983), à partir da fórmula do hemi-elipsóide: $v = 1/6 \cdot \pi \cdot h \cdot D \cdot d$. Nos ninhos arborícolas foram demarcadas seções cilíndricas e o volume total foi o somatório do volume de cada seção, somado ao volume das
 25 calotas inferior e superior, descontando-se do volume do tronco em que o ninho se encontrava, conforme proposto por Cristaldo et al. (2012).

Ninhos menores (até 40 L) foram coletados inteiros enquanto dos ninhos maiores somente partes (40 L em média) foram coletadas. Este material foi levado ao laboratório para retirada dos indivíduos que comporiam os ensaios.

4.2.4 Montagem do Experimento

Em laboratório, operários da espécie hospedeira e das espécies inquilinas foram extraídos dos ninhos e mantidos vivos em placas de Petri distintas até serem transferidos para os respectivos grupos experimentais. Amostras de cada espécie foram armazenadas em álcool 80% para identificação.

Os grupos experimentais foram montados em arenas construídas com um anel de PVC com 38 mm de diâmetro interno disposto sobre uma base plana de vidro jateado e coberto com uma placa de vidro plano, liso e transparente. O jateamento da base facilita a locomoção dos cupins, que são desprovidos de arólios nos tarsos (Crosland et al., 2005). As arenas foram montadas de modo a conter um dos três agrupamentos a seguir: i) monoespecífico, contendo apenas operários da espécie hospedeira; ii) monoespecífico, contendo apenas operários da espécie inquilina; e iii) heteroespecífico, contendo operários de ambas as espécies (hospedeira e inquilina).

Para garantir que os agrupamentos fossem comparáveis, a densidade espacial dos grupos foi padronizada, já que esta pode afetar a sobrevivência de indivíduos confinados (DeSouza & Miramontes, 2004; Miramontes & DeSouza, 1996). Para tanto, os grupos foram formados de modo que razão entre a área total ocupada pelos indivíduos e a área total da arena (i.e., a “densidade espacial”) fosse mantida na faixa de 0.10 a 0.18. Tais valores oscilam em torno da densidade ótima na qual ocorre máxima sobrevivência em cupins confinados (DeSouza et al., 2001; Miramontes & DeSouza, 2008). Não foi possível montar arenas estritamente com o mesmo número de indivíduos porque estes diferiam em tamanho, especialmente no caso de arenas heteroespecíficas. Por isso, o número de indivíduos variou entre arenas e entre espécies. Cuidou-se, entretanto, por evitar que houvessem grandes desbalanços numéricos dentro de cada arena, mantendo o número de indivíduos por espécie o mais igualitário possível, sempre obedecendo a restrição de densidade ótima (Tabela A.3, Apêndice).

As arenas foram mantidas em uma caixa de isopor (dimensões internas: 400 × 305 × 330mm, 28mm de espessura da parede). A temperatura foi monitorada com um termômetro digital e controlada (inserindo-se sempre que necessário um recipiente contendo cubos de gelo ou água aquecida a $\pm 60^{\circ}\text{C}$) de modo que a variação

interna permanecesse dentro de um intervalo de 24 a 27°C. A eficiência e adequabilidade deste sistema foram testadas no capítulo 3.

4.2.5 Condução do Experimento

Durante a montagem dos agrupamentos heteroespecíficos (grupo iii), os indivíduos eram colocados nas arenas mantendo-se as espécies isoladas por um anteparo de PVC até que o experimento fosse iniciado, desta forma impedindo possíveis agressões antes do início da contagem do tempo. Uma vez que a arena estivesse totalmente montada, o anteparo era retirado e a arena era observada por um período de um minuto. As eventuais mortes dos indivíduos dentro deste período eram, então, registradas. À partir daí, durante a primeira hora do experimento, o número de indivíduos vivos de cada arena foi registrado em intervalos de 15 minutos. Após este período, a contagem foi realizada em intervalos de 30 minutos, até se completarem 10 horas desde o início do experimento. Caso houvesse indivíduos vivos após este período, a contagem passava a ser realizada em intervalos de uma hora, exclusivamente no período diurno até que pelo menos 80% dos indivíduos estivessem mortos.

4.2.6 Análises dos Dados

Os dados de cada espécie em cada arena foram submetidos a análises de sobrevivência sob distribuição de Weibull para se estimar o tempo médio para morte (i.e., o momento em que restavam vivos 50% dos operários) de indivíduos confinados em arenas experimentais em grupos monoespecíficos (somente o inquilino ou somente o hospedeiro) e em grupos heteroespecíficos (inquilinos e hospedeiro juntos).

O efeito do encontro entre hospedeiro e inquilino foi estimado dividindo o tempo médio para morte dos indivíduos em grupos heteroespecíficos pelo tempo para morte dos indivíduos dos grupos monoespecíficos, criando assim uma estimativa de sobrevivência relativa. Esta estimativa representa a proporção na qual a sobrevivência de um indivíduo é alterada quando este é exposto a indivíduos de outra espécie, tomando como padrão a sobrevivência do indivíduo-foco quando confinado em grupos monoespecíficos. Em suma, estima-se o efeito do encontro na sobrevivência o que,

em última análise, refere-se a uma parte relevante do custo de um eventual encontro entre ambos co-habitantes. Para tanto aplica-se a equação:

$$S_{ij} = H_{ij}/M_i \quad (4.1)$$

onde S_{ij} é a sobrevivência devida ao encontro entre espécies i e j ; H_{ij} é a sobrevivência da espécie i quando confinada em grupos heteroespecíficos juntamente com a espécie j e M_i é a sobrevivência da espécie i quando confinada em grupos monoespecíficos.

Esta equação produz valores iguais a 1.0 quando a sobrevivência após o encontro é equivalente àquela de grupos monoespecíficos (ou seja, não há efeito do encontro sobre a sobrevivência). Valores menores que 1.0 indicam uma redução na sobrevivência em função do encontro interespecífico, informando que há custos. Estes custos atingem grau máximo para valores iguais a zero, os quais representam a morte imediata do indivíduo ao ser exposto ao contato heteroespecífico. Por sua vez, valores maiores que 1.0 indicam que o indivíduo sobrevive mais em grupos heteroespecíficos do que em grupos monoespecíficos, informando assim que há benefícios advindos do encontro.

Os valores obtidos à partir desta equação para cada par inquilino-hospedeiro foram utilizados para construção de uma elipse bayesiana que representa o conjunto dos dados, auxiliando na visualização de seus limites. Esta elipse representa, para dados bivariados, o mesmo que o desvio padrão representa para dados univariados, mas ao invés das variâncias se utiliza de uma matriz de covariância estimada através de inferência bayesiana. A elipse foi calculada utilizando-se a rotina `siber` (Jackson et al., 2011) do pacote `siar` (Parnell et al., 2010), sob o sistema estatístico R (R Development Core Team, 2015).

4.3 Resultados

Estimou-se o efeito do encontro interespecífico para seis espécies de hospedeiros, e 16 espécies de inquilinos. Algumas colônias de inquilinos tiveram apenas sua ocorrência registrada, uma vez que não possuíam indivíduos suficientes para

serem utilizados nos experimentos (Tabela A.2, Apêndice). *Cornitermes silvestrii* apresentou a maior riqueza de inquilinos (16 espécies), imediatamente seguido por *Cornitermes villosus* (14 espécies), *Cornitermes bequaerti* (seis espécies), *Constrictotermes cyphergaster* (seis espécies), *Velocitermes heteropterus* (quatro espécies), e
 5 *Silvestritermes euamignathus* (duas espécies). Dentre esses, *Velocitermes heteropterus* se destaca por figurar tanto como hospedeiro como quanto inquilino. Dentre os inquilinos, *Embiratermes festivellus* foi a espécie mais bem distribuída ocorrendo em ninhos de quatro hospedeiros e presente nas quatro localidades.

O contato direto entre as espécies nas arenas apresentou a tendência geral em re-
 10 duzir a sobrevivência tanto de hospedeiros como de inquilinos, comparativamente à sobrevivência destes quando confinados em grupos monoespecíficos. Houve casos em que este encontro redundou em aumento da sobrevivência de um dos co-habitantes, mas tais casos foram excepcionais. Isso é evidenciado pelo fato da elipse que circunscreve os pontos da Fig. 5.1 estar situada quase que totalmente em valores de
 15 $S_{ij} < 1$ tanto para inquilinos (eixo x) quanto para hospedeiros (eixo y), indicando uma tendência geral para que indivíduos confinados em grupos heteroespecíficos vivam menos tempo que indivíduos confinados em grupos monoespecíficos. Os casos excepcionais de aumento de sobrevivência são representados por uma estreita parte da elipse abarcando efeitos com valores de $S_{ij} > 1$. Observa-se ainda uma ligeira
 20 tendência do encontro heteroespecífico afetar mais negativamente os inquilinos do que os hospedeiros, o que é denunciado pelo fato do centróide da elipse estar mais próximo de zero no eixo x do que no eixo y (centróide: $x = 0.4187$; $y = 0.6361$). Tais valores indicam que o encontro entre os co-habitantes leva a sobrevivência dos inquilinos a reduzir-se 58% do seu valor alcançado nos grupos monoespecíficos (i.e.,
 25 quando não encontra o hospedeiro) enquanto a sobrevivência do hospedeiro reduz 36% do seu valor alcançado nos grupos monoespecíficos (i.e., quando não encontra o inquilino).

Esta redução na sobrevivência parece ter sido causada principalmente por comportamentos agonísticos estabelecidos logo que os indivíduos de espécies diferentes
 30 se encontravam dentro das arenas. Normalmente, o hospedeiro era mais ativo e agressivo que o inquilino, atacando-o tão logo o anteparo de PVC era retirado. Em alguns casos, este ataque provocou a morte da maioria dos operários de inquilinos

no primeiro minuto do experimento. Em termos numéricos isso corresponde a uma sobrevivência próxima a zero para os inquilinos nos tratamentos heteroespecíficos, o que leva a um resultado próximo a zero para a sobrevivência relativa dada pela Equação 4.1 ($S_{ij} \simeq 0$, aqui representando a sobrevivência do inquilino i na presença do hospedeiro j), pois neste caso $H_{ij} \simeq 0$. Valores desta magnitude são interpretados aqui como representando o custo máximo sofrido pelo inquilino ao encontrar seu hospedeiro.

À exceção de *Velocitermes heteropterus* e *Nasutitermes kemneri*, os inquilinos aqui estudados eram pouco ativos nunca iniciando conflitos, embora pudessem revistar os ataques do hospedeiro. Os inquilinos (incluindo os citados acima), entretanto, nunca provocaram morte imediata dos hospedeiros de forma que os custos sofridos por estes últimos nunca atingiram valores máximos (i.e., S_{ij} , aqui representando a sobrevivência do hospedeiro i na presença do inquilino j , nunca alcançou valores iguais a zero).

4.4 Discussão

A idéia de que cupins inquilinos adotem comportamentos para evitar conflito com seus hospedeiros permeia toda a discussão sobre este tipo de interação. Esta hipótese surgiu naturalmente à partir de observações de que cupins inquilinos tendem a se alojar em galerias separadas, formando colônias menores que aquelas de seus hospedeiros (Cunha et al., 2003), não sobrepõem sua dieta com aquela do hospedeiro (Florencio et al., 2013), e podem utilizar pistas químicas de seu hospedeiro para evitar encontrá-lo dentro dos ninhos (Cristaldo et al., 2014). Por mais que tal hipótese seja plausível à luz destas evidências, uma de suas premissas mais básicas ainda não havia sido investigada diretamente. Isto é, para que comportamentos furtivos trouxessem benefício aos inquilinos, seria necessário que o encontro entre inquilino e hospedeiro resultasse em conflito e custos, de modo que sua evitação fosse vantajosa. Aqui nós demonstramos que, de fato, há custos envolvidos no encontro entre inquilinos e hospedeiros, reforçando assim a noção de que comportamentos furtivos sejam selecionados positivamente dentre os inquilinos. Mais interessante ainda, há

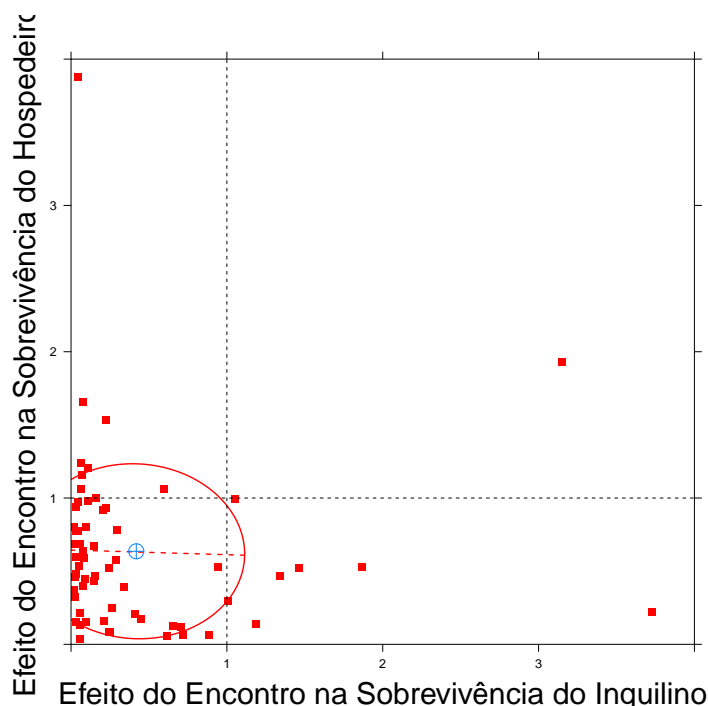


Figura 4.1: Efeito proporcional sobre a sobrevivência de inquilinos quando colocados em contato direto quando com hospedeiros (eixo x), e de hospedeiros quando colocados em contato direto com inquilinos (eixo y). Cada ponto corresponde a um par de espécies inquilino-hospedeiro. A elipse circunscreve os limites Bayesianos da nuvem de pontos. A linha demarcada representa o diâmetro maior da elipse com ângulo de inclinação $\theta = -0.099$, que significa que a redução de uma unidade de custo para os inquilinos equivale a um aumento de 0.0025 unidades de custo para os hospedeiros. O círculo representa o centróide, situado em $x=0.4187$ e $y= 0.6361$, e a excentricidade da elipse é de 0.84.

evidências de que não só o inquilino mas também o hospedeiro obtenha vantagens disso.

Nossos resultados indicam que há uma tendência geral de que o encontro entre inquilinos e hospedeiros implique em custos para ambos os co-habitantes: quanto confinados juntos numa mesma arena experimental, indivíduos inquilinos e hospedeiros tendem sobreviver menos tempo do que quando confinados em grupos monoespecíficos. Isso é bem claro ao observarmos na Fig. 5.1 que elipse descritora do efeito deste encontro sobre a sobrevivência dos co-habitantes restringe-se quase que totalmente na região do gráfico onde $S_{ij} < 1$ tanto para hospedeiros quanto para inquilinos. Tais valores indicam que a sobrevivência nos grupos heteroespecíficos reduziu-se a uma fração da sobrevivência observada nos grupos monoespecíficos e, portanto, pode-se considerar que o encontro entre os co-habitantes gerou custos para ambos os co-habitantes. Estes custos, entretanto, parecem diferir ligeiramente entre

os co-habitantes, sendo um pouco mais severos para os inquilinos do que para os hospedeiros. Isto é evidenciado pela posição da elipse na Fig. 5.1, cujo centróide ($x=0.4187$; $y=0.6361$) encontra-se mais próximo de zero em x (eixo dos inquilinos) do que em y (eixo dos hospedeiros).

5 A existência de tais custos para os inquilinos parece confirmar a vantagem em se utilizar de estratégias para evitar sua detecção pelos hospedeiros. Afinal, dentre as estratégias utilizadas por animais para evitar o ataque de inimigos, evitar a detecção parece uma escolha óbvia, especialmente quando o custo do ataque é alto (Ruxton et al., 2004). Como o encontro heteroespecífico nas arenas experimentais chegou
10 a provocar reduções extremas na sobrevivência dos inquilinos ($S_{ij} \simeq 0$ no eixo x da Fig. 5.1), é plausível considerar que o contato direto com o hospedeiro resulte em alto risco em certos casos. Inquilinos, portanto, obtêm grande vantagem em exibir comportamentos furtivos. Isto sustenta a noção de que ao manter colônias pequenas (Bouillon, 1970), usar galerias (Cunha et al., 2003) e dietas (Florencio et al., 2013) distintas do seu hospedeiro, evitando locais marcados quimicamente por
15 estes últimos (Cristaldo et al., 2014), os inquilinos estariam minimizando a chance de conflitos e garantindo a estabilidade da co-habitação.

Os hospedeiros, por sua vez, também sofrem custos decorrentes deste encontro (eixo y , Fig. 5.1). Com isso, as estratégias dos inquilinos para evitar o encontro,
20 ao minimizar a chance de conflitos e danos, acabam por beneficiar também os seus hospedeiros retroalimentando a probabilidade de sucesso da co-habitação. Mais que isso, ao evadirem-se e evitarem custos ao hospedeiro, os inquilinos reduzem a pressão seletiva que poderia levar ao desenvolvimento de estratégias de detecção por parte deste último. A ausência de pelo menos uma destas estratégias já foi registrada por
25 Cristaldo et al. (2014) ao demonstrar que *Constrictotermes cyphergaster* não é capaz de detectar as trilhas de feromônio depositadas por seus inquilinos *Inquilinitermes microcerus*.

O custo do encontro mensurado neste trabalho é a primeira quantificação real de algum custo associado à co-habitação em cupins. A constatação de tais custos
30 dá suporte à hipótese vigente (Cristaldo et al., 2014; Florencio et al., 2013) de que os comportamentos furtivos normalmente observados em inquilinos tenham evoluído como estratégias que facilitem a co-habitação. Sendo organismos naturalmente críp-

ticos (Noirot & Darlington, 2000), é fácil imaginar que estas estratégias de evitação sejam derivadas destes comportamento. Ao mesmo tempo, fica mais clara parte da conhecida dependência entre inquilinismo e tamanho do cupinzeiro (Cristaldo et al., 2012), pois ninhos maiores poderiam apresentar maiores oportunidades para
5 inquilinos estabelecerem suas colônias mais desapercibidamente.

Capítulo **5**

Padrões ecológicos e evolutivos do custo
do encontro entre cupins co-habitantes

Diogo A. Costa, Alessandra Marins, Vinicius B. Rodrigues & Og DeSouza

5.1 Introdução

Como visto anteriormente (Capítulo 4), o encontro entre hospedeiros com os inquilinos acarreta em custos para ambos os co-habitantes. Além disso, conforme já esperado, os custos não são fixos em um único valor, e existe uma amplitude de variação considerável em seus valores (Fig. 5.1). Uma observação mais cuidadosa da elipse que representa estes custos permite-nos verificar que os custos sofridos por um determinado par inquilino-hospedeiro difere dos custos sofridos por outro par. Esta diferença ocorre tanto entre pares compostos por espécies diferentes, como entre pares compostos pelas mesmas espécies co-habitantes oriundos de localidades distintas. Diante disto, uma pergunta que resta é: Por que os custos variam tanto?

Sabe-se que invasores de ninhos sofrem pressões distintas e opostas a seus hospedeiros, decorrentes das distintas estratégias usadas para invasão e respectiva defesa do ninho (Haraguchi & Sasaki, 1996; Kilner & Langmore, 2011). Isso implica que os ajustes evolutivos entre pares de co-habitantes dependerão das espécies, em função do histórico evolutivo. É possível, por exemplo, que o aumento na especialização do invasor reduza potenciais efeitos negativos sobre o hospedeiro (Barrett et al., 2009; Henry et al., 2008; Kawecki, 1998), podendo, desta forma, favorecer sua a tolerância pelo mesmo (Kilner & Langmore, 2011; Soler et al., 1998; Svensson & Råberg, 2010). Então, como cada par de espécies tem uma história particular, é de se esperar que sejam distintos tanto os custos registrados para cada hospedeiro e cada inquilino, quanto os custos registrados para cada para inquilino-hospedeiro.

Uma outra linha de raciocínio, coloca as pressões ambientais como um importante modulador do resultado de interações interespecíficas. Sabe-se, por exemplo, que em ambientes menos favoráveis, os efeitos negativos das interações são atenuados (Bruno et al., 2003; Callaway et al., 2002; Callaway, 2007; Hart & Marshall, 2013; Maestre et al., 2009; Snyder, 2008). A interação inquilino-hospedeiro provavelmente está sujeita às mesmas regras e assim, os custos do encontro entre estes co-habitantes podem também ser modulados pelas variações nas condições ambientais.

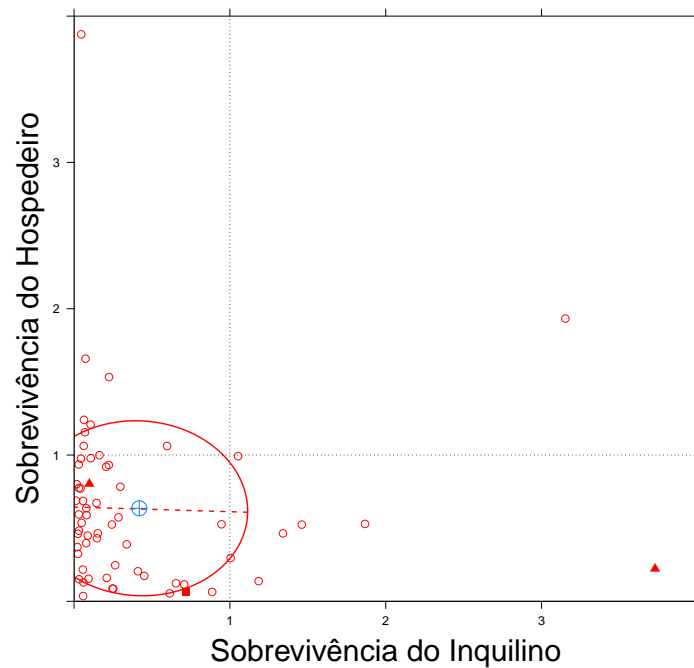


Figura 5.1: Efeito proporcional sobre a sobrevivência de inquilinos quando colocados em contato direto quando com hospedeiros (eixo x), e de hospedeiros quando colocados em contato direto com inquilinos (eixo y). Cada ponto corresponde a um par de espécies inquilino-hospedeiro. Os pontos preenchidos correspondem ao custos para o mesmo par de espécies em localidades distintas (quadrado: Diamantino, triângulo: Vila Bela). A elipse circunscreve os limites Bayesianos da nuvem de pontos. A linha demarcada representa o diâmetro maior da elipse com ângulo de inclinação $\theta = -0.099$, que significa que a redução de uma unidade de custo para os inquilinos equivale a um aumento de 0.0025 unidades de custo para os hospedeiros. O círculo representa o centróide, situado em $x=0.4187$ e $y=0.6361$, e a excentricidade da elipse é de 0.84.

Diante do exposto, levantamos a hipótese que tanto ajustes evolutivos como condições ambientais comumente associados a interações interespecíficas possam também modular o efeito do encontro entre cupins co-habitantes. A partir destas, três predições são possíveis: os custos do encontro i) dependem das pressões evolutivas sofridas por cada membro do par; ii) dependem do ajuste evolutivo entre os membros do par; e iii) dependem das condições ambientais a que as colônias estão sujeitas. Para tanto, relacionamos os custos do encontro de diferentes pares de espécies inquilinas e hospedeiras com a especialização do inquilino e as condições ambientais, de forma a identificar quais os fatores preponderantes para cada co-habitante.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Idéia Geral do Experimento

O experimento objetivou testar a hipótese de que ajustes evolutivos e condições ambientais poderiam afetar a sobrevivência dos operários em eventuais encontros heteroespecíficos. Para tanto, i) estimamos o efeito do encontro entre inquilinos e hospedeiro sobre a sobrevivência de cada co-habitante, e ii) correlacionamos este efeito com a especialização do inquilino, a temperatura da localidade de origem e no momento do experimento que potencialmente afetam a coexistência entre hospedeiro e inquilino. Tais fatores foram escolhidos, respectivamente, como indicadores de eventuais ajustes evolutivos do par hospedeiro-inquilino e indicadores das condições ambientais a quais os co-habitantes estariam sujeitos. Os fatores utilizados para cada espécie do par foram escolhidos na tentativa de responder a seguinte pergunta: o que há na biologia das espécies envolvidas (inquilinos e hospedeiros) e/ou no ambiente que poderia resultar em mudanças no padrão de sobrevivência?

Para tanto operários de cupins hospedeiros e seus inquilinos foram coletados no campo e trazidos para o laboratório onde foram confinados em grupos monoespecíficos (apenas hospedeiros ou apenas inquilinos) e grupos heteroespecíficos (hospedeiros e inquilinos juntos; um par de espécies por vez). Observações periódicas destes indivíduos permitiram estimar sua sobrevivência em cada grupo.

O grau de especialização do inquilinos foi determinado a partir de informações de cada espécie existentes em literatura especializada. A temperatura foi mensurada de duas formas. Primeiramente, através do registro da temperatura no momento do experimento e posteriormente a partir da consulta em um banco de dados global para cada ambiente amostrado.

5.2.2 Espécies Estudadas

Informações relacionadas a nidificação e inquilinismo de cada uma das espécies utilizadas neste trabalho encontram-se na Tabela A.1 (Apêndice).

5.2.3 Amostragem dos Ninhos

Foram coletados 29 ninhos de seis hospedeiros diferentes distribuídos em quatro localidades distintas com diferentes graus de temperatura média anual, ao longo de um transecto Noroeste-Sudeste de aproximadamente 1700km em linha reta, englobando 5 graus de latitude e 15 graus de longitude, dentro do Bioma Cerrado, no Brasil. A área de Vila Bela da Santíssima Trindade-MT (15°00'28"S, 59°57'03"W, 25.2°C) é caracterizada como um campo de murundus (Eiten, 1994). As áreas de Diamantino-MT (14°24'32"S, 56°26'45"W, 25.2°C), Gameleira de Goiás-GO (16°27'50"S, 48°40'12"W, 23.2°C) e Divinópolis-MG (20°08'20"S, 44°53'02"W, 20.9°C) podem ser classificadas como cerrado *stricto sensu* (Eiten, 1994).

Todos os ninhos foram georreferenciados e foram realizadas medidas para posterior cálculo do volume. Para os ninhos epígeos mediu-se a altura da parte epígea (h), o diâmetro maior da base (D) e o diâmetro menor da base (d), e utilizou-se a fórmula do volume do hemi-elipsóide: $v = 1/6 \cdot \pi \cdot h \cdot D \cdot d$. Nos ninhos arborícolas foram demarcadas seções cilíndricas e o volume total foi o somatório do volume de cada seção, somado ao volume das calotas inferior e superior, descontando-se do volume do tronco em que o ninho se encontrava, conforme proposto por Cristaldo et al. (2012).

Ninhos menores (até 40 Kg) foram coletados inteiros enquanto dos ninhos maiores somente partes (40 kg em média) foram coletadas. Este material foi levado ao laboratório para retirada dos indivíduos que comporiam os ensaios.

5.2.4 Montagem do Experimento

Em laboratório, os operários da espécie hospedeira e das espécies inquilinas foram extraídos dos ninhos e mantidos vivos em placas de Petri distintas até serem transferidos para os respectivos grupos experimentais. Amostras de cada espécie foram armazenadas em álcool 80% para identificação.

Os grupos experimentais foram montados em arenas compostas de um anel de PVC com 38 mm de diâmetro interno disposto sobre uma base plana de vidro jateado e coberto com uma placa de vidro plano, liso e transparente. O jateamento da base facilita a locomoção dos cupins, que são desprovidos de arólios nos tarsos (Crosland

et al., 2005). As arenas foram montadas de modo a conter um dos três agrupamentos a seguir: i) monoespecífico, contendo apenas operários da espécie hospedeira; ii) monoespecífico, contendo apenas operários da espécie inquilina; iii) heteroespecífico, contendo operários de ambas as espécies (hospedeira e inquilina).

5 Para garantir que os agrupamentos fossem comparáveis, a densidade espacial dos grupos foi padronizada, já que pode afetar a sobrevivência de indivíduos confinados (DeSouza & Miramontes, 2004; Miramontes & DeSouza, 1996). Para tanto, os grupos foram formados de modo que razão entre a área total ocupada pelos indivíduos e a área total da arena (i.e., a “densidade espacial”) fosse mantida na faixa
10 de 0.10 a 0.18. Tais valores oscilam em torno da densidade ótima na qual ocorre máxima sobrevivência em cupins confinados (DeSouza et al., 2001; Miramontes & DeSouza, 2008). Não foi possível montar arenas estritamente com o mesmo número de indivíduos porque estes diferiam em tamanho, especialmente no caso de arenas heteroespecíficas. Por isso, o número de indivíduos variou entre arenas e
15 entre espécies. Cuidou-se, entretanto, por evitar que houvessem grandes desbalanços numéricos dentro de cada arena, mantendo o número de indivíduos por espécie o mais igualitário possível, obedecida a restrição de densidade ótima (Tabela A.3, Apêndice).

As arenas foram mantidas em uma caixa de isopor (dimensões internas: 400 ×
20 305 × 330 mm, 28 mm de espessura da parede). A temperatura foi monitorada com um termômetro digital e controlada (inserindo-se sempre que necessário um recipiente contendo cubos de gelo ou água aquecida a $\pm 60^{\circ}\text{C}$) de modo que a variação interna permanecesse dentro de um intervalo de 24 a 27°C. A eficiência e adequabilidade deste sistema foram testadas à parte.

25 5.2.5 Condução do Experimento

Durante a montagem dos agrupamentos heteroespecíficos (grupo iii), os indivíduos eram colocados nas arenas mantendo-se as espécies isoladas por um anteparo de PVC até que o experimento fosse iniciado, para impedir possíveis agressões antes do início da contagem de tempo. Uma vez que a arena estivesse totalmente mon-
30 tada, o anteparo era retirado e a arena era observada por um período de um minuto. As eventuais mortes dos indivíduos dentro deste período eram, então, registradas.

À partir daí, durante a primeira hora do experimento, o número de indivíduos vivos de cada arena foi registrado em intervalos de 15 minutos. Após este período, a contagem foi realizada em intervalos de 30 minutos, até se completarem 10 horas desde o início do experimento. Caso houvessem indivíduos vivos após este período, a contagem passava a ser realizada em intervalos de uma hora, exclusivamente no período diurno até que pelo menos 80% dos indivíduos estivessem mortos.

5.2.6 Especialização do Inquilino

O grau de especialização do inquilino foi a variável escolhida como representante do ajuste evolutivo entre os co-habitantes, e potencial modulador do efeito do encontro na sobrevivência de hospedeiros e inquilinos. Esta variável pode atuar sobre o efeito do encontro de pelo menos duas formas. Primeiramente, pode influenciar o reconhecimento do inquilino pelo hospedeiro. Inquilinos obrigatórios podem possuir algum ajuste que dificulte sua detecção como intruso (Bogusch et al., 2006), podendo assim, afetar a velocidade que eles seriam atacados durante nosso experimento. Além disso, o grau de especialização pode afetar tanto a agressividade dos inquilinos como dos hospedeiros quando o encontro ocorre (Grasso et al., 1992), e consequentemente influenciar a sobrevivência de ambos os co-habitantes.

A especialização dos inquilinos foi determinada com base em registros da literatura (Araujo, 1977; Emerson & Krishna, 1975; Mathews, 1977). Foram consideradas espécies obrigatórias aquelas que são incapazes de construir o próprio ninho e habitam apenas em ninhos de determinados gêneros de hospedeiro. Em nossos trabalhos, foram consideradas como obrigatórias as espécies *Inquilinitermes fur*, *Inquilinitermes microcerus* e *Serritermes serrifer*. Todas as demais espécies inquilinas encontradas foram classificadas como facultativas (Tabela A.1, Apêndice). Devido a um maior ajuste evolutivo a seus hospedeiros, os inquilinos obrigatórios podem possuir sinais de reconhecimento similares, ou não possuir sinal algum, o que poderia dificultar o reconhecimento, reduzindo o efeito sobre a sobrevivência. Similarmente, este ajuste pode reduzir a agressividade dos inquilinos obrigatórios de forma a causar menores danos a seus hospedeiros.

5.2.7 Condições Ambientais

As condições ambientais que tanto inquilinos e hospedeiros estão submetidos podem afetar sua agressividade e influenciar a sobrevivência de seus co-habitantes. Os cupins são insetos sensíveis a variações de temperatura, normalmente exibindo preferência entre 25 e 32°C, dependendo da espécie (Garcia & Becker, 1975; Field & Duncan, 2013; Korb & Linsenmair, 2000; Mitchell et al., 1993; Smith & Rust, 1994; Steward, 1981). Então, investigamos as médias de temperatura (°C) da estação meteorológica mais próxima ao ponto de coleta. Estas médias foram calculadas a partir das respectivas médias mensais acessadas de um banco de dados global de pelo menos 30 anos de monitoramento (<http://www.climate-charts.com/>). Por serem pouco esclerotizados, os cupins são indivíduos sensíveis às condições ambientais fora do ninho (Collins, 1969; Gathorne-Hardy et al., 2001; Korb, 2008), assim avaliamos um possível efeito do stress experimental mensurando a diferença entre a temperatura interna e temperatura externa do momento do experimento.

Adicionalmente, uma revisão bibliográfica foi realizada para avaliar a ocorrência de inquilinos e hospedeiros em diferentes ecossistemas. A busca dos artigos foi realizada nos indexadores ISI Web of Science (<http://www.webofknowledge.com>), Scopus (<http://www.scopus.com>) e Scielo (<http://www.scielo.org>), usando os termos “cohabitation”, “coexistence” e “inquilinism” no intervalo de 1945 a 2014. Além disso, busca similar foi realizada em seis dos principais livros da área: Krishna & Weesner (1969, 1970); Mathews (1977); Grassé (1984); Abe et al. (2000); Bignell et al. (2011). Apenas registros que explicitamente indicavam que indivíduos de ambas as espécies de inquilinos e hospedeiros estavam presentes no ninho foram incluídos. Os ecossistemas indicados nos trabalhos selecionados foram classificados segundo a Classificação Climática de Köppen (Kottek et al., 2006). Estes resultados podem auxiliar a detectar algum padrão climático na ocorrência de inquilinismo, para associar os resultados experimentais a padrões globais.

5.2.8 Análises dos Dados

A análise estatística consistiu em verificar o quanto os ajustes evolutivos e a condições ambientais (x-vars) afetavam a sobrevivência (y-var) de inquilinos e hos-

pedeiros quando confinados em grupos heteroespecíficos, conforme detalhado abaixo. Todas as análises foram executadas no Sistema Estatístico R (R Development Core Team, 2015), usando os pacotes `survival` (Therneau, 2014), `PVR` (Santos et al., 2013), e `MuMIn` (Bartoń, 2014).

5 5.2.8.1 Análise de Sobrevivência

A sobrevivência dos operários de cada espécie em cada arena foi estimada por uma análise de sobrevivência sob distribuição de Weibull para se estimar o tempo médio para morte (i.e., o momento em que restavam vivos 50% dos operários) de indivíduos confinados em arenas experimentais em grupos monoespecíficos (somente o inquilino ou somente o hospedeiro) e em grupos heteroespecíficos (inquilinos e hospedeiros juntos).

O efeito do encontro entre hospedeiro e inquilino foi estimado dividindo o tempo para morte dos indivíduos em grupos heteroespecíficos pelo tempo para morte dos indivíduos dos grupos monoespecíficos, criando assim uma estimativa de sobrevivência relativa. Esta estimativa representa a proporção na qual a sobrevivência de um indivíduo é alterada quando é exposto a indivíduos de outra espécie. Para tanto aplica-se a equação:

$$S_{ij} = H_{ij}/M_i \quad (5.1)$$

onde S_{ij} é a sobrevivência devida ao encontro entre espécies i e j ; H_{ij} é a sobrevivência da espécie i quando confinada em grupos heteroespecíficos juntamente com a espécie j ; e M_i é a sobrevivência da espécie i quando confinada em grupos monoespecíficos.

5.2.8.2 Contrastes Filogenéticos Independentes

Após a estimativa do efeito do encontro sobre a sobrevivência, foi realizada uma análise de contrastes filogenéticos, para filtrar o possível efeito do parentesco entre as espécies no caráter de interesse (no caso, o efeito do encontro entre inquilinos e hospedeiros) (Felsenstein, 1985). Para tanto, utilizou-se uma filogenia apenas com os gêneros utilizados neste trabalho, baseando-se em cladogramas recentes da infra-

ordem Isoptera (Inward et al., 2007; Krishna et al., 2013; Rocha et al., 2012) (Fig. 5.2). Uma matriz de distância filogenética relativa entre os gêneros foi construída tratando-se o comprimento do ramo até cada nó como 1.0. A distância entre espécies de mesmo gênero foi considerada zero para fins do cálculo da distância filogenética.

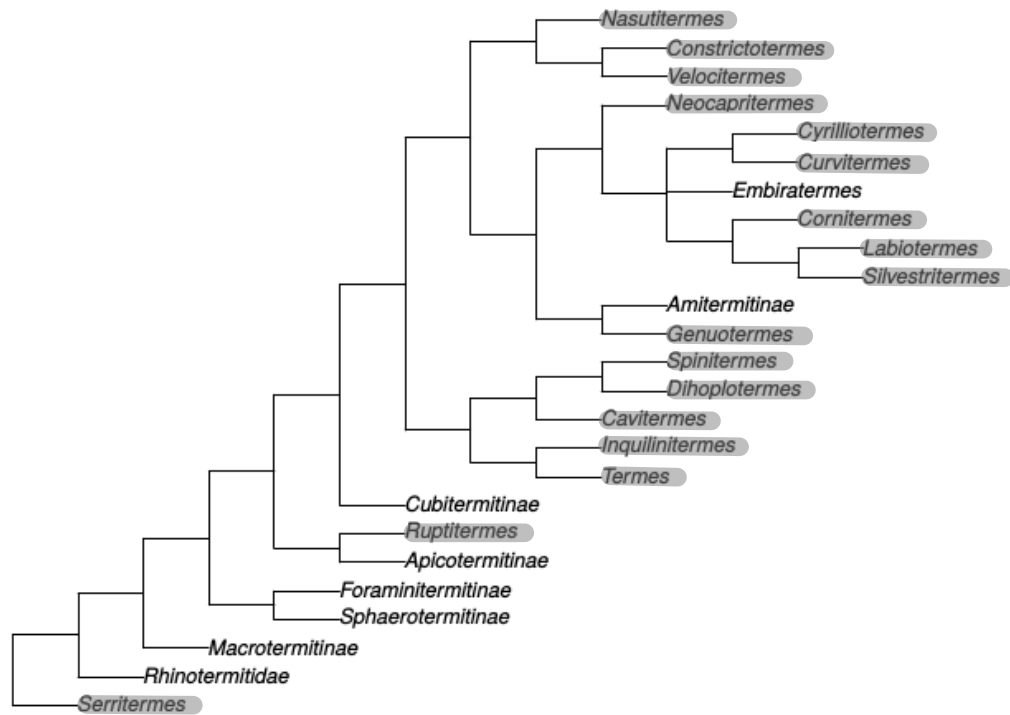


Figura 5.2: Filogenia dos gêneros utilizados neste trabalho (gêneros em cinza), baseada no cladograma proposto por Inward et al. (2007). Gêneros ausentes no cladograma original foram posicionados através de informações presentes em Krishna et al. (2013) e Rocha et al. (2012). Para o cálculo da distância filogenética assumiu-se o comprimento de cada ramo até o nó mais próximo como sendo 1.0.

5 Para análise dos contrastes utilizou-se o método de regressão de autovetores filogenéticos (PVR) (Diniz-Filho et al., 1998, 2012), que consiste em extrair autovetores de uma matriz de distância filogenética através de uma análise de coordenadas principais. Os coeficientes destes autovetores são as coordenadas das espécies que se referem a proximidade filogenética entre cada uma delas. Posteriormente, uma
 10 regressão múltipla particiona a variância total do caráter em dois componentes, segundo o seguinte modelo:

$$S_{ij} \sim X\beta + \epsilon \quad (5.2)$$

onde, X são os autovetores extraídos da matriz de distância; β é o coeficiente de regressão do vetor; ϵ são os resíduos da regressão. O primeiro componente ($X\beta$) do modelo representa o quanto da variação é explicada pela distância filogenética, e ϵ é a parte da variação que não é explicada pelos autovetores, ou seja, pela filogenia.

5 5.2.8.3 Seleção de Modelos

Uma vez que os componentes filogenéticos foram filtrados da sobrevivência, foram construídos modelos estatísticos globais, nos quais o efeito do encontro para uma dada espécie entrava como variável resposta (y-var) e os fatores bióticos e abióticos como variáveis explicativas (x-vars). Dois modelos distintos foram construídos, um
10 para inquilinos e outro para hospedeiros, obedecendo a seguinte estrutura:

$$\epsilon_i \sim facobr \times temp \times stress \quad (5.3)$$

onde ϵ é a sobrevivência de cada espécie de co-habitante i (inquilino ou hospedeiro) após retirado o efeito filogenético (conforme equação 5.2); *facobr* é uma variável categórica com dois níveis que classifica a espécie inquilina de cada par como facultativa ou obrigatória; *temp* é a temperatura anual média de cada localidade;
15 *stress* é a diferença entre a temperatura média interna e externa à caixa de isopor no momento do experimento. Apenas as interações estatísticas par a par de cada fator também foram incluídas nos modelos.

Posteriormente, utilizou-se Modelagem Linear Generalizada (GLM) com erros normais seguida de análise de resíduos para confirmar a escolha da distribuição
20 dos erros e a adequabilidade da equação (equação 5.3). Após o ajuste inicial, os modelos globais foram simplificados via ‘seleção de modelos’. As análises seguiram as recomendações de Burnham & Anderson (2002). O ajuste e a complexidade de cada modelo-candidato que se originou do modelo global foram medidos através do Critério de Informação de Akaike de segunda ordem corrigido para pequenas
25 amostras (AICc).

Esleveu-se como variáveis significantes aquelas dentre as incluídas nos modelos candidatos, cujo os valores de intervalo de confiança de 95% estimados para os coeficientes não incluíssem zero (Kiffner et al., 2013). Adicionalmente, a contribuição

de cada variável para a variância dos modelos candidatos, foi determinada através do método de partição hierárquica, conforme proposto por Murray & Conner (2009).

5.3 Resultados

Estimou-se o efeito do encontro para seis espécies de hospedeiros e 16 espécies
5 de inquilinos encontradas em quatro localidades abrangendo cerca de 5 graus de latitude e 15 graus de longitude. Algumas colônias de inquilinos tiveram apenas sua ocorrência registrada, uma vez que não possuíam indivíduos suficientes para serem utilizados nos experimentos (Tabela A.2, Apêndice).

O contato direto entre as espécies nas arenas apresentou a tendência geral em
10 reduzir a sobrevivência tanto de hospedeiros como de inquilinos. Esta redução na sobrevivência parece ter sido causada principalmente por comportamentos agonísticos estabelecidos logo que os indivíduos de espécies diferentes se encontravam nas arenas. Normalmente, o hospedeiro era mais ativo e agressivo que o inquilino, atacando-o tão logo que o anteparo de PVC era retirado. Em alguns casos, este ataque provocou
15 a morte da maioria dos operários de inquilinos no primeiro minuto do experimento.

A sobrevivência dos inquilinos foi melhor explicada pela especialização destes (*facobr*), ou seja, se eles eram obrigatórios ou facultativos. A sobrevivência dos hospedeiros, por outro lado, foi melhor explicada pela interação entre a temperatura média da localidade e o stress experimental (*temp : stress*). As outras variáveis
20 indicadas pelos modelos-candidatos ($\Delta AICc < 2$) não foram selecionadas uma vez que a amplitude do intervalo de confiança de seus valores estimados incluíram o zero (Tabela 5.1 e Figura 5.3).

Inquilinos obrigatórios sofreram uma menor redução na sobrevivência ao encontrar
seus hospedeiros, do que inquilinos facultativos (Fig. 5.4).

25 O aumento do stress experimental afetou a sobrevivência dos hospedeiros quando em contato com os inquilinos, porém esse efeito depende da temperatura da localidade de origem (Fig. 5.5). Sob alto stress, temperaturas mais baixas na localidade de origem tendem a reduzir os efeitos negativos do encontro heteroespecífico na so-

Tabela 5.1: Modelos considerados com maior evidência ($\Delta AICc < 2$) para explicar a variação no efeito do encontro sobre inquilinos e hospedeiros. Os modelos são derivados do modelo global conforme explicado no Material e Métodos. GL=graus de liberdade usados pelo modelo, AICc=critério de Akaike corrigido pelo tamanho da amostra, $\Delta AICc$ =diferença entre o AICc dos modelos selecionados, Peso=poder explicativo do modelo.

Modelo	GL	AICc	$\Delta AICc$	Peso
Efeito do encontro sobre os Inquilinos				
1 <i>facobr</i>	3	82.2	0.00	0.724
2 <i>facobr + temp</i>	4	84.1	1.92	0.276
Efeito do encontro sobre os Hospedeiros				
1 <i>facobr + stress + temp + temp : stress</i>	6	40.3	0.00	0.656
2 <i>stress + temp + temp : stress</i>	5	41.6	1.30	0.344

brevivência, enquanto temperaturas mais altas agravam a redução na sobrevivência devido ao encontro. Este quadro reverte quando os cupins estão sob baixo stress.

5.4 Discussão

Nossos resultados indicam que os ajustes evolutivos e as condições ambientais afetam de forma distinta a sobrevivência dos cupins quando expostos ao seu co-habitante. Os inquilinos são mais afetados pelos ajustes evolutivos, enquanto os hospedeiros são afetados pelas condições ambientais. O ajuste evolutivo entre os co-habitantes foi o fator mais importante para a sobrevivência dos inquilinos quando em contato com os hospedeiros, e inquilinos obrigatórios sofreram menores reduções na sobrevivência do que facultativos. Para os hospedeiros os fatores importantes foram os relacionados ao contexto ecológico, com a redução na sobrevivência afetada pelo stress experimental, mas essa redução depende da temperatura do local de origem.

Como o inquilinismo é mandatório para inquilinos obrigatórios, estratégias que favoreçam sua tolerância pelo hospedeiro seriam esperadas. Um indicativo desta tolerância pode ser observada quando comparamos os resultados do contato de cada inquilino com seus respectivos hospedeiros. Os inquilinos obrigatórios sofreram uma menor redução em sua sobrevivência do que os inquilinos facultativos (Fig. 5.4). Esta tolerância dos hospedeiros pode ser resultante de uma longa corrida armamentista com os inquilinos obrigatórios. Os inquilinos podem ter se tornado menos

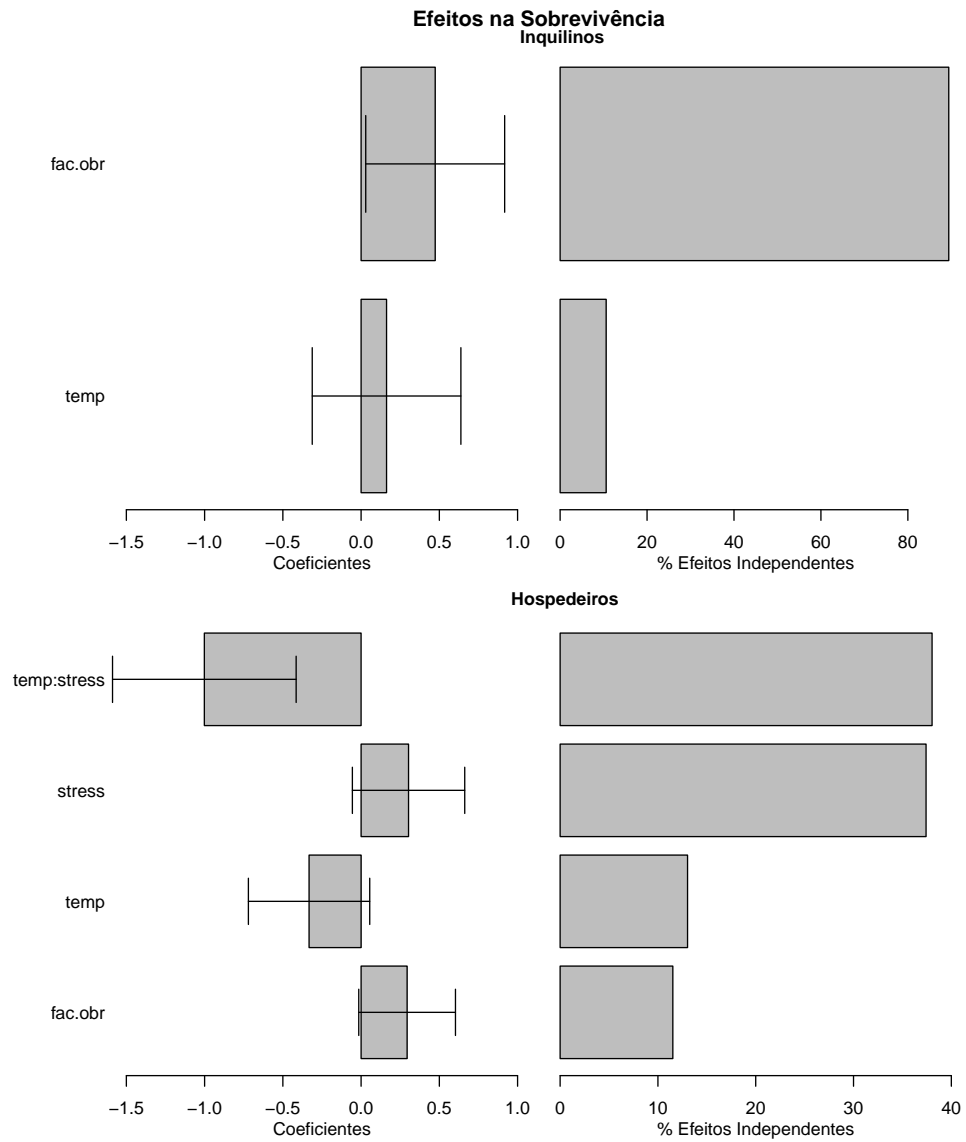


Figura 5.3: Intervalos de confiança de 95% e contribuição das variáveis selecionadas para os modelos-candidatos do efeito do encontro na sobrevivência de inquilinos (gráfico superior), e hospedeiros (gráfico inferior).

agressivos, ou menos facilmente detectados como intrusos, devido a ajustes com o hospedeiro.

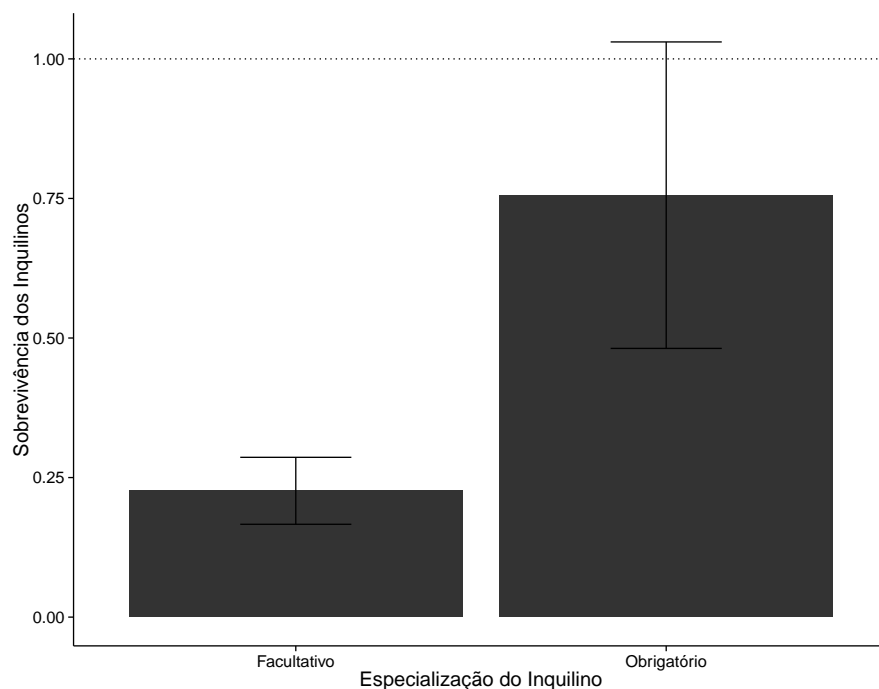


Figura 5.4: Sobrevivência de inquilinos facultativos e obrigatórios quando em contato com seus hospedeiros. Valores iguais a 1.0 significa que não houve redução na sobrevivência, valores menores do que 1.0 representam a proporção na qual a sobrevivência foi reduzida quando houve o encontro.

Casos similares de tolerância de hospedeiros podem ser observados em formigas vítimas de escravagistas. Formigas do gênero *Temnothorax*, por exemplo, tendem a apresentar maior tolerância a formigas não-parasitas do que a formigas parasitas (Delattre et al., 2012; Pamminger et al., 2011). Além disso, a hospedeira *Formica*
 5 *cunicularia* tolera mais frequentemente parasitas obrigatórios do que parasitas facultativos (Grasso et al., 1992). Em ambos os casos, a maior tolerância do hospedeiro está relacionada a menor agressividade dos invasores. Assim, a especialização dos inquilinos pode levar a uma menor agressividade, que resultaria, em última instância, em uma maior tolerância pelo hospedeiro.

10 Diferentemente dos inquilinos, a sobrevivência dos hospedeiros quando em contato com os inquilinos é mais afetada pelo contexto ecológico a que estão sujeitos. Cupins são organismos sensíveis a variações de temperatura (Smith & Rust, 1994), de forma que, uma menor temperatura do local de origem em associação com uma maior variação da temperatura no momento do experimento pode ser interpretada
 15 como uma condição de stress térmico, que no nosso caso resultou em uma menor

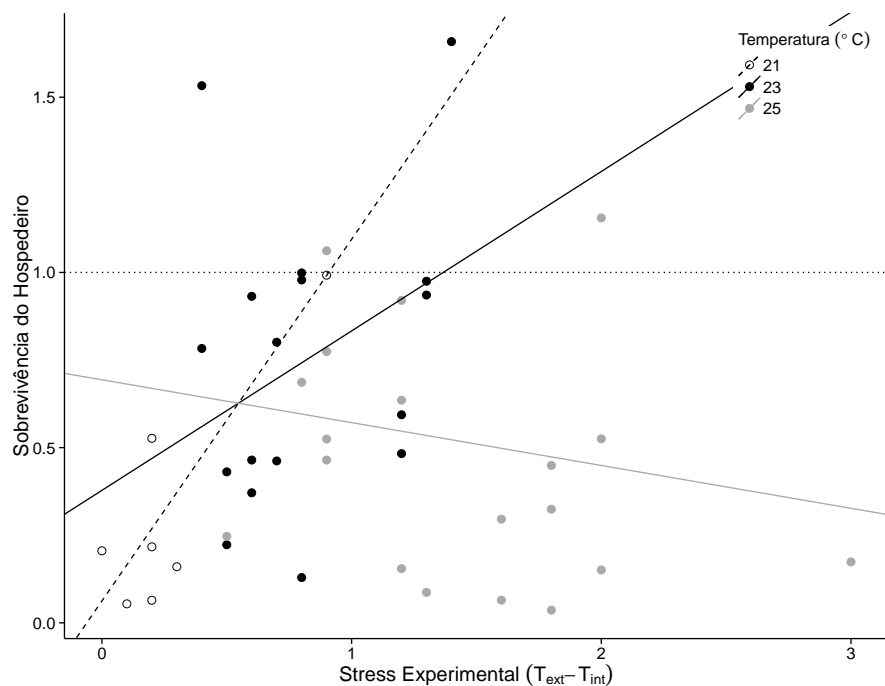


Figura 5.5: Sobrevivência do hospedeiro quando em contato com o inquilino em relação a diferença entre as temperaturas interna e externa no momento do experimento (stress experimental) e a temperatura do ambiente original. Valores iguais a 1.0 significa que não houve redução na sobrevivência, valores menores do que 1.0 representam a proporção na qual a sobrevivência foi reduzida quando houve o encontro.

redução da sobrevivência dos hospedeiros (Fig. 5.5). Uma possível explicação para tal resultado seria o efeito da temperatura na atividade dos cupins. Uma vez que são animais ectotérmicos, uma menor temperatura pode levar a uma menor atividade, esta menor atividade retardaria os encontros entre os co-habitantes. Uma vez que a sobrevivência está associada a agressões, encontros mais tardios levariam a maior tempo de sobrevivência.

As diferenças nos fatores que afetam a sobrevivência de cada co-habitante pode ser devida as diferentes estratégias de cada um em relação ao inquilinismo. Os inquilinos, principalmente os obrigatórios, são mais dependentes do sucesso do inquilinismo. Assim, é plausível que apostem em estratégias que favoreçam este sucesso, tornando-os menos susceptíveis a variações ambientais. Os hospedeiros, por outro lado, estão mais sujeitos aos efeitos do ambiente do que os inquilinos. Uma pequena variação da temperatura no momento do experimento (menos de 1°C) foi o suficiente para inverter os efeitos da temperatura do ambiente de origem na sobrevivência (Fig. 5.5). Esta relação do inquilinismo com ambiente pode ser constatada também em

uma escala mais global. O inquilinismo é mais frequente em ambientes talvez não tão favoráveis aos cupins (baixa umidade), como as savanas tropicais (Fig. 5.6). Assim, é possível que os inquilinos aproveitem tais situações de maior susceptibilidade dos

5 hospedeiros com maior sucesso.

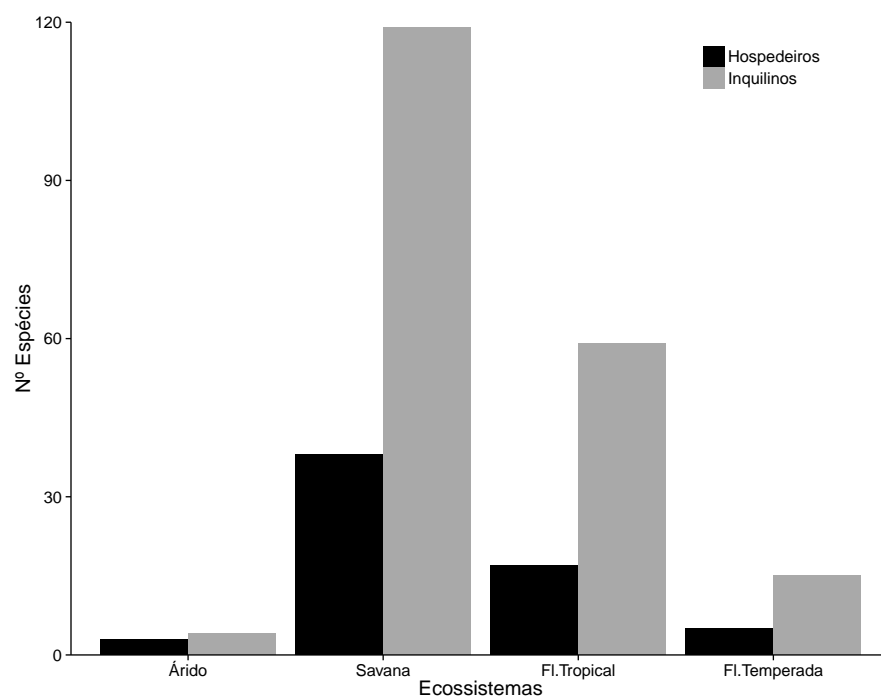


Figura 5.6: Número de espécies de inquilinos e hospedeiros em cada ecossistema. Os ecossistemas estão ordenados de acordo com a precipitação anual.

O efeito do ambiente na atenuação de interações negativas entre simbiosites e hospedeiros não é novidade (Jokela et al., 2005; Thrall et al., 2006; Travis et al., 2005). Entretanto, este é o primeiro indício deste padrão para o inquilinismo em cupins, ao menos no que diz respeito ao efeito sobre o encontro entre os co-habitantes. Apesar

10 de ser esperado que associações obrigatórias resultem em maiores ajustes evolutivos entre as espécies, o efeito da especialização de cupins inquilinos em relação a seus hospedeiros não havia sido testado. Os resultados encontrados neste trabalho reforçam a importância de evitar o encontro para o inquilinismo em cupins já levantada em outros trabalhos (Cristaldo et al., 2014; Florencio et al., 2013). Além disso, visto

15 que os fatores que afetam os custos do encontro entre co-abitantes são similares aos fatores que influenciam a frequência de inquilinismo ao longo dos diferentes biomas,

talvez o custo do inquilinismo possa ser estimado a partir dos custos do encontro entre hospedeiros e inquilinos.

Capítulo **6**

First record of facultative inquilines in
nests of *Constrictotermes*
cyphergaster (Silvestri, 1901)
5 (Blattodea: Isoptera)

Diogo Costa & Alessandra Marins & Og DeSouza

6.1 Introduction

Here we present the first confirmed record of facultative inquilines in arboreal nests of *Constrictotermes cyphergaster*, a termite host species widely reckoned as housing only obligate inquilines. The significance of this result would extend beyond simply demoting from such a rank a species whose subfamily (Nasutitermitinae) is also notorious for its paucity of cohabitants. We propose that this record can be useful to provide hints on the mechanisms likely to underlie termite inquilinism for this host in particular and, maybe, for termites in general.

Inquilinism in termites is defined as the interspecific termite-termite cohabitation in a single nest built by only one of these cohabitants. Since first described as *Eutermes cyphergaster* by Silvestri (1901), *C. cyphergaster* has been widely believed to provide an emblematic case of inquilinism. It was known to host only two inquiline species, *Inquilinitermes fur* and *Inquilinitermes microcerus*, never simultaneously (Mathews, 1977). Both of these inquilines are unable to invade other hosts' nests and are not known to build their own nest, denouncing strict guest dependence on the host or on its nest. Remarkably, along their whole biogeographic range, these host-inquiline pairs occur in the same localities of other hosts and other inquilines (Mathews, 1977; Florencio et al., 2013) without records of cross-invasions. These facts can be interpreted as an indication that either specific traits of *C. cyphergaster* impose severe restrictions to inquilinism or their nests are somewhat unsuitable to inquilines in general. It goes without saying that both hypotheses could be true.

Recent reports have started to suggest that whichever barriers, they are not absolute and can be overcome in *C. cyphergaster* nests. Obligate inquilines, for instance, are known to occur preferably in bigger, presumably older, arboreal nests (Cristaldo et al., 2012), evidencing weakened restrictions in such nests. Accordingly, other termite species previously found in epigeous nests, despite not undoubtedly characterized as true inquilines or simply accidental lodgers, offer hints on the absence of strict refractoriness of this host species (Florencio et al., 2013). A similar

reasoning seems applicable for an unidentified species of this same genus (Cuezzo, 2005).

Here we add evidence to the notion that barriers to inquilinism in *C. cyphergaster* are indeed surpassable, albeit in specific situations. We report on the finding of
 5 active colonies of *Embiratermes festivellus* (Syntermitinae), *Nasutitermes kemneri*,
Parvitermes bacchanalis, and *Subulitermes* sp. (Nasutitermitinae) in six arboreal
 nests built and simultaneously cohabited by an equally active colony of *C. cypher-*
gaster (Table 6.1). We provide evidence that this was unlikely to have happened
 fortuitously. Instead it seems likely that inquilines had to deal with both types of
 10 restrictions: those requiring an adjustment between host and guest species and those
 associated to the features of the physical nest itself.

6.2 Material and Methods

6.2.1 Terms definition and general rationale

We use the term ‘nest’ to denote the physical structure built by termites (Cris-
 15 taldo et al., 2012; Florencio et al., 2013; Cristaldo et al., 2014). ‘Colony’ denotes the
 assemblage of termite individuals living and cooperating within the nest. ‘Cohabita-
 tion’ and ‘inquilinism’ are used as synonyms and refer to the simultaneous occurrence
 of colonies of different termite species within a given nest, without implication of re-
 ciprocal positive or negative influences. ‘Host’ refer to the termite species primarily
 20 responsible for building the nest in which both, host and ‘guest’ (*i.e.*, the inquiline)
 cohabit.

We inspected likely connections between the settlement of inquilines and even-
 tual barriers imposed by the host species itself or by the current status of their nests.
 Traits linked to the host itself have been inferred from the general biology of Nasu-
 25 titermitinae, with an emphasis on their defence strategies. Restrictions imposed by
 nest status have been inspected correlating the appearance of the external nest wall
 with the presence of inquilines in such nests. To do so, nests have been categorized
 as “typical” or “atypical”, according to the its external colour and the occurrence of

mosses or erosion; typical nest walls being those void of these two elements (Fig. 6.1. Correlations have been inspected separately for obligate and facultative inquilines.

6.2.2 Focal species

Constrictotermes cyphergaster is a common termite species in Brazil, Paraguay,
 5 Bolivia, and Northern Argentina (Mathews, 1977), foraging at night in exposed
 columns and feeding mainly on wood, bark of live trees (Moura et al., 2006), and
 lichens (Bourguignon et al., 2011). Nests are typically arboreal, but very young
 ones may be epigeous (Vasconcellos et al., 2007). Active nests can harbour many
 invertebrates, including one of two obligate inquilines, i.e., *I. microcerus* and *I. fur*,
 10 and a large number of termitophiles, such as Staphylinidae beetles, Geometridae
 caterpillars (Lepidoptera) and *Crematogaster* ants (Cunha & Brandão, 2000). The
 settlement of such invaders seems to be constrained by nest traits, like age or size
 (Cristaldo et al., 2012).

6.2.3 Study area

15 The study was carried out in the Brazilian *Cerrado*, an environment physiog-
 nomically but not floristically similar to a savannas, near the town of Diamantino
 (14°24'32"S, 56°26'45"W, 249–251 m above sea level), Mato Grosso State, Central
 West Brazil. According to Köppen's classification, the study area is subjected to
 Aw climate (equatorial with dry winter) (Kottek et al., 2006).

20 6.2.4 Data collection

Ten arboreal nests built by *C. cyphergaster* were sampled in March 2014, where
 there were also epigeous termite nests built by *Cornitermes bequaerti* and *Corniter-*
mes silvestrii. All nest have been georeferenced. Nest volumes were calculated based
 on the Cavalieri principle, by summing up the volumes of several superimposed cy-
 25 lindrical cross sections into which the nest was visually sliced, and the volumes of the
 hemispherical caps at both ends of the nest, as described and sketched by Cristaldo
 et al. (2012). These volumes are provided to allow comparability to other work and
 data. Nests have been taken from the field and brought to the lab, where they were
 broken into pieces to manually collect host and inquiline individuals with a help of a

soft forceps. Sampled individuals were identified to species level, following Mathews (1977) and Constantino (2002). Identifications were confirmed by comparison with the collection of the Isoptera Section of the Entomological Museum of the Federal University of Viçosa (MEUV), where voucher specimens were deposited.

5 A bibliographic review was conducted to evaluate the occurrence of host species in the Nasutitermitinae as compared to other subfamilies of Termitidae. We searched ISI Web of Science (<http://www.webofknowledge.com>), Scopus (<http://www.scopus.com>) and Scielo (<http://www.scielo.org>) for papers using terms “cohabitation”, “coexistence” and “inquilinism” in the period from 1945 to 2014. A
10 similar search was conducted in the following six books whose primary focus is termitology: Krishna & Weesner (1969, 1970); Mathews (1977); Grassé (1984); Abe et al. (2000); Bignell et al. (2011). We included only records explicitly saying that both inquiline and host colonies were active and cohabited simultaneously.

6.2.5 Analyses

15 We used a Generalized Linear Modelling (GLM) to inspect the relationship between the status of the external nest wall (x-var1) and the variables describing inquilinism. Two independent analyses have been carried out, one under Poisson errors, with the number of cohabiting facultative inquiline species as the y-var and the other under Binomial errors, with the presence/absence of cohabiting obligate
20 inquilines as y-var. The explanatory variable (nest wall status) was categorized as ‘typical’ and ‘atypical’, as described above. Analyses also included the volume of the nest as a covariate (x-var2), because this is known to affect the propensity for inquilinism in this host (Cristaldo et al., 2012). Modelling consisted in fitting, independently, each y-var by both x-vars. Subsequent residual analyses checked for
25 overdispersion and confirmed model suitability and the choice of error distribution. Analyses have been carried out in R (R Development Core Team, 2015).

6.3 Results

The sampled nests were scattered over circa about 2.2 ha. In all them, the host species (*C. cyphergaster*) was present as an active and healthy colony. A colony of the obligate inquiline *Inquilinitermes fur* was also present in eight out of the ten nests. Facultative inquilines have been found in six of these nests (Table 6.1). All four facultative inquiline species here reported (*E. festivellus*, *N. kemneri*, *P. bacchanalis* and *Subulitermes* sp.) have been already recorded as inquilines in other termite hosts (Domingos, 1983; Redford, 1984; Costa et al., 2009; Cunha & Morais, 2010). They were also found in nests built by *Cornitermes silvestrii* in this same locality.

The number of facultative inquiline species cohabiting a given nest was affected by its external nest wall status, but it was not affected by the nest volume nor the interaction between nest wall status and nest volume. Nests whose walls were eroded, dark, and covered by mosses, held more facultative inquiline species than nests possessing typical walls (intact, light-coloured, and free of mosses). The presence of obligate inquilines was not affected by any of the above factors. Such results are summarized in (Table 6.2).

6.4 Discussion

It seems likely that the events here reported were not fortuitous, at least for *N. kemneri*, which were found in four nests of *C. cyphergaster*, and maybe for *P. bacchanalis*, found in two nests. The same might be said for the other two species (*Embiratermes festivellus* and *Subulitermes* sp.) which, despite occurring only once, presented very active colonies. Moreover, since all four invading species are typically soil-dwellers (Mathews, 1977) and giving that all host nests were arboreous, their occurrence as active colonies in such nests seems not entirely due to chance.

The occurrence of these termites in nests of hosts other than *C. cyphergaster* in this region and elsewhere confirms their status as inquilines and qualify them as “facultative”, as opposed to “obligate”. Facultative inquilines are those which are able to cohabit with a variety of termite hosts (Redford, 1984), whereas obligate

inquilines have a host range restricted to a single species or genus (Noirot, 1970; Shellman-Reeve, 1997).

This unexpected addition of four species to the list of cohabitants of *C. cyphergaster* opposes previous assumptions regarding restrictions of this host to inquilinism while denouncing that such barriers are not absolute and can be overcome. The idea that some barriers are indeed in place can be drawn from the paucity of inquiline species not only in *C. cyphergaster* but also in other Nasutitermitinae. Even though ubiquitous and abundant, especially in the Neotropics (Krishna et al., 2013; Constantino, 2015), termites from this subfamily seldom host inquilines (Figure 6.2). Among possible reasons for such, two non-exclusive sets of restrictions seem likely: (i) restrictive strategies used by the host itself and (ii) unsuitable traits present in the nest material and structure.

As for restrictive strategies, their chemical defences coupled with their aggressive behaviour seem to play a distinguished role. Chemical defensive compounds possessed by Nasutitermitinae soldiers are known to be not only repellent or toxic to insects (Prestwich, 1979, 1984) but also unpalatable to their mammal predators (Coles, 1980; Redford, 1985; Cunha et al., 2015). In addition, their workers are aggressive, adding to the defensive power of soldiers, especially against other termites (Eisner et al., 1976; Thorne, 1982; Thorne & Haverty, 1991). Surpassing such barriers should be easier for species sharing similar traits with their host. For instance, species producing similar chemicals should be physiologically adapted to deal with them and, hence, be able to succeed in invading. This seems to be the case with three (*N. kemneri*, *P. bacchanalis* and *Subulitermes* sp.) out of the four inquilines here reported: similarly to their host, they all present defensive chemicals from the same group (mono and diterpenes) (Prestwich & Collins, 1981; Prestwich, 1984; Sobotnik et al., 2010). By the same token and more generally, phylogenetic proximity should imply in trait similarity and hence favour cohabitation, in analogy to Emery's rule in Hymenoptera (Le Masne, 1956). Accordingly, these latter three inquilines belong to the same subfamily as their host (Nasutitermitinae). One could then conceivably think that these inquilines, being similar to their host, could detect subtle changes in their host defences, profiting from these subtleties for invasion

Recent evidence also points to nest suitability as one determinant of inquilinism: within the same host species, inquilines prefer some nest to others in the same environment (Cristaldo et al., 2012) and a higher load of inquilines can be found in one environment as compared to another (Bandeira & Macambira, 1988). That is to
5 say, nest suitability to inquilines seems to vary according to the context, rather than being an immutable trait. A similar pattern was detected here. Nests did vary in their general appearance, with some nests atypically presenting dark walls partially covered by mosses, and others eroded (Table 6.1, Figure 6.1). These atypical nests held higher richness of facultative inquilines ($P = 0.04$) than those presenting more
10 typical external walls (that is, intact light-coloured walls free of mosses). Because host colonies were populous and active in all nests, including atypical ones, it seems that factors favouring facultative inquilines were associated to the nest wall's status, or something correlated to it, rather than to the host colony itself. It also seems valid to deduce that these factors were not severe enough to impact the host colony's
15 general health. In addition, the presence of obligate inquilines was not affected by nest general appearance ($P = 0.88$), which implies that invasion by facultative and obligate inquilines in these nests would be restricted by distinct barriers. This is not surprising because obligate inquilines, having been likely shaped by evolutionary
20 army races with their hosts (Kilner & Langmore, 2011), would be better prepared than facultative ones to face changes in ecological barriers to inquilinism.

Clearly, all these hypotheses require further testing, and we present them to highlight research pathways that might lead to a better understanding of the phenomenon of cohabitation in nests of *C. cyphergaster* and maybe in termite nests in general. These hypotheses appear to follow naturally from the study reported here
25 because our focal inquilines did not occupy these host nests at random. Instead, nest invasion was apparently dependent on functional similarities between host and inquilines as well as the ecological context under which these nests become suitable for cohabitation.



Figura 6.1: Nests of *Constrictotermes cyphergaster* sampled in Diamantino, Mato Grosso, Brazil. (a) Typical nest: intact, light-coloured, and free of mosses (b) Atypical nest: dark, eroded and covered by mosses.

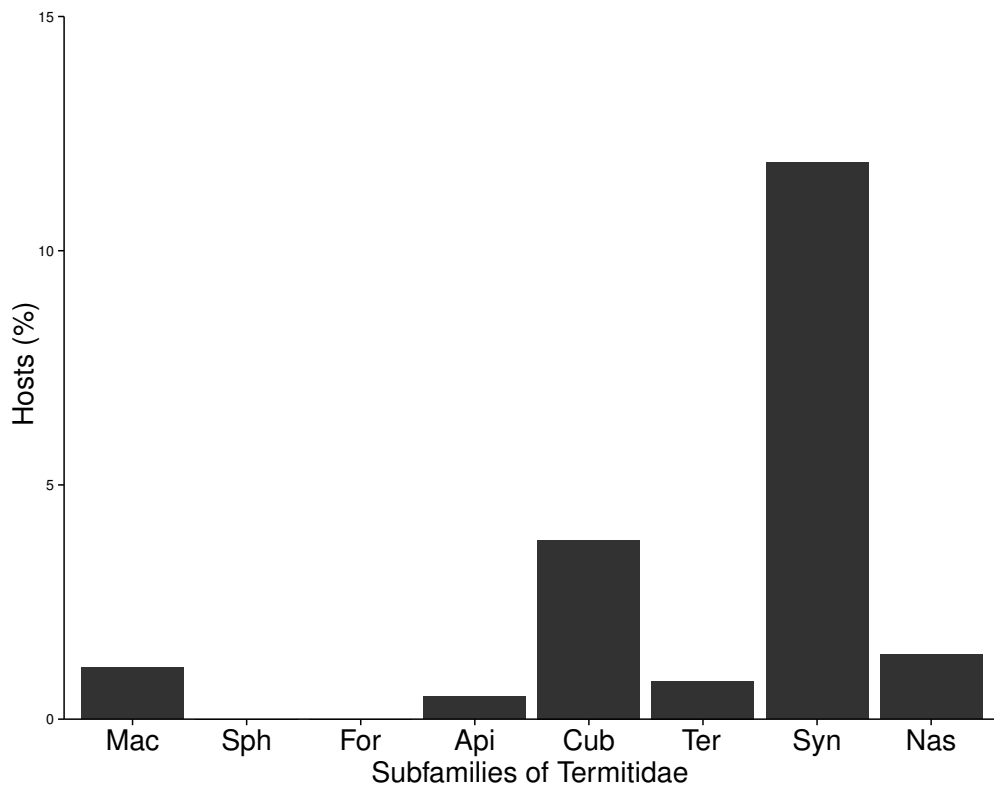


Figura 6.2: Proportional number of termite species recorded as a host, relative to total number of species, in each subfamily of Blattodea: Isoptera: Termitidae. Mac: Macrotermitinae; Sph: Sphaerotermiteinae; For: Foraminitermitinae; Api: Apicotermiteinae; Cub: Cubitermitinae; Ter: Termitinae; Syn: Syntermiteinae; Nas: Nasutitermitinae.

Tabela 6.1: Inquiline termite species recorded in nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Blattodea: Isoptera) sampled in Diamantino, Mato Grosso, Brazil, in March 2014. Each line refers to a single host nest, with respective field code (Nest ID), record of the presence of inquiline species, the nest volume (in litres), the status of the external nests wall ("typical" or "atypical"), and nest location (latitude × longitude). Typical nest walls are light-coloured, intact, and free of mosses. Atypical nest walls are dark-coloured, eroded, covered by mosses, or any combination of these (see Fig. 6.1). All host and inquiline colonies inhabiting these nests were active and healthy. Nest DM12 held no inquilines. *Inquilinitermes fur* are obligate inquilines, all the others are facultative.

Nest ID	Inquilines					Volume (L)	Wall Status	Location
	<i>I. fur</i>	<i>N. kemneri</i>	<i>P. bacchanalis</i>	<i>Subulitermes sp.</i>	<i>E. festivellus</i>			
DM02		x	x			20.68	dark, covered by mosses	14°28'22"S 56°29'50"W
DM03	x		x			21.88	light-coloured, without mosses	14°28'21"S 56°29'49"W
DM06	x					12.22	light-coloured, without mosses	14°28'22"S 56°29'49"W
DM08	x					34.96	light-coloured, without mosses	14°28'19"S 56°29'45"W
DM10	x				x	31.52	light-coloured, without mosses	14°28'21"S 56°29'52"W
DM11	x	x		x		18.66	dark, eroded, covered by mosses	14°28'22"S 56°29'46"W
DM12						25.92	eroded	14°28'19"S 56°29'46"W
DM13	x					20.30	light-coloured, without mosses	14°28'21"S 56°29'46"W
DM14	x	x				11.63	dark, eroded, covered by mosses	14°28'21"S 56°29'50"W
DM15	x	x				26.58	dark, covered by mosses	14°28'19"S 56°29'47"W

Tabela 6.2: Effect of external nest wall status and nest volume on inquilinism by (a) facultative and (b) obligate termite inquilines in *Constrictotermes cyphergaster*. Nest wall *status* refers to typical (intact light-coloured walls free of mosses) or atypical (eroded dark walls covered by mosses) host nests walls.

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	Pr(> χ^2)
a) Number of facultative inquiline species					
null model			9	9.1155	
status	1	4.0414	8	5.0740	0.0444
volume	1	0.0900	7	4.9840	0.4689
status:volume	1	0.0945	6	4.8896	0.9743
b) Presence of obligate termite inquiline species					
null model			9	10.0080	
status	1	0.1026	8	9.9054	0.7487
volume	1	0.1126	7	9.7928	0.7372
status:volume	1	0.0127	6	9.7801	0.9101

Referências Bibliográficas

- ABDULLAH, M. Behavioural effects of temperature on insects. **Ohio Journal of Science**, v.61, p.212–219, 1961.
- ABE, T.; BIGNELL, D.; HIGASHI, M. **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. Kluwer Academic Publishers, 2000. 466p.
- ADAMS, R.; LIBERTI, J.; ILLUM, A.; JONES, T.; NASH, D.; BOOMSMA, J. Chemically armed mercenary ants protect fungus-farming societies. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.110, p.15752–15757, 2013.
- ARAUJO, R. Termites of the Neotropical Region. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 2v., 1970.
- ARAUJO, R. Further notes on the bionomics os *Serritermes* (Isoptera). **Revista Brasileira de Entomologia**, v.21, p.31–32, 1977.
- BAGNERES, A.-G.; HANUS, R. Communication and Social Regulation in Termites. In: AQUILONI, L.; TRICARICO, E., (Ed.), **Social Recognition in Invertebrates**, Springer, 11, 2015.
- BANDEIRA, A. Análise da termitofauna (Insecta: Isoptera) de uma floresta primária e de uma pastagem na Amazônia Oriental, Brasil. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.5, p.225–242, 1989.
- BANDEIRA, A.; MACAMBIRA, M. Térmitas de Carajás, Estado do Pará, Brasil: composição faunística, distribuição e hábito alimentar. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi**, v.4, p.175–190, 1988.
- BARRETT, L.; KNISKERN, J.; BODENHAUSEN, N.; ZHANG, W.; BERGELSON, J. Continua of specificity and virulence in plant host–pathogen interactions: Causes and consequences. **New Phytologist**, v.183, p.513–529, 2009.
- BARTOŃ, K. **MuMIn: Multi-model inference**, 2014. R package version 1.10.5.
- BECKER, G. Rearing of termites and testing methods used in the laboratory. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 1v., 1969.
- BEQUAERT, J. Notes biologiques sur quelques fourmis et termites du Congo Belge. **Revue Zoologique Africaine**, v.2, p.396–431, 1913.

- BIGNELL, D.; ROISIN, Y.; LO, N. **Biology of Termites: a modern synthesis**. Springer, 2011. 576p.
- BILLEN, J.; MORGAN, E. Pheromone Communication in Social Insects: Sources and Secretions. In: VANDER MEER, R.; BREED, M.; ESPELIE, K.; WINSTON, M., (Ed.), **Pheromone Communication in Social Insects**, Westview Press., 1, 1998.
- BOGUSCH, P.; KRATOCHVÍL, L.; STRAKA, J. Generalist cuckoo bees (Hymenoptera: Apoidea: Sphecodes) are species-specialist at the individual level. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.60, p.422–429, 2006.
- BORDEREAU, C.; PASTEELS, J. Pheromones and chemical ecology of dispersal and foraging in termites. In: BIGNELL, D.; ROISIN, Y.; LO, N., (Ed.), **Biology of Termites: A modern synthesis**, Springer, 11. 2. ed., 2011.
- BOUILLON, A. Termites of the Ethiopian Region. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 2v., 1970.
- BOURGUIGNON, T.; SOBOTNÍK, J.; LEPOINT, G.; MARTIN, J.-M.; HARDY, O.; DEJEAN, A.; ROISIN, Y. Feeding ecology and phylogenetic structure of a complex neotropical termite assemblage, revealed by nitrogen stable isotope ratios. **Ecological Entomology**, v.36, p.261–269, 2011.
- BRISTOW, K.; HOLT, J. Can termites create local energy sinks to regulate mound temperature? **Journal of Thermal Biology**, v.12, p.19–21, 1987.
- BRONSTEIN, J. Conditional outcomes in mutualistic interactions. **Trends in Ecology & Evolution**, v.9, p.214–217, 1994.
- BRONSTEIN, J. The Costs of Mutualism. **American Zoologist**, v.41, p.825–839, 2001a.
- BRONSTEIN, J. The exploitation of mutualisms. **Ecology Letters**, v.4, p.277–287, 2001b.
- BRUNER, G.; WCISLO, W.; FERNÁNDEZ-MARÍN, H. Prudent inquilines and proactive hosts: Behavioral dynamics between an ant social parasite, *Megalomyrmex symmetochus* and its fungus-growing ant host, *Sericomyrmex amabilis*. **Insectes Sociaux**, v.61, p.83–88, 2014.
- BRUNO, J.; STACHOWICZ, J.; BERTNESS, M. Inclusion of facilitation into ecological theory. **Trends in Ecology & Evolution**, v.18, p.119–125, 2003.
- BURNHAM, K.; ANDERSON, D. **Model selection and multimodel inference: A practical information-theoretic approach**. 2. ed. Springer, 2002. 488p.

- CALABY, H. The distribution and biology of the genus *Ahamitermes* (Isoptera). **Australian Journal of Zoology**, v.4, p.111–124, 1956.
- CALLAWAY, R. **Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities**. Springer, 2007. 415p.
- CALLAWAY, R.; BROOKER, R.; CHOLER, P.; KIKVIDZE, Z.; LORTIE, C.; MICHALET, R.; PAOLINI, L.; PUGNAIRE, F.; NEWINGHAM, B.; ASCHEHOUG, E.; ARMAS, C.; KIKODZE, D.; COOK, B. Positive interactions among alpine plants increase with stress. **Nature**, v.417, p.844–848, 2002.
- CANCELLO, E. Two different mounds of *Cornitermes bequaerti* (Termitidae, Nasutitermitinae): An example of the plasticity in termite nest architecture in the Neotropics. **Revista Brasileira de Entomologia**, v.35, p.603–606, 1991.
- CARVALHO, S.; CONSTANTINO, R. Taxonomic revision of the Neotropical termite genus *Curvitermes* Holmgren (Isoptera: Termitidae: Syntermitinae). **Sociobiology**, v.57, p.643–657, 2011.
- COATON, W. Five new termite genera from South West Africa (Isoptera: Termitidae). **Cimbebasia**, v.2, p.1–34, 1971.
- COLES, H. Defensive strategies in the ecology of Neotropical termites, 1980. Tese (Doutorado) - University of Southampton.
- COLES DENEGRET, H.; REDFORD, K. The biology of nine termite species (Isoptera: Termitidae) from the Cerrado of Central Brazil. **Psyche**, v.89, p.81–106, 1982.
- COLLINS, M. Water Relations in Termites. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 1v., 14, 1969.
- CONSTANTINO, R. An illustrated key to Neotropical termite genera (Insecta: Isoptera) based primarily on soldiers. **Zootaxa**, v.67, p.1–40, 2002.
- CONSTANTINO, R. **Cupins do Cerrado**. Technical Books, 2015. 167p.
- CONSTANTINO, R.; ACIOLI, A.; SCHMIDT, K.; CUEZZO, C.; CARVALHO, S.; VASCONCELLOS, A. A taxonomic revision of the Neotropical termite genera *Labiotermes* Holmgren and *Paracornitermes* Emerson (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae). **Zootaxa**, v.1340, p.1–44, 2006.

- CONSTANTINO, R.; CARVALHO, S. A taxonomic revision of the Neotropical termite genus *Cyrtillitermes* Fontes (Isoptera, Termitidae, Syntermitinae). **Zootaxa**, v.3186, p.25–41, 2012.
- CONSTANTINO, R.; COSTA-LEONARDO, A. A New Species of *Constrictotermes* from Central Brazil with Notes on the Mandibular Glands of Workers (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae). **Sociobiology**, v.30, p.213–223, 1997.
- COSTA, D.; CARVALHO, R.; LIMA FILHO, G.; BRANDÃO, D. Inquilines and Invertebrate Fauna Associated With Termite Nests of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) in the Emas National Park, Mineiros, Goiás, Brazil. **Sociobiology**, v.53, p.443–453, 2009.
- COSTA-LEONARDO, A.; CASARIN, F.; LIMA, J. Chemical Communication in Isoptera. **Neotropical Entomology**, v.38, p.1–6, 2009.
- CRISTALDO, P. Nest-sharing among a termite host and its obligatory inquiline, 2014. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
- CRISTALDO, P.; DESOUSA, O.; KRASULOVA, J.; JIROSOVA, A.; KUTALOVA, K.; LIMA, E.; SOBOTNIK, J.; SILLAM-DUSSES, D. Mutual Use of Trail-Following Chemical Cues by a Termite Host and Its Inquiline. **PLoS ONE**, v.9, p.1–9, 2014.
- CRISTALDO, P.; ROSA, C.; FLORENCIO, D.; MARINS, A.; DESOUSA, O. Termitarium volume as a determinant of invasion by obligatory termitophiles and inquilines in the nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). **Insectes Sociaux**, v.59, p.541–548, 2012.
- CROSLAND, M.; SU, N.-Y.; SCHEFFRAHN, R. Aroliia in termites (Isoptera): Functional significance and evolutionary loss. **Insectes Sociaux**, v.52, p.63–66, 2005.
- CUEZZO, C. Citas nuevas de Isoptera para el Chaco semiárido argentino. **Revista de la Sociedad Entomológica Argentina**, v.64, p.106–108, 2005.
- CUNHA, H.; BRANDÃO, D. Invertebrates associated with the Neotropical termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae). **Sociobiology**, v.37, p.593–599, 2000.
- CUNHA, H.; CARRIJO, T.; PRESTES, A.; ARRUDA, L.; REZENDE, P.; SANTOS, T.; BRANDÃO, D. Food preference of Giant anteater and Collared anteater (Pilosa, Myrmecophagidae) regarding the termite defense strategies. **Bioscience Journal**, v.31, p.234–241, 2015.

- CUNHA, H.; COSTA, D.; ESPIRITO-SANTO FILHO, K.; SILVA, L.; BRANDÃO, D. Relationship between *Constrictotermes cyphergaster* and Inquiline Termites in the Cerrado (Isoptera: Termitidae). **Sociobiology**, v.42, p.761–770, 2003.
- CUNHA, H.; MORAIS, P. Relação espécie-área em cupinzeiros de pastagem, Goiânia-GO, Brasil. **EntomoBrasilis**, v.3, p.60–63, 2010.
- DARLINGTON, J. Termites (Isoptera) as secondary occupants in mounds of *Macrotermes michaelseni* (Sjostedt) in Kenya. **Insectes Sociaux**, v.59, p.159–165, 2012.
- DELATTRE, O.; BLATRIX, R.; CHÂLINE, N.; CHAMERON, S.; FÉDOU, A.; LEROY, C.; JAISSON, P. Do host species evolve a specific response to slave-making ants? **Frontiers in Zoology**, v.9, p.38–47, 2012.
- DESOUZA, O.; CRISTALDO, P.; FLORENCIO, D.; ROSA, C. S.; MARINS, A.; COSTA, D.; RODRIGUES, V. Allometric scaling of defence rate and nest volume in *Constrictotermes cyphergaster* termites (Termitidae, Nasutitermitinae), in prep. **Insectes Sociaux**.
- DESOUZA, O.; MIRAMONTES, O. Non-Asymptotic Trends in the Social Facilitated Survival of Termites (Isoptera). **Sociobiology**, v.44, p.1–11, 2004.
- DESOUZA, O.; MIRAMONTES, O.; SANTOS, C.; BERNARDO, D. Social facilitation affecting tolerance to poisoning in termites (Insecta, Isoptera). **Insectes Sociaux**, v.48, p.21–24, 2001.
- DINIZ-FILHO, J.; SANT'ANA, C.; BINI, L. An eigenvector method for estimating phylogenetic inertia. **Evolution**, v.52, p.1247–1262, 1998.
- DINIZ-FILHO, J.; SANTOS, T.; RANGEL, T.; BINI, L. A comparison of metrics for estimating phylogenetic signal under alternative evolutionary models. **Genetics and Molecular Biology**, v.35, p.673–679, 2012.
- DOMINGOS, D. O Ninho de *Armitermes euamignathus* (Isoptera, Termitidae): características gerais, crescimento e associações. **Ciência & Cultura**, v.35, p.783–789, 1983.
- DRONNET, S.; SIMON, X.; VERHAEGHE, J.-C.; RASMONT, P.; ERRARD, C. Bumblebee inquilinism in *Bombus (Fernaldaepsythirus) sylvestris* (Hymenoptera, Apidae): behavioural and chemical analyses of host-parasite interactions. **Apidologie**, v.36, p.59–70, 2005.
- EGGLETON, P.; BIGNELL, D. Secondary occupation of epigeal termite (Isoptera) mounds by other termites in the Mbalmayo Forest Reserve, southern Cameroon, and its biological significance. **Journal of African Zoology**, v.111, p.489–498, 1997.

- EISNER, T.; KRISTON, I.; ANESHANSLEY, D. Defensive behavior of a termite (*Nasutitermes exitiosus*). **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v.1, p.83–125, 1976.
- EITEN, G. Vegetação do Cerrado. In: PINTO, M., (Ed.), **Cerrado: Caracterização, ocupação e perspectivas**, SEMATEC/UnB, 1994.
- EMERSON, A. Termite Nests – A Study of the Phylogeny of Behavior. **Ecological Monographs**, v.8, p.247–284, 1938.
- EMERSON, A. The Neotropical genera *Procornitermes* and *Cornitermes* (Isoptera, Termitidae). **Bulletin of The American Museum of Natural History**, v.99, p.479–539, 1952.
- EMERSON, A.; KRISHNA, K. The termite Family Serritermitidae (Isoptera). **American Museum Novitates**, v.2570, p.1–31, 1975.
- ERRARD, C.; RUANO, F.; RICHARD, F.-J.; LENOIR, A.; TINAUT, A.; HEFETZ, A. Co-evolution-driven cuticular hydrocarbon variation between the slave-making ant *Rosomyrmex minuchae* and its host *Proformica longiseta* (Hymenoptera: Formicidae). **Chemoecology**, v.16, p.235–240, 2006.
- FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the comparative method. **The American Naturalist**, v.125, p.1–15, 1985.
- FIELD, M.; DUNCAN, F. Does thermoregulation occur in the mounds of the harvester termite, *Trinervitermes trinervoides* (Sjöstedt) (Isoptera: Termitidae)? **African Entomology**, v.21, p.45–57, 2013.
- FLORENCIO, D.; MARINS, A.; ROSA, C.; CRISTALDO, P.; ARAUJO, A.; SILVA, I.; DE-SOUZA, O. Diet Segregation between Cohabiting Builder and Inquiline Termite Species. **PLoS ONE**, v.8, p.1–9, 2013.
- GALETTI, M. Seed dispersal of mimetic fruits: parasitism, mutualism, aposematism or exaptation? In: LEVEY, J.; SILVA, W.; GALETTI, M., (Ed.), **Seed dispersal and frugivory: ecology, evolution and conservation**, CABI Publishing, 12, 2002.
- GARCIA, M.; BECKER, G. Influence of temperature on the development of incipient colonies of *Nasutitermes nigriceps* (Haldemann). **Zeitschrift fur Angewandte Entomologie**, v.79, p.291–300, 1975.
- GATHORNE-HARDY, F.; SYAUKANI; EGGLETON, P. The effects of altitude and rainfall on the composition of the termites (Isoptera) of the Leuser ecosystem (Sumatra, Indonesia). **Journal of Tropical Ecology**, v.17, p.379–393, 2001.

- GILBERT, J.; MOUND, L.; SIMPSON, S. Biology of a new species of socially parasitic thrips (Thysanoptera: Phlaeothripidae) inside *Dunatothrips* nests, with evolutionary implications for inquilinism in thrips. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.107, p.112–122, 2012.
- GRASSO, D.; MORI, A.; LE MOLI, F. Analysis of the aggression between slave and slave-making (facultative and obligatory) ant species (Hymenoptera Formicidae). **Ethology Ecology and Evolution**, v.4, p.81–84, 1992.
- GRASSÉ, P. Sur le nid et la biologie de *Cornitermes cumulans* (Kollar), termites brésilien. **Insectes Sociaux**, v.2, p.189–204, 1968.
- GRASSÉ, P.-P. **Termitologia**. Masson S.A., 1984. 613p. Tome II.
- GRUTTER, A. Cleaner fish really do clean. **Nature**, v.398, p.672–673, 1999.
- HARAGUCHI, Y.; SASAKI, A. Host–Parasite Arms Race in Mutation Modifications: Indefinite Escalation Despite a Heavy Load? **Journal of Theoretical Biology**, v.183, p.121–137, 1996.
- HART, S.; MARSHALL, D. Environmental stress, facilitation, competition, and coexistence. **Ecology**, v.94, p.2719–2731, 2013.
- HEIL, M.; MCKEY, D. Protective ant–plant interactions as model systems in ecological and evolutionary research. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v.34, p.425–453, 2003.
- HENRY, L.; ROITBERG, B.; GILLESPIE, D. Host-range evolution in *Aphidius* parasitoids: Fidelity, virulence and fitness trade-offs on an ancestral host. **Evolution**, v.62, p.689–699, 2008.
- HINES, H.; CAMERON, S. The phylogenetic position of the bumble bee inquiline *Bombus inexpectatus* and implications for the evolution of social parasitism. **Insectes Sociaux**, v.57, p.379–383, 2010.
- HOLLAND, J.; DEANGELIS, D. Consumer-resource theory predicts dynamic transitions between outcomes of interspecific interactions. **Ecology Letters**, v.12, p.1357–1366, 2009.
- INWARD, D.; VOGLER, A.; EGGLETON, P. A comprehensive phylogenetic analysis of termites (Isoptera) illuminates key aspects of their evolutionary biology. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.44, p.953–967, 2007.

- JACKSON, A.; INGER, R.; PARNELL, A.; BEARHOP, S. Comparing isotopic niche widths among and within communities: SIBER – Stable Isotope Bayesian Ellipses in R. **Journal of Animal Ecology**, v.80, p.595–602, 2011.
- JAFFE, K.; RAMOS, C.; ISSA, S. Trophic Interactions Between Ants and Termites that Share Common Nests. **Annals of The Entomological Society of America**, v.88, p.328–333, 1995.
- JOHNSTONE, R.; BSHARY, R. From parasitism to mutualism: partner control in asymmetric interactions. **Ecology Letters**, v.5, p.634–639, 2002.
- JOKELA, J.; TASKINEN, J.; MUTIKAINEN, P.; KOPP, K. Virulence of parasites in hosts under environmental stress: experiments with anoxia and starvation. **OIKOS**, v.108, p.156–164, 2005.
- JONES, J.; OLDROYD, B. Nest thermoregulation in social insects. **Advances in Insect Physiology**, v.33, p.153–191, 2006.
- KAIB, M.; FRANKE, S.; FRANCKE, W.; BRANDL, R. Cuticular hydrocarbons in a termite: Phenotypes and a neighbour-stranger effect. **Physiological Entomology**, v.27, p.189–198, 2002.
- KAWECKI, T. Red Queen Meets Santa Rosalia: Arms Races and the Evolution of Host Specialization in Organisms with Parasitic Lifestyles. **The American Naturalist**, v.152, p.635–651, 1998.
- KIFFNER, C.; STANKO, M.; MORAND, S.; KHOKHLOVA, I.; SHENBROT, G.; LAUDISOIT, A.; LEIRS, H.; HAWLENA, H.; KRASNOV, B. Sex-biased parasitism is not universal: evidence from rodent–flea associations from three biomes. **Oecologia**, v.173, p.1009–1022, 2013.
- KILNER, R.; LANGMORE, N. Cuckoos versus hosts in insects and birds: adaptations, counter-adaptations and outcomes. **Biological Reviews**, v.86, p.836–852, 2011.
- KORB, J. Termites, hemimetabolous diploid white ants? **Frontiers in Zoology**, v.5, p.15–24, 2008.
- KORB, J.; LINSÉNMAIR, K. Thermoregulation of termite mounds: What role does ambient temperature and metabolism of the colony play? **Insectes Sociaux**, v.47, p.357–363, 2000.

- KOTTEK, M.; GRIESER, J.; BECK, C.; RUDOLF, B.; RUBEL, F. World Map of the Köppen-Geiger climate classification updated. **Meteorologische Zeitschrift**, v.15, p.259–263, 2006.
- KRISHNA, K.; ARAUJO, R. A revision of the Neotropical termite genus *Neocapritermes* (Isoptera, Termitidae, Ttermitinae). **Bulletin of The American Museum of Natural History**, v.138, p.83–130, 1968.
- KRISHNA, K.; GRIMALDI, D.; KRISHNA, V.; ENGEL, M. Treatise of the Isoptera of the World: Introduction. **Bulletin of The American Museum of Natural History**, v.377, p.1–200, 2013.
- KRISHNA, K.; WEESNER, F. **Biology of Termites**. Academic Press., 1969. 598p. Volume I.
- KRISHNA, K.; WEESNER, F. **Biology of Termites**. Academic Press., 1970. 643p. Volume II.
- LE MASNE, G. Recherches sur les fourmis parasites *Plagiolepis grassei* et l'évolution des *Plagiolepis* parasites. **Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Paris**, v.243, p.673–675, 1956.
- MAESTRE, F.; CALLAWAY, R.; VALLADARES, F.; LORTIE, C. Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. **Journal of Ecology**, v.97, p.199–205, 2009.
- MARINS, A. Fatores que Propiciam a Coabitação de Cupinzeiros por Diferentes Espécies de Cupins, 2012. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
- MARINS, A.; COSTA, D.; RUSSO, L.; CAMPBELL, C.; DESOUSA, O.; BJORNSTAD, O.; SHEA, K. Net effect of a detritivorous ecosystem engineer: termite mound cohabitation by termite inquilines, in prep.
- MATHEWS, A. **Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil**. Academia Brasileira de Ciências, 1977. 267p.
- MENZEL, F.; KRIESELL, H.; WITTE, V. Parabiotic ants: the costs and benefits of symbiosis. **Ecological Entomology**, v.39, p.436–444, 2014.
- MILLER III, D. The Ecology of Inquilinism in Communally Parasitic *Tamalia* Aphids (Hemiptera: Aphididae). **Annals of the Entomological Society of America**, v.97, p.1233–1241, 2004.

- MIRAMONTES, O.; DESOUZA, O. The Nonlinear Dynamics of Survival and Social Facilitation in Termites. **Journal of Theoretical Biology**, v.181, p.373–380, 1996.
- MIRAMONTES, O.; DESOUZA, O. Individual basis for collective behaviour in the termite, *Cornitermes cumulans*. **Journal of Insect Science**, v.8, p.1–11, 2008.
- MITCHELL, J.; HEWITT, P.; VAN DER LINDE, T. Critical thermal limits and temperature tolerance in the harvester termite *Hodotermes mossambicus* (Hagen). **Journal of Insect Physiology**, v.39, p.523–528, 1993.
- MIURA, T.; MATSUMOTO, T. Diet and nest material of the processional termite *Hospitalitermes*, and cohabitation of *Termes* (Isoptera, Termitidae) on Borneo Island. **Insectes Sociaux**, v.44, p.267–275, 1997.
- MOURA, F. M. S.; VASCONCELLOS, A.; ARAÚJO, V. F. P.; BANDEIRA, A. G. Feeding habit of *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae) in an area of caatinga, Northeast Brazil. **Sociobiology**, v.48, p.1–6, 2006.
- MURRAY, K.; CONNER, M. Methods to quantify variable importance: implication for the analysis of noisy ecological data. **Ecology**, v.90, p.348–355, 2009.
- NASH, D.; BOOMSMA, J. Communication between hosts and social parasites. In: D'ETTORRE, P.; HUGHES, D., (Ed.), **Sociobiology of Communication: An interdisciplinary perspective**, Oxford University Press, 4, 2008.
- NIELSEN, C.; PARKER, P.; GATES, R. Intraspecific nest parasitism of cavity-nesting wood ducks: Costs and benefits to hosts and parasites. **Animal Behaviour**, v.27, p.917–926, 2006.
- NOIROT, C. The Nests of Termites. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 2v., 1970.
- NOIROT, C.; DARLINGTON, J. Termite nests: Architecture, regulation and defence. In: ABE, T.; BIGNELL, D.; HIGASHI, M., (Ed.), **Termites: Evolution, sociality, symbioses, ecology**, Springer, 2000.
- NUTTING, W. Flight and colony foundation. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 1v., 1969.
- PAMMINGER, T.; SCHARF, I.; PENNINGS, P.; FOITZIK, S. Increased host aggression as an induced defense against slave-making ants. **Behavioral Ecology**, v.22, p.255–260, 2011.

- PARMENTIER, E.; MICHEL, L. Boundary lines in symbiosis forms. **Symbiosis**, v.60, p.1–5, 2013.
- PARMENTIER, E.; VANDEWALLE, P. Further insight on carapid—holothuroid relationships. **Marine Biology**, v.146, p.455–465, 2005.
- PARNELL, A. C.; INGER, R.; BEARHOP, S.; JACKSON, A. L. Source partitioning using stable isotopes: coping with too much variation. **PloS ONE**, v.5, n.3, p.e9672, 2010.
- PARRA, J.; BOTELHO, P.; VILLA NOVA, N.; SILVEIRA NETO, S.; AMARAL, E. Determinação de temperatura e umidade relativa no interior de colônias de insetos sociais para estudos bioecológicos. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v.3, p.20–33, 1974.
- PAULIAN, R. The termites of Madagascar. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 2v., 1970.
- PRASAD, Y.; PRABHAKAR, M.; SREEDEVI, G.; RAO, G.; VENKATESWARLU, B. Effect of temperature on development, survival and reproduction of the mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) on cotton. **Crop Protection**, v.39, p.81–88, 2012.
- PRESTWICH, G. Chemical defense by termite soldiers. **Journal of Chemical Ecology**, v.5, p.459–480, 1979.
- PRESTWICH, G. Defense mechanisms of termites. **Annual Review of Entomology**, v.29, p.201–232, 1984.
- PRESTWICH, G.; COLLINS, M. Chemotaxonomy of *Subulitermes* and *Nasutitermes* termite soldier defense secretions. Evidence against the hypothesis of diphyletic evolution of the Nasutitermitinae. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.9, p.83–88, 1981.
- PRICE, P. **Insect Ecology**. John Wiley & Sons, 1984. 406p.
- QUELLER, D.; STRASSMANN, J. The many selves of social insects. **Science**, v.296, p.311–313, 2002.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, 2015.
- REDFORD, K. The termitaria of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) and their role in determining a potential keystone species. **Biotropica**, v.16, p.112–119, 1984.

- REDFORD, K. Feeding and food preference in captive and wild Giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*). **Journal of Zoology**, v.205, p.559–572, 1985.
- ROCHA, M.; CANCELLO, E.; CARRIJO, T. Neotropical termites: Revision of *Armitermes* Wasmann (Isoptera, Termitidae, Syntermitinae) and phylogeny of the Syntermitinae. **Systematic Entomology**, v.37, p.793–827, 2012.
- RODRIGUES, V. Correlação entre a reprodução do hospedeiro e a presença de inquilinos em cupins, 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
- RUXTON, G.; SHERRATT, T.; SPEED, M. **Avoiding Attack: The evolutionary ecology of crypsis, warning signals and mimicry**. Oxford University Press, 2004. 249p.
- RÉGNIERE, J.; POWELL, J.; BENTZ, B.; NEALIS, V. Effects of temperature on development, survival and reproduction of insects: Experimental design, data analysis and modeling. **Journal of Insect Physiology**, v.58, p.634–647, 2012.
- SANTOS, T.; DINIZ-FILHO, J.; RANGEL, T.; BINI, L. **PVR: Computes phylogenetic eigenvectors regression (PVR) and phylogenetic signal-representation curve (PSR) (with null and Brownian expectations)**, 2013. R package version 0.2.1.
- SAPP, J. **Evolution by association: a history of symbiosis**. Oxford University Press, 1994. 255p.
- SCHIAPARELLI, S.; ALVARO, M.; BARNICH, R. Polynoid polychaetes living in the gut of irregular sea urchins: a first case of inquilinism in the Southern Ocean. **Antarctic Science**, v.23, p.144–151, 2011.
- SHELLMAN-REEVE, J. The spectrum of eusociality in termites. In: CHOE, J.; CRESPI, B., (Ed.), **The Evolution of Social Behavior in Insects and Arachnids**, Cambridge University Press., 1997.
- SILVESTRI, F. Nota preliminare sui termitidi sud-americani. **Bolletino do Musei Zoologici e di Anatomia Comparata**, v.16, p.1–8, 1901.
- SILVESTRI, F. Contribuzione alla conoscenza dei Termiti e Termitofili dell'America meridionale. **Redia**, v.1, p.1–234, 1903.
- SMITH, J.; RUST, M. Temperature preferences of the western subterranean termite, *Reticulitermes hesperus* Banks. **Journal of Arid Environments**, v.28, p.313–323, 1994.

- SNYDER, R. When does environmental variation most influence species coexistence? **Theoretical Ecology**, v.1, p.129–139, 2008.
- SOBOTNIK, J.; JIROSOVA, A.; HANUS, R. Chemical warfare in termites. **Journal of Insect Physiology**, v.56, p.1012–1021, 2010.
- SOLER, J.; MØLLER, A.; SOLER, M. Mafia Behaviour and the Evolution of Facultative Virulence. **J. Theor. Biol.**, v.191, p.267–277, 1998.
- STADLER, B.; DIXON, A. Ecology and evolution of aphid-ant interactions. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics**, v.36, p.345–372, 2005.
- STEWART, R. The temperature preferences and climatic adaptations of building-damaging dry-wood termites (*Cryptotermes*; Isoptera). **Journal of Thermal Biology**, v.6, p.153–160, 1981.
- STUART, A. Social Behavior and Communication. In: KRISHNA, K.; WEESNER, F., (Ed.), **Biology of Termites**, Academic Press., 1v., 1969.
- SVENSSON, E.; RÅBERG, L. Resistance and tolerance in animal enemy–victim coevolution. **Trends in Ecology & Evolution**, v.25, p.267–274, 2010.
- THERNEAU, T. **A Package for Survival Analysis in S**, 2014. R package version 2.37-7.
- THORNE, B. Termite-termite interactions: workers as an agonistic caste. **Psyche**, v.89, p.133–150, 1982.
- THORNE, B.; HAVERTY, M. A review of intracolony, intraspecific, and Interspecific agonism in termites. **Sociobiology**, v.19, p.115–145, 1991.
- THRALL, P.; HOCHBERG, M.; BURDON, J.; BEVER, J. Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. **Trends in Ecology & Evolution**, v.22, p.120–126, 2006.
- TRAVIS, J.; BROOKER, R.; CLARK, E.; DYTHAM, C. The distribution of positive and negative species interactions across environmental gradients on a dual-lattice model. **Journal of Theoretical Biology**, v.241, p.896–902, 2006.
- TRAVIS, J.; BROOKER, R.; DYTHAM, C. The interplay of positive and negative species interactions across an environmental gradient: insights from an individual-based simulation model. **Biology Letters**, v.1, p.5–8, 2005.

- VASCONCELLOS, A.; ARAUJO, V.; MOURA, F.; BANDEIRA, A. Biomass and Population Structure of *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae) in the Dry Forest of Caatinga, Northeastern Brazil. **Neotropical Entomology**, v.36, p.693–698, 2007.
- WILSON, E. **The Insect Societies**. Harvard University Press, 1971. 548p.
- YANG, M.-M.; MITTER, C.; MILLER, D. First incidence of inquilinism in gall-forming psyllids, with a description of the new inquiline species (Insecta, Hemiptera, Psylloidea, Psyllidae, Spondylaspidinae). **Zoologica Scripta**, v.30, p.97–113, 2001.
- YU, D. Parasites of mutualists. **Biological Journal of The Linnean Society**, v.72, p.529–546, 2001.
- ZAMORA-MUÑOZ, C.; RUANO, F.; ERRARD, C.; LENOIR, A.; HEFETZ, A.; TINAUT, A. Coevolution in the slave-parasite system *Proformica longiseta*-*Rossomyrmex minuchae* (Hymenoptera: Formicidae). **Sociobiology**, v.42, p.299–317, 2003.
- VAN ZWEDEN, J.; D'ETORRE, P. Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. In: BLOMQUIST, G.; BAGNERES, A.-G., (Ed.), **Insect Hydrocarbons**, Cambridge University Press., 11, 2010.

Apêndice **A**

Tabela A.1: Espécies de cupins hospedeiros e inquilinos utilizadas nos experimentos. Hospedeiros avaliados estão marcados com (*).

Espécie	Nidificação	Inquilinismo	Referências
Serritermitidae			
<i>Serritermes serrifer</i> (Hagen & Bates, 1858)	não constrói ninhos	inquilino obrigatório de espécies do gênero <i>Cornitermes</i>	Emerson & Krishna, 1975; Araujo, 1977; Mathews, 1977
Termitidae: Apicotermitinae			
<i>Ruptitermes</i> sp.	a maioria das espécies não constrói ninho	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977
Termitidae: Nasutitermitinae			
<i>Constrictotermes cyphergaster</i> (Silvestri, 1901)*	constrói ninhos epígeos e arbóricolas	pode abrigar <i>Inquilinitermes fur</i> ou <i>Inquilinitermes microcerus</i>	Silvestri, 1901, 1903; Mathews, 1977
<i>Nasutitermes kemneri</i> Snyder & Emerson, 1949	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977
<i>Velocitermes heteropterus</i> (Silvestri, 1901)*	constrói ninhos epígeos irregulares	pode abrigar inquilinos, mas também pode ser encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977; Coles DeNégret & Redford, 1982

Continued on next page

Tabela A.1: continued from previous page

Espécie	Nidificação	Inquilinismo	Referências
Termitidae: Syntermitinae			
<i>Cornitermes bequaerti</i> Emerson, 1952*	constrói ninhos epígeos argilosos de grande porte	pode abrigar diversas espécies de inquilinos	Emerson, 1952; Canello, 1991; Mathews, 1977
<i>Cornitermes silvestrii</i> Emerson, 1952*	constrói ninhos epígeos argilosos de grande porte	pode abrigar diversas espécies de inquilinos	Emerson, 1952; Mathews, 1977; Cunha & Morais, 2010
<i>Cornitermes villosus</i> Emerson, 1952*	constrói ninhos epígeos argilosos de grande porte	não há registros de inquilinos em seus ninhos	Emerson, 1952
<i>Curvitermes minor</i> (Silvestri, 1901)	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977; Carvalho & Constantino, 2011
<i>Curvitermes odontognathus</i> (Silvestri, 1901)	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977; Carvalho & Constantino, 2011
<i>Cyrlilotermes strictinasus</i> (Mathews, 1977)	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977; Constantino & Carvalho, 2012
<i>Labiotermes emersoni</i> (Araujo, 1954)	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Constantino et al., 2006

Continued on next page

Tabela A.1: continued from previous page

Espécie	Nidificação	Inquilinismo	Referências
<i>Silvestritermes euamignathus</i> (Silvestri, 1901)*	constrói ninhos epígeos	pode abrigar inquilinos, mas também pode ser encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977; Domingos, 1983; Rocha et al., 2012
Termitidae: Termitinae			
<i>Cavitermes parmae</i> Mathews, 1977	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977
<i>Dihoplotermes inusitatus</i> Araujo, 1961	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977
<i>Genuotermes spinifer</i> Emerson, 1950	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977
<i>Inquilinitermes fur</i> (Silvestri, 1901)	não constrói ninhos	inquilino obrigatório de <i>C. cyphergaster</i>	Silvestri, 1901, 1903; Mathews, 1977
<i>Inquilinitermes microcerus</i> (Silvestri, 1901)	não constrói ninhos	inquilino obrigatório de <i>C. cyphergaster</i>	Silvestri, 1901, 1903; Mathews, 1977

Continued on next page

Tabela A.1: continued from previous page

Espécie	Nidificação	Inquilinismo	Referências
<i>Neocapritermes parvus</i> (Silvestri, 1901)	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Krishna & Araujo, 1968
<i>Spinitermes trispinosus</i> (Hagen & Bates, 1858)	não constrói ninhos	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977
<i>Termes</i> sp.	vária espécies não constroem ninho	encontrado como inquilino de diversas espécies	Mathews, 1977

Tabela A.2: Quantidade de ninhos de cada cupim hospedeiro (Insecta: Blattodea: Isoptera) ocupados por cada espécie de cupim inquilino em quatro localidades do bioma Cerrado, nas regiões Centro-Oeste e Sudeste do Brasil. Dentre os hospedeiros, *Constrictotermes cyphergaster* e *Velocitermes heteropterus* pertencem à subfamília Nasutitermitinae enquanto que os demais pertencem aos Syntermitinae. *Constrictotermes cyphergaster* constrói ninhos arborícolas e os demais constroem ninhos epígeos. Localidades: VB = Vila Bela da Santíssima Trindade-MT, DM = Diamantino-MT, GM = Gameleira de Goiás-GO, DV = Divinópolis-MG. As localidades estão dispostas no sentido noroeste-sudeste ao longo de um transecto de aproximadamente 1700 Km, abrangendo cerca de 5 graus de latitude e 15 graus de longitude. Os números marcados com (*) referem-se aos pares inquilino-hospedeiro utilizados no experimento.

Inquilinos	Hospedeiros/Localidades																															
	Termitidae: Syntermitinae																Termitidae: Nasutitermitinae															
	<i>C. bequaerti</i>				<i>C. silvestrii</i>				<i>C. villosus</i>				<i>S. euamignathus</i>				<i>C. cyphergaster</i>				<i>V. heteropterus</i>											
	VB	DM	GM	DV	VB	DM	GM	DV	VB	DM	GM	DV	VB	DM	GM	DV	VB	DM	GM	DV	VB	DM	GM	DV								
Serritermitidae																																
<i>Serritermes serrifer</i>					1*				3*																							
Termitidae: Termitinae																																
<i>Cavitermes parvae</i>					1*				2*																							
<i>Dihoplotermes inusitatus</i>	1*												1																			
<i>Genuotermes spinifer</i>									1*																							
<i>Inquilinitermes fur</i>																	8*															
<i>Inquilinitermes microcerus</i>																	8*															
<i>Neocapritermes parvus</i>					1								1								1*											
<i>Orthognathotermes</i> sp.													1																			
<i>Spinitermes trispinosus</i>					3*				1*				3*								1*											
<i>Termes</i> sp.	1*				1				1*																							
Termitidae: Apicotermitinae																																
<i>Anoplotermes</i> sp.									3																							
<i>Grigiotermes</i> sp.					2																											
<i>Ruptitermes</i> sp.	1*								1*																							
Termitidae: Syntermitinae																																
<i>Curvitermes minor</i>									1*				3*																			
<i>Curvitermes odontognathus</i>	1				1*				1				1*								1*											
<i>Cyrilliotermes strictinasus</i>					1				1*																							
<i>Embiratermes festivellus</i>					1				1				1				5				1				3				2			
<i>Labiotermes emersoni</i>					1*								1*																			
Termitidae: Nasutitermitinae																																
<i>Cyranotermes timuassu</i>													1																			
<i>Nasutitermes kemneri</i>					3*								2*								4*											
<i>Nasutitermes longiarticulatus</i>					1																											
<i>Parvitermes bacchanalis</i>																					2											
<i>Subulitermes</i> sp.	1								1				1								1											
<i>Velocitermes heteropterus</i>	1								2*								2*															

Tabela A.3: Número de indivíduos e densidade em cada arena com cada espécie de inquilino e/ou hospedeiro utilizada no experimento de sobrevivência dos grupos mono-específicos e hetero-específicos. As espécies foram coletadas nos municípios de Vila Bela da Santíssima Trindade-MT, Diamantino-MT, Gameleira de Goiás-GO e Divinópolis-MG durante os meses de Fevereiro a Maio de 2014 e Janeiro e Fevereiro de 2015.

Hospedeiro	Inquilino	NºIndivíduos		
		Hosp	Inq	Densidade
Grupos Monoespecíficos				
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>		10	0	0.122
<i>Cornitermes bequaerti</i>		8	0	0.151
<i>Cornitermes silvestrii</i>		8	0	0.151
<i>Cornitermes villosus</i>		8	0	0.151
<i>Silvestritermes euamignathus</i>		8	0	0.121
<i>Velocitermes heteropterus</i>		10	0	0.122
	<i>Cavitermes parmae</i>	0	8	0.117
	<i>Curvitermes minor</i>	0	10	0.117
	<i>Curvitermes odontognathus</i>	0	10	0.117
	<i>Cyrrillotermes strictinasus</i>	0	10	0.117
	<i>Dihoplotermes inusitatus</i>	0	10	0.117
	<i>Genuotermes spinifer</i>	0	10	0.120
	<i>Inquilinitermes fur</i>	0	10	0.107
	<i>Inquilinitermes microcerus</i>	0	10	0.107
	<i>Labiotermes emersoni</i>	0	6	0.177
	<i>Nasutitermes kemneri</i>	0	10	0.122
	<i>Neocapritermes parvus</i>	0	8	0.141
	<i>Ruptitermes sp.</i>	0	10	0.117
	<i>Serritermes serrifer</i>	0	10	0.121
	<i>Spinitermes trispinosus</i>	0	10	0.117
	<i>Termes sp.</i>	0	10	0.117
	<i>Velocitermes heteropterus</i>	0	10	0.122
Grupos Heteroespecíficos				
<i>Cornitermes bequaerti</i>	<i>Dihoplotermes inusitatus</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes bequaerti</i>	<i>Termes sp.</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes bequaerti</i>	<i>Ruptitermes sp.</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes bequaerti</i>	<i>Curvitermes odontognathus</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Serritermes serrifer</i>	4	6	0.148
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Cavitermes parmae</i>	4	4	0.134
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Spinitermes trispinosus</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Termes sp.</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Ruptitermes sp.</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Curvitermes minor</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Cyrrillotermes strictinasus</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Labiotermes emersoni</i>	3	3	0.144
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Nasutitermes kemneri</i>	4	6	0.148
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Velocitermes heteropterus</i>	4	6	0.148
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Serritermes serrifer</i>	4	6	0.148
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Cavitermes parmae</i>	4	4	0.134
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Genuotermes spinifer</i>	4	4	0.146
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Spinitermes trispinosus</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Curvitermes minor</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Curvitermes odontognathus</i>	4	6	0.146
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Labiotermes emersoni</i>	3	3	0.144
<i>Cornitermes villosus</i>	<i>Nasutitermes kemneri</i>	4	6	0.148
<i>Cornitermes silvestrii</i>	<i>Nasutitermes kemneri</i>	4	6	0.148
<i>Silvestritermes euamignathus</i>	<i>Velocitermes heteropterus</i>	4	6	0.133
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>	<i>Inquilinitermes fur</i>	6	6	0.131
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>	<i>Inquilinitermes microcerus</i>	6	6	0.131
<i>Constrictotermes cyphergaster</i>	<i>Nasutitermes kemneri</i>	6	6	0.146
<i>Velocitermes heteropterus</i>	<i>Neocapritermes parvus</i>	6	4	0.143
<i>Velocitermes heteropterus</i>	<i>Spinitermes trispinosus</i>	6	6	0.143
<i>Velocitermes heteropterus</i>	<i>Curvitermes odontognathus</i>	6	6	0.143