



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRO-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA
E CONSERVAÇÃO



MECANISMOS ENVOLVIDOS NA MANUTENÇÃO DE
INQUILINISMO OBRIGATÓRIO EM NINHOS DE CUPINS

Joseane Santos Cruz

Mestrado Acadêmico

São Cristóvão
Sergipe – Brasil
2021

JOSEANE SANTOS CRUZ

**MECANISMOS ENVOLVIDOS NA MANUTENÇÃO DE
INQUILINISMO OBRIGATÓRIO EM NINHOS DE CUPINS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Orientadora: Dr.^a Ana Paula Albano Araújo

São Cristóvão
Sergipe – Brasil
2021

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

C957m Cruz, Joseane Santos.
Mecanismos envolvidos na manutenção de inquilinismo obrigatório em ninhos de cupins / Joseane Santos Cruz ; orientadora Ana Paula Albano Araújo. – São Cristóvão, SE, 2021.
61 f. : il.

Dissertação (mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal de Sergipe, 2021.

1. Térmita. 2. Biologia. 3. Sociedade de insetos. I. Araújo, Ana Paula Albano, orient. II. Título.

CDU 595.731

TERMO DE APROVAÇÃO


MECANISMOS ENVOLVIDOS NA MANUTENÇÃO DE INQUILINISMO OBRIGATÓRIO EM NINHOS DE CUPINS

por

JOSEANE SANTOS CRUZ


Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal de Sergipe, como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

APROVADA pela banca examinadora composta por

Documento assinado digitalmente
 Ana Paula Albano Araujo
Data: 31/08/2021 08:38:52-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>


PROFª DRª ANA PAULA ALBANO ARAÚJO

Programa de Pós-
Graduação em Ecologia e
Conservação da
Universidade Federal de
Sergipe

Documento assinado digitalmente
 Daniela Faria Florencio
Data: 02/09/2021 09:15:26-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

PROFª DRª DANIELA FARIA FLORENCIO

Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA

Documento assinado digitalmente
 Paulo Fellipe Cristaldo
Data: 31/08/2021 16:35:49-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

PROF. DR. PAULO FELLIPE CRISTALDO

Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE

São Cristóvão/SE, 31 de agosto de 2021

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por ter me dado, força e coragem ao longo desta etapa.

À coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação (PPEC) pelo suporte. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo fornecimento da bolsa que permitiu a realização do mestrado.

À professora Dr.^a Ana Paula Albano Araújo pela oportunidade, orientação, competência e críticas construtivas. Pelos ensinamentos diários tanto para o crescimento profissional quanto pessoal. Obrigada por ter me apresentado o universo dos cupins.

Ao prof. Dr. Leandro Bacci pela disponibilidade e ajuda nas coletas. Muito obrigada!

À toda equipe do Laboratório de Interações Ecológicas: Amanda, Iza, Dani, Rafael e Aline. Obrigada pela convivência agradável, apoio e companheirismo.

Aos colegas da pós-graduação, em especial à Rosana pela parceria, incentivo e todos os momentos descontraídos.

Aos irmãos em Cristo da IEAD. Obrigada por todo apoio e entenderem minha ausência em alguns momentos.

À minha família por tudo! À minha mãe, meu orgulho e luz da minha vida. Obrigada por todo amor, carinho, dedicação e por me ensinar as coisas mais valiosas da vida. Aos meus irmãos Jandson e Joselaine pela amizade, amor, companheirismo e por me proporcionarem a alegria de ser tia das crianças mais lindas deste mundo: Jeandson, Davi, Júlia e Deyvid. Amo vocês incondicionalmente!

Aos membros da banca pelas sugestões ao trabalho.

Enfim, agradeço a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho. Muito obrigada a todos.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
INTRODUÇÃO GERAL	1
<i>Interações ecológicas determinando a coexistência de espécies</i>	1
<i>Interações em ninhos de insetos eussociais</i>	2
<i>Biologia e comunicação em cupins</i>	4
<i>Coabitação em ninhos de cupins</i>	6
<i>Constrictotermes x Inquilinitermes</i>	7
REFERÊNCIAS	10
CAPÍTULO 1	16
Coabitação de <i>Inquilinitermes microcerus</i> em ninhos de <i>Constrictotermes</i> sp.: um mesmo sistema evoluindo por mecanismos distintos?	16
CAPÍTULO 2	26
Um estranho no ninho: Habituação ou evitação mantêm a relação de inquilinismo obrigatório em ninhos de cupim?	26
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL & MÉTODOS	31
<i>Espécies estudadas</i>	31
<i>Coleta dos ninhos</i>	32
<i>Bioensaios</i>	32
<i>Análises Estatísticas</i>	36
RESULTADOS	37
DISCUSSÃO	44
REFERÊNCIAS	48

RESUMO

A defesa de recursos é uma característica marcante no reino animal. Ninhos de insetos eussociais facilitam a sobrevivência, manutenção e sucesso de suas colônias. Por outro lado, esses ninhos consistem em ambientes altamente atrativos para várias outras espécies. Cupins do gênero *Inquilinitermes* são inquilinos obrigatórios específicos de ninhos de *Constrictotermes* sp. (hospedeiros). Estudos sugerem que essa relação parece ser mantida via segregação espacial dos coabitantes dentro dos ninhos. No presente estudo, descrevemos como o sistema de coabitação *Constrictotermes* sp. x *Inquilinitermes microcerus* em Sergipe se difere daqueles já observados em outras regiões brasileiras. Adicionalmente, analisamos se os mecanismos envolvidos na coabitação estão relacionados à habituação de pistas ou evitação das colônias dentro dos ninhos. Para isso, bioensaios de agressividade e de escolha de odores (corporal e intestinal) foram conduzidos em pareamentos hospedeiro-inquilino provenientes de mesmo e de diferentes ninhos. Nossos resultados mostraram que os ninhos amostrados foram todos epígeos e que suas paredes escuras (onde os inquilinos se agregam) são uniformemente distribuídas, diferente do padrão observado em outras regiões. A coabitação apresentou maior probabilidade de ocorrência em ninhos com tamanho acima de 20,07 L. Não foram observados nenhum comportamento de agressividade entre hospedeiro e inquilino, sejam provenientes de mesmos ou de diferentes ninhos. Ambas as espécies morreram mais rapidamente quando mantidas em contato próximo entre si. A mortalidade interespecífica foi maior entre hospedeiros e inquilinos de ninhos distantes, do que entre aqueles provenientes de ninhos de um mesmo local. Os hospedeiros foram atraídos para o odor corporal dos inquilinos; enquanto esses mostraram atração para o odor intestinal e corporal do hospedeiro. Concluindo, nossos resultados sugerem haver reconhecimento hospedeiro-inquilino, porém sem agressividade. Este resultado poderia ser explicado por camuflagem de odores por parte do inquilino, assim como habituação de odores por parte do hospedeiro. Nossos resultados podem contribuir para uma melhor compreensão dos mecanismos envolvidos na coexistência de espécies na reduzida escala dos ninhos.

Palavras-chaves: agressividade, coabitação, *Constrictotermes*, *Inquilinitermes*.

ABSTRACT

Resource defense is a hallmark characteristic in animal kingdom. Eusocial insect nests facilitate the survival, maintenance and success of their colonies. Contrastingly, these nests are highly attractive environments for several other species. Termites of *Inquilinitermes* genus are specific obligate inquilines of *Constrictotermes* sp. (hosts) nests. Studies suggest that this relationship seems to be maintained via spatial segregation of cohabitants within the nests. In this study, we described how the cohabitation system *Constrictotermes* sp. x *Inquilinitermes microcerus* in Sergipe state differs from those observed in other Brazilian regions. Additionally, we analyzed whether the mechanisms involved in cohabitation are related to cues habituation or colony avoidance within the nests. We conducted aggressiveness and odor choice bioassays (body and intestinal) in host-inquiline pairings from the same and different nests. Our results showed that all sampled nests were epigeal and their dark walls (where the inquilines aggregate) are uniformly distributed, different from the pattern observed in other regions. Cohabitation was more likely to occur in nests larger than 20.07 L. No aggressive behavior was observed between host and inquiline, whether coming from the same or different nests. Both species had died quickly when kept in close contact with each other. Interspecific mortality was higher among hosts and inquilines from distant nests than among those from nests in the same location. Hosts were attracted to the inquiline body odor; while inquilines showed attraction to the intestinal and body host odor. In conclusion, our results suggest that there is host-inquiline recognition; however, without aggressiveness. This result could be explained by odor camouflage by the inquiline, as well as odor habituation by the host. Our results can contribute to a better understanding of the mechanisms involved in species coexistence in the small scale of nests.

Keywords: aggressiveness, cohabitation, *Constrictotermes*, *Inquilinitermes*

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2: Um estranho no ninho: Habituação ou evitação mantêm a relação de inquilinismo obrigatório em ninhos de cupim?

Tabela 1. Variação dos comportamentos exibidos por grupos de *Constrictotermes* sp. (C) e *Inquilinitermes microcerus* (I) em função dos tipos de pareamentos dos indivíduos (quatro níveis): pareamentos intraespecíficos: (C + C ou I + I) de ninhos iguais, (C + C ou I + I) de ninhos diferentes; e interespecíficos: (C + I) de ninhos iguais; (C + I) de ninhos diferentes. São Cristóvão, SE, Brasil.....38

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1: Coabitação de *Inquilinitermes microcerus* em ninhos de *Constrictotermes* sp.: um mesmo sistema evoluindo por mecanismos distintos?

Fig. 1. Ninhos de *Constrictotermes* sp. amostrados no presente estudo. A) Ninho epígeo, aderido à planta herbácea do genero *Lippia*, sobre solo pedregoso. B) Ninho com a parede externa, de coloração clara, parcialmente fragmentada, evidenciando a parte interna e escura distribuída de forma dispersa por todo seu interior, em Sergipe, Brasil.....24

Fig. 2. Efeito do volume do ninho de *Constrictotermes* sp. na presença de *Inquilinitermes microcerus* São Cristóvão, SE, Brasil, 2019-2021. No eixo x, 0 e 1 indicam a ausência e presença de coabitação com inquilinos, respectivamente. A probabilidade de encontro de inquilinos segue a equação logística $\text{Log}(p/q) = -2.75759 + 0.16226v$; onde (p/q) é a razão habitação/ não habitação inquilinos e v é o volume do ninho (L). O volume crítico do ninho acima do qual a probabilidade de habitação inquilina excede 50% ocorre em 20,07 L.....25

CAPÍTULO 2: Um estranho no ninho: Habituação ou evitação mantêm a relação de inquilinismo obrigatório em ninhos de cupim?

Fig. 1. Esquema de pareamentos de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e *Inquilinitermes microcerus* (I) utilizados nos bieonsaios. A) Pareamentos entre ninhos próximos foram feitos entre grupos de 3 ninhos cada, analisando os comportamentos intra (C + C ou I + I) e interespecíficos (C + I) entre indivíduos provenientes de mesmo ou diferentes ninhos. B) Pareamentos interespecíficos (C + I) realizados entre ninhos distantes, provenientes de diferentes localidades, feitos com dois grupos contendo 6 ninhos cada, sendo três ninhos/local.....34

Fig. 2. Médias de antenações executadas por (A) grupos de *Constrictotermes* sp. (C) e de (B) *Inquilinitermes microcerus* (I) em pareamentos interespecíficos (C + C) e

intraespecíficos (C + C ou I + I) entre indivíduos provenientes de mesmo ou de diferentes ninhos. * indica diferenças entre tratamentos; n.s. = não significativo.....39

Fig. 3. (A) Proporção de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e (B) de *Inquilinitermes microcerus* (I) mortos ao longo do tempo em pareamentos intraespecíficos (C + C; I + I) e interespecíficos (C + I) provenientes de mesmo ou de diferentes ninhos. Análise de Sobrevivência, Weibull.....41

Fig. 4. Proporção de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e *Inquilinitermes microcerus* (I) mortos ao longo do tempo em pareamentos intraespecíficos (C + I) entre ninhos, provenientes de diferentes locais no estado de Sergipe. Análise de Sobrevivência, Weibull.....41

Fig. 5. Escolha do hospedeiro em relação aos lados tratados ou não-tratados em relação ao odor do intestino e do resto do corpo dos inquilinos, após 3h e 6h de exposição. Os hospedeiros não tiveram escolha pelo odor do intestino, porém escolheram os odores do resto do corpo do inquilino em ambos os tempos de exposição. * indica diferenças entre os tratamentos.....42

Fig. 6. Escolha do inquilino em relação aos lados tratados ou não-tratados em relação ao odor do intestino e do resto do corpo do hospedeiro, após 3h e 6h de exposição. Os inquilinos escolheram o odor intestinal e corporal do hospedeiro após 3h, porém essa variação não se manteve após 6h de exposição. * indica diferenças entre os tratamentos.....43

INTRODUÇÃO GERAL

Interações ecológicas determinando a coexistência de espécies

A forma como as espécies interagem com o meio e entre si é um assunto central na Ecologia, uma vez que interfere diretamente na coexistência das mesmas, influenciando assim a diversidade em escala local (Giacomini 2007). A coexistência entre espécies de uma comunidade depende de suas adaptações às condições locais, assim como das interações diretas ou indiretas com outras espécies. Originalmente, as teorias ecológicas focaram nas interações negativas (*ex.* competição) como o principal fator modulador da coexistência das espécies. Atualmente, diferentes teorias tentam explicar a coexistência entre as espécies, seja baseado nas diferenças de nicho ecológico ou por meio da teoria neutra, a qual baseia-se na ideia de que as espécies são equivalentes em suas habilidades (Chesson 2000, Adler *et al.* 2007). A visão mais recente para explicar a coexistência, inclui um balanço entre diferenças no nicho e similaridade no *fitness* das espécies (Chesson 2000). De um lado, mecanismos estabilizadores relacionados à baixa sobreposição de nichos, minimizam o impacto de diferenças no *fitness*. Por outro lado, mecanismos equalizadores, mostram que uma alta similaridade no *fitness*, ou seja, semelhante capacidade de crescimento de suas populações, pode permitir a coexistência de espécies com nichos sobrepostos (Chesson 2000). A coexistência também pode ser facilitada por meio de *trade-offs* interespecíficos, como diferenças na capacidade de colonização \times habilidade competitiva (Adler *et al.* 2007). Adicionalmente, o papel das interações positivas como moduladoras da coexistência tem ganhado cada vez mais ênfase (Bastolla *et al.* 2009), em contraposição à visão inicial de que as interações negativas seriam os principais determinantes da coexistência de espécies (Shurin & Allen 2001).

As interações ecológicas abrangem um *continuum* dinâmico (*ex.* de antagonismo ao mutualismo) (Dimijian 2000), no qual as relações apresentam resultados dependentes do

balanço entre custos e benefícios para as ambas as partes envolvidas (Bronstein 2001). Particularmente, as relações simbióticas (*ex.* qualquer interação íntima entre organismos diferentes), são as mais propensas a apresentar resultados variáveis no tempo e no espaço, dependendo do contexto ecológico no qual estão inseridas (Daskin & Alford 2012). Sendo assim, essas relações podem flutuar ao longo de um *continuum* de efeitos neutros, positivos ou negativos para os organismos envolvidos (Dimijiam 2000). Exemplos de interações simbióticas têm sido amplamente descritos na literatura [algas e fungos (Molnár & Farkas 2010); plantas e formigas (Nepi *et al.* 2018); bactérias e seus hospedeiros (Duarte *et al.* 2014)]. Dentre tais exemplos, os insetos eussociais (*ex.*: abelhas, vespas, formigas e cupins) representam impressionantes parceiros simbióticos, já que seus ninhos fornecem um sistema de condições ambientalmente favorável para o estabelecimento de outras espécies (Menzel & Blüthgen 2010).

Interações em ninhos de insetos eussociais

Insetos eussociais abrangem espécies coloniais que se destacam pela realização de complexas atividades e elevado sucesso evolutivo (Wilson & Hölldobler 2005). A eussocialidade é caracterizada pela divisão de tarefas e sobreposição de gerações da prole, além da presença de indivíduos estéreis atuando a favor dos reprodutores das colônias (Bonabeau *et al.* 1997). Muitas colônias de insetos eussociais se abrigam em ninhos que consistem em estruturas físicas, muitas vezes construídas por esses indivíduos. Estas estruturas representam um dos principais fatores relacionados ao sucesso adaptativo dos insetos eussociais, uma vez que constituem a primeira barreira de proteção da colônia contra invasores e competidores, além de permitirem a manutenção de condições ambientalmente favoráveis, como a homeostase (Jones & Oldroyd 2006), estoque de alimentos (Costa-Leonardo 2002) e coesão colonial (Andersson 1984). No entanto, tais benefícios tornam-se atrativos para uma ampla variedade de organismos,

incluindo: parasitas, mutualistas e comensais (Hughes *et al.* 2008). Na maioria dos casos, não há um benefício mútuo para as espécies envolvidas e as interações, em muitos casos, são caracterizadas principalmente como parasitismo social (Dronnet *et al.* 2005, Bogusch *et al.* 2006). Entretanto, também existem indícios da ocorrência de interações mutualísticas, nas quais os invasores podem auxiliar na defesa da colônia de seu hospedeiro (Higashi & Ito 1989).

Sendo assim, ninhos de insetos eussociais podem representar pequenos ecossistemas (Menzel & Blüthgen 2010), dentro dos quais podem ser observadas tanto interações intracoloniais como interespecíficas (Sledge *et al.* 2001, Dronnet *et al.* 2005, Cristaldo *et al.* 2012). Dessa forma, insetos eussociais podem consistir em interessantes modelos para estudos envolvendo aspectos ecológicos/ evolutivos das interações, assim como para a compreensão dos padrões de coexistência de espécies.

A coabitação de ninhos de insetos eussociais tem recebido destaque em vários estudos (Cunha & Brandão 2000, Brandt *et al.* 2005, Dronnet *et al.* 2005). Esse processo torna-se intrigante uma vez que os insetos eussociais são capazes de discriminar entre indivíduos próprios ou não-próprios às suas colônias através do reconhecimento de perfis de hidrocarbonetos cuticulares específicos (Liang & Silverman 2000, Queller & Strassmann 2002). Adicionalmente, muitos insetos eussociais possuem uma casta responsável pela defesa, a qual pode inclusive apresentar aparatos morfológicos e fisiológicos específicos para tal tarefa [ex. cupins (Prestwich 1984)]. Assim, a manutenção das interações de coabitação deve exigir, muitas vezes, características adaptativas que permitam uma coexistência íntima entre as espécies envolvidas.

Estudos realizados com Hymenoptera (abelhas, vespas e formigas) já desvendaram algumas estratégias envolvidas nas coabitações em ninhos. Para alguns Hymenoptera essa interação é caracterizada principalmente como parasitismo social, podendo ser intraespecífico ou interespecífico, temporário ou obrigatório (Brandt *et al.* 2005, Bourke & Franks 1991). Esses

parasitas desenvolveram uma variedade de estratégias para superar o eficiente sistema de reconhecimento do hospedeiro e invadir os ninhos. Alguns invasores utilizam mimetismo químico, no qual conseguem adquirir odores de hidrocarbonetos cuticulares (HCs) semelhantes ao da colônia hospedeira (Sledge *et al.* 2001). Em outros casos, o invasor tem a capacidade de alterar o odor do ninho por meio da adição de um hidrocarboneto específico (Turillazzi *et al.* 2000), combinando assim seu perfil químico com o do seu hospedeiro (Cini *et al.* 2019). Por outro lado, a insignificância química também tem sido uma estratégia relatada, a qual facilita a entrada e manutenção dos inquilinos dentro dos ninhos (Lenoir *et al.* 2001). Ainda, alguns invasores desenvolveram a capacidade de emitir sinais capazes de inibir a agressividade por parte dos seus hospedeiros (Ortolani *et al.* 2010); enquanto outros possuem estratégias para confrontar, confundir ou evitar completamente seus hospedeiros (Akino 2008).

Para cupins, no entanto, ainda existem poucos estudos que tentam explicar a coabitação em ninhos, apesar dos recentes avanços (*veja*: Cristaldo *et al.* 2012, 2014, 2016, DeSouza *et al.* 2016, Cruz *et al.* 2018, Rodrigues *et al.* 2018). Algumas dessas estratégias de coabitação, já observadas em cupins, incluem: baixa sobreposição de dieta com o hospedeiro (Florencio *et al.* 2013) evitando possíveis conflitos competitivos, mimetismo morfológico (Cunha *et al.* 2015), mimetismo químico (Rosa *et al.* 2018) e utilização de compostos repelentes (Jirošová *et al.* 2016).

Biologia e comunicação em cupins

Os cupins são insetos que se alimentam de matéria orgânica - basicamente celulose - e apresentam um importante papel funcional nos ecossistemas por participarem ativamente na ciclagem de nutrientes. Apesar de viverem em colônias, nem todas as espécies de cupins constroem seus ninhos. Este é o caso das espécies filogeneticamente mais basais, que se abrigam no próprio recurso (sítio-único). Por outro lado, as espécies mais derivadas constroem

seus ninhos e precisam forragear à procura de alimento (sítio-central) (Traniello & Leuthold 2000).

As colônias de cupins são formadas por indivíduos morfológicamente diferenciados em castas que cooperam nas divisões de tarefas, incluindo castas reprodutoras e não reprodutoras (*ex.* operários e soldados). Os operários são responsáveis por diversas atividades, como: forrageio, manutenção do ninho, além de alimentação das castas dependentes (Costa-Leonardo 2002). Já os soldados são especializados na defesa da colônia e, dependendo das espécies, possuem diferentes mecanismos de defesa, incluindo mandíbulas bem desenvolvidas (defesa mecânica), estruturas que liberam compostos repelentes (defesa química) ou uma combinação de ambos os tipos (defesa mista) (Prestwich 1984). Em algumas espécies mais derivadas, o papel dos soldados vai além da função de defesa, uma vez que estes indivíduos também auxiliam ativamente na busca e exploração de novas fontes alimentares (Casarin *et al.* 2008, Almeida *et al.* 2016, Sacramento *et al.* 2020).

Os cupins são cegos e apresentam hábito críptico, possuindo sistema de comunicação predominantemente químico, incluindo principalmente o uso de hidrocarbonetos cuticulares (HCs) - para a discriminação de indivíduos da mesma colônia (Costa-Leonardo *et al.* 2009) - e feromônios (Costa-Leonardo 2002). Cada colônia possui uma composição de HCs específico, a qual é determinada tanto por fatores genéticos (Dronnet *et al.* 2006) quanto ambientais, como por exemplo, o tipo de recurso consumido (Florane *et al.* 2004). A vibração também representa um importante meio de comunicação nos cupins (Šobotoník *et al.* 2010), podendo ser induzida por diferentes estímulos (Cristaldo *et al.* 2015). Sinais de vibração servem não apenas como sinal de alerta (Delattre *et al.* 2015), mas também para informar sobre a quantidade de recurso no ambiente (Evans *et al.* 2005) e detecção de possíveis competidores (Ferreira *et al.* 2018). Por outro lado, os feromônios - compostos de uma mistura de substâncias químicas secretados por glândulas exócrinas localizadas em todo corpo - são utilizados para diversas funções, como

defesa, forrageio e reprodução (Costa-Leonardo 2002). O feromônio de alarme é liberado da glândula frontal dos soldados e seu conteúdo representa um vasto e peculiar arsenal de produtos defensivos que podem ser tóxicos, repelentes ou pegajosos para os inimigos (Prestwich 1984, Šobotník *et al.* 2010, Costa-Leonardo *et al.* 2009). Já o feromônio de trilha, utilizado no forrageio, facilita a localização e recrutamento de indivíduos para fontes alimentares, otimizando a exploração dos recursos (Lima & Costa-Leonardo 2012, Reinhard & Kaib 2001).

Ao longo da filogenia dos cupins, a transição para o estilo de vida de forrageadores de sítio-central, foi acompanhada por adaptações que permitiram maior incremento no uso de sinais durante a comunicação intracolônia. Adicionalmente, estudos recentes têm mostrado que cupins também são capazes de reconhecer os sinais de outras colônias e escolhem as trilhas de colônias com maior quantidade de recurso (Cristaldo *et al.* 2016). Essa exploração de pistas intercolônias poderia interferir diretamente nas decisões de forrageio, auxiliando os indivíduos na busca de novas fontes alimentares (Ferreira *et al.* 2018) e, possivelmente no encontro e exploração de ninhos para coabitação.

Coabitação em ninhos de cupins

Ninhos de cupins podem ser invadidos por organismos de outros grupos taxonômicos (*ex.* termitófilos) ou mesmo por outras espécies de cupins (*ex.* inquilinos). Existem vários relatos de termitófilos coabitando ninhos de cupins, como por exemplo morcegos (Dechmann *et al.* 2009), pássaros (Brightsmith 2000), lagartos (Thompson & Thompson 2015) e invertebrados (Cunha & Brandão 2000, Bourguignon & Roisin 2006). Entre estes, os mais estudados são os besouros pertencentes à família Sthaphylinidae (Cunha & Brandão 2000, Kanao *et al.* 2010) os quais utilizam estratégias como mimetismo morfológico (Cunha *et al.* 2015) e químico (Rosa *et al.* 2018), o que facilita sua entrada e permanência nos ninhos. Adicionalmente, alguns desses besouros são providos de glândulas tegumentares que secretam substâncias fundamentais para

os cupins e, em troca, são alimentados pelos operários da colônia hospedeira (Costa-Leonardo 2002). Nesse caso, parece haver uma possível interação positiva para ambas as espécies envolvidas na coabitação.

Muitos inquilinos de ninhos de cupins podem ser considerados facultativos, ou seja, podem construir seu próprio ninho, mas são eventualmente encontrados em ninhos de outros hospedeiros. Várias espécies de cupins já foram relatadas como inquilinos facultativos, como por exemplo: *Aparatermes* sp., *Labiotermes laticephalus* e *Embiratermes festivulus*, os quais coabitam ninhos de *Cornitermes snyderi* (Cunha & Morais 2010). Por outro lado, algumas espécies são consideradas inquilinos obrigatórios, uma vez que não possuem capacidade de construir seus próprios ninhos (Mathews 1977). De acordo com Marins (2012) existem pelo menos 16 espécies de inquilinos obrigatórios. Dentre estes podemos citar as espécies do gênero *Inquilinitermes* (Termitidae: Termininae) (*I. fur*, *I. inquilinus*, *I. microcerus*) que coabitam exclusivamente ninhos construídos por cupins do gênero *Constrictotermes* (Mathews 1977) e *Serritermes serrifer* (Serritermitinae) que coabita ninhos de *Cornitermes cumulans* (Costa *et al.* 2009). Uma vez que os inquilinos obrigatórios apresentam uma relação mais específica com seus hospedeiros, espera-se que estes exibam estratégias adaptativas que permitam a estabilidade temporal desta interação.

Constrictotermes x Inquilinitermes

O gênero *Constrictotermes* está distribuído em toda América do Sul e inclui seis espécies (Constantino 1999). Dentre estas, *C. cavifrons* e *C. cyphergaster* têm seus ninhos frequentemente coabitados por inquilinos obrigatórios do gênero *Inquilinitermes* (Mathews 1977). Adicionalmente, os ninhos de *C. cyphergaster* também podem abrigar uma diversidade de termitófilos (Cunha & Brandão 2000).

Nas últimas décadas, alguns trabalhos vêm tentando desvendar os fatores envolvidos nessa relação de inquilinismo obrigatório. Cristaldo *et al.* (2012) verificaram que o tamanho do ninho hospedeiro parece desempenhar papel importante na coabitação por inquilinos, uma vez que parece existir um tamanho mínimo a partir do qual a probabilidade de inquilinismo é aumentada. Ninhos de *C. cyphergaster* maiores que 13L têm mais chances de abrigar o inquilino obrigatório *I. microcerus*. Essa coabitação poderia estar diretamente ligada simplesmente à uma questão probabilística, uma vez que ninhos maiores (*ex.* mais antigos) seriam mais aparentes no tempo e no espaço. Por outro lado, os autores hipotetizaram que, com o aumento do ninho, algumas partes podem se tornar desocupadas pelos hospedeiros, criando assim espaços não patrulhados que facilitariam a entrada dos inquilinos (Cristaldo *et al.* 2012; DeSouza *et al.* 2016). Adicionalmente, esta correlação entre coabitação x tamanho do ninho pode estar relacionada à maturidade da colônia. Estudos sugerem que no período reprodutivo as colônias investem mais em reprodução do que em defesa, o que criaria oportunidades para a entrada e o estabelecimento dos inquilinos nos ninhos (Rodrigues *et al.* 2018).

Outros estudos desenvolvidos nesse sistema, sugerem que *Inquilinitermes* apresenta comportamentos que reduzem sua percepção e conflitos com o hospedeiro (Cristaldo *et al.* 2012, 2014, 2016, Florencio *et al.* 2013, Cruz *et al.* 2018). *Inquilinitermes microcerus* possuem colônias menores em relação ao seu hospedeiro e vivem aparentemente restritos às partes mais centrais e escuras do ninho (Cunha *et al.* 2003). Inquilinos também parecem consumir recursos diferentes daqueles consumidos por seus hospedeiros (Barbosa-Silva *et al.* 2016, Florencio *et al.* 2013), o que pode contribuir para reduzir confronto direto. Espécies do gênero *Inquilinitermes* nunca foram observadas fora do ninho hospedeiro e provavelmente não saem para forragear. Alguns autores sugerem que esses inquilinos se alimentam das paredes escuras localizadas na parte central e interna aos ninhos, as quais são recobertas com excrementos do hospedeiro (Mathews 1977, Barbosa-Silva *et al.* 2016). Assim, a dependência alimentar pode

ser um fator crucial nessa associação. Além disso, ao consumir um subproduto da dieta do seu hospedeiro, os inquilinos poderiam, de certa forma, adquirirem um odor semelhante ao da colônia hospedeira, o que poderia facilitar a coabitação.

Adicionalmente, estudos recentes têm demonstrado que os inquilinos podem adotar estratégias para evitar ou repelir quimicamente o seu hospedeiro. Cristaldo *et al.* (2014, 2016) mostraram que *I. microcerus* é capaz de reconhecer os sinais de trilha e alarme de *C. cyphergaster* e de utilizar essa informação em benefício próprio, seja para esquivar-se de espaços habitados pelos hospedeiros ou talvez para fugir de eventuais predadores. Jirošová *et al.* (2016) evidenciaram que soldados de *I. inquilinus* possuem substâncias químicas repelentes ao seu hospedeiro *C. cavifrons*. Ainda, Hugo *et al.* (2020) mostraram que *I. microcerus* apresentam baixa agressividade, mesmo ao sofrer agressões do seu hospedeiro *C. cyphergaster*. Além disso, estes mesmos autores também verificaram que as fezes do inquilino parece ter efeito repelente ao hospedeiro.

No entanto, apesar dos avanços recentes na tentativa de elucidar os mecanismos determinantes do inquilinismo obrigatório em cupins (Cristaldo *et al.* 2014, 2016, Jirošová *et al.* 2016), o balanço final desta interação para ambas espécies ainda permanece desconhecido. Assim, nessa dissertação, avaliamos alguns mecanismos envolvidos no sistema de coabitação entre espécies *Constrictotermes* sp. e *Inquilinitermes microcerus*. O sistema estudado aqui provavelmente envolve espécie nova e apresenta algumas peculiaridades. Esse trabalho foi dividido em dois capítulos. No primeiro capítulo, descrevemos as diferenças observadas nesse sistema hospedeiro-inquilino, em relação aos padrões já encontrados em outras regiões brasileiras. Já no segundo capítulo, avaliamos se a coabitação ocorre por meio de algum tipo de habituação de odores ou por evitação entre hospedeiros e inquilinos dentro do ninho.

REFERÊNCIAS

- ADLER, P. B., J. HILLERISLAMBERS, and J. M. LEVINE. 2007. A niche for neutrality. *Ecol. Lett.* 10: 95–104.
- AKINO, T. 2008. Chemical strategies to deal with ants: a review of mimicry, camouflage, propaganda, and phytomimesis by ants (Hymenoptera: Formicidae) and other arthropods. *Myrmecological News* 11: 173–181.
- ALMEIDA, C. S., P. F. CRISTALDO, D. F. FLORENCIO, N. G. CRUZ, A. A. SANTOS, A. P. OLIVEIRA, A. S. SANTANA, E. J. M. RIBEIRO, A. P. S. LIMA, L. BACCI, and A. P. A. ARAÚJO. 2016. Combined foraging strategies and soldier behaviour in *Nasutitermes* aff. *coxipoensis* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae). *Behav. Processes* 126: 76–81.
- ANDERSSON, M. 1984. The evolution of eusociality. *Annu. Rev. Ecol.* 15: 165–189.
- BASTOLLA, U., M. A. FORTUNA, A. PASCUAL-GARCÍA, A. FERRERA, B. LUQUE, and J. BASCOMPTE. 2009. The architecture of mutualistic networks minimizes competition and increases biodiversity. *Nature* 458: 1018–1020.
- BOGUSCH, P., L. KRATOCHVÍL, and J. STRAKA. 2006. Generalist cuckoo bees (Hymenoptera: Apoidea: *Sphecodes*) are species-specialist at the individual level. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 60: 422–429.
- BONABEAU, E., G. THERAULAZ, J.-L. DENEUBOUNG, and S. ARON. 1997. Self-organization in social insects. *TREE* 12: 188–193.
- BOURGUIGNON, T., and Y. ROISIN. 2006. A new genus and three new species of termitophilous Staphylinids (Coleoptera: Staphylinidae) associated with *Schedorhinotermes* (Isoptera: Rhinotermitidae) in New Guinea. *Sociobiology* 48: 1–13.
- BOURKE, A. F. G., and N. R. FRANKS. 1991. Alternative adaptations, sympatric speciation and the evolution of parasitic, inquiline ants. *Biol. J. Linn. Soc.* 43: 157–178.
- BRANDT, M., S. FOITZIK, B. FISCHER-BLASS, and J. HEINZE. 2005. The coevolutionary dynamics of obligate ant social parasite systems – between prudence and antagonism. *Biol. Rev.* 80: 251–267.
- BRIGHTSMITH, D. 2000. Use of arboreal termitaria by nesting birds in the Peruvian Amazon. *Condor* 102: 529–538.
- BRONSTEIN, J. L. 2001. The costs of mutualism. *Am. Zool.* 41: 825–839.
- CASARIN, F. E., A. M. COSTA-LEONARDO, and A. ARAB. 2008. Soldiers initiate foraging activities in the subterranean termite, *Heterotermes tenuis*. *J. Insect Sci.* 8: 1–5.
- CHESSON, P. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31:

343–366.

- CINI, A., S. SUMNER, and R. CERVO. 2019. Inquiline social parasites as tools to unlock the secrets of insect sociality. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 374.
- CONSTANTINO, R. 1999. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. *Pap. Avulsos Zool.* 40: 387–448.
- COSTA-LEONARDO, A. M. 2002. *Cupins-praga: Morfologia, Biologia e Controle*. Rio Claro.
- COSTA-LEONARDO, A. M., F. E. CASARIN, and J. T. LIMA. 2009. Chemical communication in isoptera. *Neotrop. Entomol.* 38: 747–752.
- COSTA, D. A., R. A. R. DE CARVALHO, G. F. DE LIMA FILHO, and D. BRANDÃO. 2009. Inquilines and invertebrate fauna associated with termite nests of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) in the Emas National Park, Mineiros, Goiás, Brazil. *Sociobiology* 53: 443–453.
- CRISTALDO, P. F., A. P. A. ARAÚJO, C. S. ALMEIDA, N. G. CRUZ, E. J. M. RIBEIRO, M. L. ROCHA, A. S. SANTANA, A. A. SANTOS, A. P. OLIVEIRA, O. DESOUSA, and D. F. FLORENCIO. 2016. Resource availability influences aggression and response to chemical cues in the Neotropical termite *Nasutitermes* aff. *coxipoensis* (Termitidae: Nasutitermitinae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* in press.
- CRISTALDO, P. F., O. DESOUSA, J. KRASULOVÁ, A. JIROŠOVÁ, K. KUTALOVÁ, E. R. LIMA, J. ŠOBOTNÍK, and D. SILLAM-DUSSÈS. 2014. Mutual use of trail-following chemical cues by a termite host and its inquiline. *PLoS One* 9: 1–9.
- CRISTALDO, P. F., V. JANDAK, K. KUTALOVA, V. B. RODRIGUES, M. BROTHANEK, O. JIRICEK, O. DESOUSA, and J. SOBOTNIK. 2015. The nature of alarm communication in *Constrictotermes cyphergaster* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae): the integration of chemical and vibroacoustic signals. *Biol. Open* 4: 1649–1659.
- CRISTALDO, P. F., V. B. RODRIGUES, S. L. ELLIOT, A. P. A. ARAÚJO, and O. DESOUSA. 2016. Heterospecific detection of host alarm cues by an inquiline termite species (Blattodea: Isoptera: Termitidae). *Anim. Behav.* 120: 43–49.
- CRISTALDO, P. F., C. S. ROSA, D. F. FLORENCIO, A. MARINS, and O. DESOUSA. 2012. Termitarium volume as a determinant of invasion by obligatory termitophiles and inquilines in the nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). *Insectes Soc.* 59: 1–8.
- CRUZ, J. S., P. F. CRISTALDO, J. J. M. SACRAMENTO, M. L. R. CRUZ, D. V FERREIRA, and A. P. A. ARAÚJO. 2018. Survivorship and walking behavior of *Inquilinitermes microcerus*

- (Termitidae: Termitinae) in contact with host workers and walls from host nest. *Sociobiology* 65: 31-37.
- CUNHA, H. F., and D. BRANDÃO. 2000. Invertebrates associated with the neotropical termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae). *Sociobiology* 37: 593–599.
- CUNHA, H. F. DA, D. A. COSTA, K. D. E. SANTO FILHO, L. O. SILVA, and D. BRANDÃO. 2003. Relationship between *Constrictotermes cyphergaster* and inquiline termites in the Cerrado (Isoptera: Termitidae). *Sociobiology* 42: 761–770.
- CUNHA, H. F., J. S. LIMA, L. F. SOUZA, L. G. A. SANTOS, and J. C. NABOUT. 2015. No morphometric distinction between the host *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae) and its obligatory termitophile *Corotoca melantha Schiødte* (Coleoptera: Staphylinidae). *Sociobiology* 62: 65–69.
- CUNHA, H. F. DA, and P. P. A. M. MORAIS. 2010. Relação espécie-área em cupinzeiros de pastagem, Goiânia-GO, Brasil. *Entomo Bras.* 3: 60–63.
- DASKIN, J. H., and R. A. ALFORD. 2012. Context-dependent symbioses and their potential roles in wildlife diseases. *Proc. R. Soc.* 279: 1457–1465.
- DECHMANN, D. K. N., S. E. SANTANA, and E. R. DUMONT. 2009. Roost making in bats—Adaptations for excavating active termite nests. *J. Mammal.* 90: 1461–1468.
- DELATTRE, O., D. SILLAM-DUSSÈS, V. JANDÁK, M. BROTHÁNEK, K. RÜCKER, T. BOURGUIGNON, B. VYTISKOVÁ, J. CVAČKA, O. JIŘÍČEK, and J. ŠOBOTNÍK. 2015. Complex alarm strategy in the most basal termite species. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 69: 1945–1955.
- DESOUZA, O., A. P. A. ARAÚJO, D. F. FLORENCIO, C. S. ROSA, A. MARINS, D. A. COSTA, V. B. RODRIGUES, and P. F. CRISTALDO. 2016. Allometric scaling of patrolling rate and nest volume in *Constrictotermes cyphergaster* termites : hints on the settlement of inquilines. *PLoS One* 11: 1–13.
- DIMIJIAN, G. G. 2000. Evolving together: the biology of symbiosis, part 1. *BUMC Proc.* 13: 217–226.
- DRONNET, S., X. SIMON, J. VERHAEGHE, P. RASMONT, and C. ERRARD. 2005. Bumblebee inquilinism in *Bombus (Fernaldaepsithyrus) sylvestris* (Hymenoptera, Apidae): behavioural and chemical analyses of host-parasite interactions. *Apidologie* 36: 59–70.
- DRONNET, S., C. LOHOU, J-P. CHRISTIDES, and A-G. BAGNÈRES. 2006. Cuticular hydrocarbon composition reflects genetic relationship among colonies of the introduced termite *Reticulitermes snatonensis* Feytaud . *J. Chem. Ecology* 32 1027–1042.

- DUARTE, S., F. C. D. P. E. SILVA, D. A. G. ZAULI, J. R. NICOLI, and F. G. ARAÚJO. 2014. Gram-negative intestinal indigenous microbiota from two siluriform fishes in a tropical reservoir. *Brazilian J. Microbiol.* 45: 1283–1292.
- EVANS, T. A., J. C. S. LAI, E. TOLEDANO, L. MCDOWALL, S. RAKOTONARIVO, and M. LENZ. 2005. Termites assess wood size by using vibration signals. *PNAS* 102: 3732–3737.
- FERREIRA, D. V., P. F. CRISTALDO, M. L. C. ROCHA, D. L. SANTANA, L. SANTOS, P. S. S. LIMA, and A. P. A. ARAÚJO. 2018. Attraction and vibration: Effects of previous exposure and type of food resource in the perception of allocolonial odors in termites. *Ethology* 124: 743–750.
- FLORANE, C. B., J. M. BLAND, C. HUSSENER, and A. K. RAINA. 2004. Diet mediated intercolonial aggression in the formosan subterranean termite *Coptotermes formosanus*. *J. Chem. Ecol.* 30: 2559–2574.
- FLORENCIO, D. F., A. MARINS, C. S. ROSA, P. F. CRISTALDO, A. P. A. ARAÚJO, I. R. SILVA, and O. DESOUSA. 2013. Diet segregation between cohabiting builder and inquiline termite species. *PLoS One* 8: e66535.
- GIACOMINI, H. C. 2007. Os mecanismos de coexistência de espécies como vistos pela teoria ecológica. *Oecologia Bras.* 11: 521–543.
- HIGASHI, S., and F. ITO. 1989. Defense of termitaria by termitophilous ants. *Oecologia* 80: 145–147.
- HUGHES, D. P., N. E. PIERCE, and J. J. BOOMSMA. 2008. Social insect symbionts: evolution in homeostatic fortresses. *Trends Ecol. Evol.* 23: 672–677.
- HUGO, H., P. F. CRISTALDO, and O. DESOUSA. 2020. Nonaggressive behavior: A strategy employed by an obligate nest invader to avoid conflict with its host species. *Ecol. Evol.* 10: 8741–8754.
- JONES, J. C., and B. P. OLDROYD. 2006. Nest Thermoregulation in Social Insects. *Adv. Insect Phys.* 33: 153–191.
- KANAO, T., M. MARUYAMA, and W. SAKCHOOWONG. 2010. Two new species of *Aleocharinae* (Coleoptera, Staphylinidae) found in fungus gardens of *Odontotermes termites* (Isoptera, Termitidae, Macrotermitinae) in Khao Yai national park, Thailand. *Zookeys* 49: 77–86.
- LENOIR, A., A. HEFETZ, T. SIMON, and V. SOROKER. 2001. Comparative dynamics of gestalt odour formation in two ant species *Camponotus fellah* and *Aphaenogaster senilis* (Hymenoptera : Formicidae). *Physiol. Entomol.* 26: 275–283.
- LIANG, D., and J. SILVERMAN. 2000. “You are what you eat”: Diet modifies cuticular

- hydrocarbons and nestmate recognition in the Argentine ant, *Linepithema humile*. *Naturwissenschaften* 87: 412–416.
- LIMA, J. T., and A. M. COSTA-LEONARDO. 2012. Tunnelling behaviour of the Asian subterranean termite in heterogeneous soils: Presence of cues in the foraging area. *Anim. Behav.* 83: 1269–1278.
- MARINS, A. 2012. Fatores que propiciam a coabitação de cupinzeiros por diferentes espécies de cupins. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Viçosa
- MATHEWS, A. G. A. 1977. Studies on termites from the Mato Grosso state, Brazil. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- MENZEL, F., and N. BLÜTHGEN. 2010. Parabiocotic associations between tropical ants: Equal partnership or parasitic exploitation? *J. Anim. Ecol.* 79: 71–81.
- MOLNÁR, K., and E. FARKAS. 2010. Current results on biological activities of lichen secondary metabolites: a review. *Zeitschrift für Naturforsch.* 65: 157–173.
- NEPI, M., D. A. GRASSO, and S. MANCUSO. 2018. Nectar in plant–insect mutualistic relationships: From food reward to partner manipulation. *Front. Plant Sci.* 9: 1–14.
- ORTOLANI, I., L. ZECHINI, S. TURILLAZZI, and R. CERVO. 2010. Recognition of a paper wasp social parasite by its host: Evidence for a visual signal reducing host aggressiveness.
- PRESTWICH, G. D. 1984. Defense mechanisms of termites. *Annu. Rev. Entomol.* 29: 201–232.
- QUELLER, D. C., and J. E. STRASSMANN. 2002. The many selves of social insects. *Science.* 80: 296: 311–313.
- REINHARD, J., and M. KAIB. 2001. Trail communication during foraging and recruitment in the subterranean termite *Reticulitermes santonensis*. *J. Insect Behav.* 14: 157–171.
- RODRIGUES, V. B., D. A. COSTA, P. F. CRISTALDO, and O. DESOUSA. 2018. Lagged population growth in a termite host colony: Cause or consequence of inquiline? *Neotrop. Entomol.* 47: 815–820.
- ROSA, C. S., P. F. CRISTALDO, D. F. FLORENCIO, A. MARINS, E. R. LIMA, and O. DESOUSA. 2018. On the chemical disguise of a physogastric termitophilous rove beetle. *Sociobiology* 65: 38–47.
- SACRAMENTO, J. J. M., P. F. CRISTALDO, D. L. SANTANA, J. S. CRUZ, B. V. OLIVEIRA, A. S. TEXEIRA, and A. P. A. ARAÚJO. Soldiers of the termite *Nasutitermes cornigers* (Termitidae: Nasutitermitinae) increase the ability to exploit food resources. *Behavioural Processes* 181: 104272
- SHURIN, J. B., and E. G. ALLEN. 2001. Effects of competition, predation, and dispersal on

- species richness at local and regional scales. *Am. Nat.* 158: 624–637.
- SLEDGE, M. F., F. R. DANI, R. CERVO, L. DAPPORTO, and S. TURILLAZZI. 2001. Recognition of social parasites as nest-mates: adoption of colony-specific host cuticular odours by the paper wasp parasite *Polistes sulcifer*. *Proceedings, Biol. Sci.* 268: 2253–2260.
- ŠOBOTONIK, J., JIROŠAVÁ, A., HANUS, R. 2010. Chemical warfare in termite. *J. Insect. Physio.* 56:1012-1021
- THOMPSON, G. G., and S. A. THOMPSON. 2015. Termitaria are an important refuge for reptiles in the Pilbara of Western. *Pacific Conserv. Biol.* 1–8.
- TIZO-PEDROSO, E., and K. DEL-CLARO. 2014. Social parasitism: emergence of the cuckoo strategy between pseudoscorpions. *Behav. Ecol.* 25: 335–343.
- TRANIELLO, J. F. 1981. Enemy deterrence in the recruitment strategy of a termite: Soldier-organized foraging in *Nasutitermes costalis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 78: 1976–1979.
- TRANIELLO, J. F. A., and R. H. LEUTHOLD. 2000. Behavior and ecology of foraging in termites. *In Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology.* pp. 141–168.
- TURILLAZZI, S., M. F. SLEDGE, F. R. DANI, R. CERVO, A. MASSOLO, and L. FONDELLI. 2000. Social hackers: Integration in the host chemical recognition system by a paper wasp social parasite. *Naturwissenschaften* 87: 172–176.
- WILSON, E. O., and B. HÖLLDOBLER. 2005. Eusociality: Origin and consequences. *PNAS* 102: 13367–13371.

CAPÍTULO 1

Será submetido para Revista Brasileira de Entomologia

Coabitação de *Inquilinitermes microcerus* em ninhos de *Constrictotermes* sp.: um mesmo sistema evoluindo por mecanismos distintos?

JOSEANE S. CRUZ^{1,2}, DANIELA L. SANTANA^{1,2}, AMANDA T. SANTOS¹, PAULO F. CRISTALDO³ & ANA P. A. ARAÚJO¹

¹Laboratório de Interações Ecológicas, Departamento de Ecologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Sergipe, Brasil.

²Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Sergipe, Brasil.

³Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil.

RESUMO. A coexistência de espécies que vivem em interações íntimas, muitas vezes é mantida por meio da evolução de estratégias adaptativas. Ninhos do cupim *Constrictotermes* sp. podem ser coabitados por inquilinos obrigatórios do gênero *Inquilinitermes*. Estudos recentes têm demonstrado que os inquilinos se instalam em ninhos maduros, possivelmente durante a fase de transição de nidificação da colônia (ex. do hábito epígeo para o arborícola). Por outro lado, acredita-se que a manutenção da coabitação seria mantida via segregação espacial dos coabitantes, uma vez que os inquilinos se agregam em seu recurso alimentar, que consiste nas paredes escuras do ninho, restritas à sua região central. Aqui, analisamos o sistema de coabitação *Constrictotermes* x *Inquilinitermes*, na região de Sergipe, Brasil. A coabitação estudada aqui parece ser dependente do tamanho do ninho (> 20,07 L), o que poderia estar relacionado à maturidade da colônia hospedeira. Todos os ninhos encontrados na região são epígeos. Sendo assim, a entrada do inquilino não está relacionada à mudança no hábito de nidificação. Também não foi observada separação nítida das paredes escuras na parte central do ninho. Concluindo, nosso estudo ressalta que um mesmo sistema hospedeiro-inquilino apresenta variações e pode estar evoluindo por meio de mecanismos distintos.

A coexistência local das espécies depende intrinsecamente de suas adaptações às condições abióticas e do resultado das interações interespecíficas, que podem tanto restringir

quanto facilitar o estabelecimento e manutenção das espécies (Valladares et al., 2015) . Ninhos de insetos eussociais – estruturas físicas utilizadas para abrigar suas próprias colônias – consistem em pequenos ecossistemas com condições controladas e/ou estoque de recursos, que se tornam atrativos para organismos invasores ou oportunistas (Costa-Leonardo, 2002; Jones and Oldroyd, 2006; Menzel and Blüthgen, 2010). Nesta restrita escala local, associações interespecíficas íntimas de longa duração (*ex.* inquilinismo) normalmente requerem adaptações ou estratégias específicas. Relações de inquilinismo em ninhos de formigas (Hymenoptera), normalmente são representadas por parasitismo social (Suhonen et al., 2019) e envolvem a evolução de diversas estratégias como mimetismo (Sledge et al., 2001; Turillazzi et al., 2000) ou insignificância química (Lenoir et al., 2001), inibição da agressividade (Ortolani et al., 2010), confundimento ou evitação (Akino, 2008). Por outro lado, a evolução das relações de inquilinismo em cupins (Blattodea), ainda é relativamente pouco compreendida (*mas veja:* Cristaldo et al., 2012, 2014, 2016; Hugo et al., 2020).

Colônias de cupins exibem diferentes aparatos de defesa, que incluem a barreira física do ninho, uma casta morfológicamente diferenciada com defesa química e/ou mecânica (Prestwich, 1984), além da casta de operários capaz de discriminar o perfil químico de indivíduos e exibir agressividade contra intrusos (Queller and Strassmann, 2002). Apesar de tais adaptações, ninhos de cupins são frequentemente coabitados por uma série de outros organismos (Cunha and Brandão, 2000). Os casos mais intrigantes são as relações de inquilinismo obrigatório por cupins do gênero *Inquilinitermes* em ninhos de *Constrictotermes* (Mathews, 1977), os únicos normalmente encontrados em associação com esses hospedeiros. As espécies do gênero *Constrictotermes* possuem distribuição restrita à América do Sul (Constantino, 1999; Krishna et al., 2013) e no Brasil podem ser encontradas nos biomas Cerrado, Amazônia (Constantino, 1999) e Caatinga (Vasconcellos et al., 2007). Colônias de *Inquilinitermes* spp. vivem estritamente dentro desses ninhos, não sendo observado até o

momento forrageio externo. De acordo com Barbosa-Silva et al., (2016), as espécies de *Inquilinitermes* alimentam-se do material excretado por seus hospedeiros, o qual apresenta coloração escura sendo composto por húmus, principalmente, lignina e celulose.

Alguns estudos já tentaram avaliar os fatores relacionados à entrada dos inquilinos no ninho hospedeiro. No Cerrado brasileiro, ninhos de *C. cyphergaster* apresentaram duas fases de nidificação distintas, inicialmente são construídos sobre o solo (fase epígea), com posterior migração para troncos de árvores à medida em que se tornam maduros (fase arborícola) (Mathews, 1977; Vasconcellos et al., 2007). A entrada dos inquilinos poderia ocorrer justamente durante essa migração, quando os ninhos estariam mais vulneráveis (Cristaldo et al., 2012; Vasconcellos et al., 2007). Rodrigues et al., (2018) sugeriram existir um *trade-off* entre defesa \times reprodução, o que tornaria os ninhos maduros menos defendidos e mais propícios à invasão. De fato, Cristaldo et al., (2012) mostraram que a probabilidade de encontrar inquilinos é aumentada em ninhos acima de 13,6L, que já atingiram a fase reprodutiva.

Outros estudos têm mostrado que a permanência dos inquilinos dentro dos ninhos parece estar relacionada à segregação espacial entre as colônias inquilinas e hospedeiras. Cunha et al., (2003) evidenciaram que inquilinos possuem colônias menores em relação ao seu hospedeiro e se localizam restritamente às paredes escuras, bem delimitadas na região central do ninho. Estudos sugerem que a segregação poderia também ocorrer porque os inquilinos parecem repelir seus hospedeiros ou se beneficiar da percepção de suas pistas químicas. Soldados de *I. inquilinus* produzem substâncias químicas repelentes para *C. cavifrons* (Jirošová et al., 2016); enquanto as fezes do inquilino *I. microcerus* parecem ser repelentes para seu hospedeiro *C. cyphergaster* (Hugo et al., 2020). Já Cristaldo et al., (2014, 2016) mostraram que *I. microcerus* reconhece os sinais de trilha e alarme de *C. cyphergaster*, usando-os em benefício próprio para evitar espaços ocupados pelo hospedeiro.

Embora o sistema hospedeiro-inquilino em cupins tenha sido bastante estudado nos últimos anos, tais estudos se restringem ao bioma Cerrado e Caatinga. No presente estudo, descrevemos algumas características do sistema de coabitação entre espécies de *Constrictotermes* ainda não descrita (Constantino R., *comunicação pessoal*) x *Inquilinitermes microcerus*. Especificamente foram investigadas as questões: *i*) Qual o tamanho mínimo do ninho a partir do qual há maior probabilidade de inquilinismo? *ii*) Existem evidências de separação da parte escura do ninho em sua região central?

O estudo foi conduzido município de São Cristóvão (11° 01'S e 37° 12'O), Sergipe, Brasil, inserido no bioma de Mata Atlântica. A altitude local é de 200m acima do nível do mar, enquanto a precipitação e temperatura médias anuais da região são de 1.200 mm e 25°C, respectivamente. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo As' (tropical, com inverno chuvoso e verão seco) (Pidwirny, 2011). O solo do local de coleta apresenta aspecto argiloso-pedregoso, classificado como Argissolo Vermelho-Amarelo com relevo plano a suavemente ondulado (Embrapa 2018). A vegetação apresenta-se esparsa com predomínio de herbáceas e árvores de pequeno porte. Para responder as questões acima, foram amostrados aleatoriamente um total de 45 ninhos ativos de *Constrictotermes* sp., de diferentes tamanhos. O volume dos ninhos foi mensurado de acordo com Cristaldo et al., (2012). Posteriormente, os ninhos foram fragmentados para analisar a distribuição das paredes escuras e foram vasculhados à procura de inquilinos. Os indivíduos encontrados foram coletados, mantidos em álcool 80% e identificados (Constantino, 1999). Os dados foram analisados utilizando modelos lineares generalizados (GLM), a fim de avaliar a relação entre a presença e ausência de inquilinos (variável *y*) com o volume dos ninhos (variável *x*), utilizando-se distribuição de erros Binomial, no software R (R Development Core Team, 2015).

Nossos resultados mostram que 51% dos ninhos de *Constrictotermes* sp. amostrados estavam coabitados por *Inquilinitermes microcerus*. Todos os ninhos amostrados foram

encontrados sobre a superfície do solo, normalmente aderidos às plantas herbáceas do gênero *Lippia* (Fig. 1A). Dessa forma, para o sistema estudado, podemos descartar a hipótese de que a entrada do inquilino ocorre durante a transição do hábito de nidificação epígeo-arborícola, como sugerido para o sistema *C. cyphergaster* x *I. microcerus*. A probabilidade de encontro do inquilino foi aumentada com o volume dos ninhos ($\chi^2 = 27,401$; g.l. = 43; $p < 0,001$). O encontro de inquilinos é mais frequente em ninhos acima de 20,07L (Fig. 2), tamanho ligeiramente maior do que o relatado por Cristaldo et al., (2012) em ninhos de *C. cyphergaster* (=13,6L), no bioma Cerrado.

Ao contrário das observações relatadas em outros estudos (Mathews 1977; Cunha et al., 2003) que mostraram uma concentração central das paredes escuras, aqui foi verificado que tais paredes se distribuem de forma regular em toda a parte interna do ninho (Fig. 1B). Sendo assim, caso exista algum tipo de segregação espacial dentro dos ninhos estudados, esta poderia ocorrer com uma maior proximidade entre as galerias nas quais inquilino e hospedeiro se distribuem, quando comparado aos ninhos já observados em outras regiões. Ainda, inquilinos e hospedeiros foram visualizados transitando livremente por toda a parte do ninho, imediatamente após a fragmentação destes. Porém, em nenhum momento foi verificada agressividade entre as espécies. Por outro lado, Hugo et al., (2020) mostraram que *C. cyphergaster* exibe certo nível de agressividade contra o inquilino *I. microcerus*, o qual não revida aos ataques.

Dentre as diferentes tentativas de elucidar a coabitação de ninhos entre *Constrictotermes* x *Inquilinitermes*, alguns mecanismos foram efetivamente testados, enquanto outros foram apenas hipotetizados. Aqui, ressaltamos que mesmo que tais hipóteses sejam válidas para explicar a coabitação em outras regiões, estas parecem não se aplicar ao presente sistema. Por um lado, a coabitação estudada aqui também é dependente do tamanho do ninho, o que poderia estar relacionado à maturidade da colônia hospedeira (Cristaldo et al., 2012), menor patrulhamento do ninho hospedeiro (DeSouza et al., 2016), ou mesmo à maior aparência

temporal dos ninhos. No entanto, a entrada e manutenção do inquilino não está relacionada à transição de nidificação ou segregação espacial nítida entre paredes do ninho. Concluindo, nosso estudo ressalta que um mesmo sistema hospedeiro-inquilino, apresenta variações e pode estar evoluindo de forma distinta. Estudos futuros poderiam ser direcionados a fim de avaliar as variações nos mecanismos intrínsecos e ambientais envolvidos na coabitação entre *Constrictotermes* sp. e *Inquilinitermes microcerus* em diferentes regiões.

Contribuições

JSC e DLS realizaram as observações nos ninhos. APAA analisou os dados. JSC, DLS e ATS, escreveram o manuscrito. APAA e PFC amostraram dados e revisaram o manuscrito.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Agradecemos a Universidade Federal de Sergipe pelo suporte logístico. Esse estudo foi parcialmente financiado pelo CNPq e CAPES.

Referências

- Akino, T., 2008. Chemical strategies to deal with ants: a review of mimicry, camouflage, propaganda, and phytomimesis by ants (Hymenoptera: Formicidae) and other arthropods. *Myrmecological News* 11, 173–181.
- Barbosa-Silva, A.M., Farias, M.A.A., Mello, A.P. de, Bezerra-Gusmão, M.A., 2016. Lignocellulosic fungi in nests and food content of *Constrictotermes cyphergaster* and *Inquilinitermes fur* (Isoptera , Termitidae) from the semiarid region of Brazil. *Fungal Ecol.* 20, 75–78. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.11.002>
- Constantino, R., 1999. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta:

- Isoptera) que ocorrem no Brasil. Pap. Avulsos Zool. 40, 387–448. <https://doi.org/10.1590/S0031-10492003000600001>
- Costa-Leonardo, A.M., 2002. Cupins-praga: Morfologia, Biologia e Controle. Rio Claro.
- Cristaldo, P.F., DeSouza, O., Krasulová, J., Jirošová, A., Kutalová, K., Lima, E.R., Šobotník, J., Sillam-Dussès, D., 2014. Mutual use of trail-following chemical cues by a termite host and its inquiline. PLoS One 9, 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085315>
- Cristaldo, Paulo F, Rodrigues, V.B., Elliot, S.L., Araújo, A.P.A., 2016. Heterospecific detection of host alarm cues by an inquiline termite species (Blattodea : Isoptera : Termitidae). Anim. Behav. 120, 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2016.07.025>
- Cristaldo, P.F., Rosa, C.S., Florencio, D.F., Marins, A., DeSouza, O., 2012. Termitarium volume as a determinant of invasion by obligatory termitophiles and inquilines in the nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). Insectes Soc. 59, 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00040-012-0249-3>
- Cunha, H.F., Brandão, D., 2000. Invertebrates associated with the neotropical termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae). Sociobiology 37, 593–599. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262002000100004>
- Cunha, H.F., Costa, D.A., Santo Filho, K.D.E., Silva, L.O., Brandão, D., 2003. Relationship between *Constrictotermes cyphergaster* and inquiline termites in the Cerrado (Isoptera: Termitidae). Sociobiology 42, 761–770.
- DeSouza, O., Araújo, A.P.A., Florencio, D.F., Rosa, C.S., Marins, A., Costa, D.A., Rodrigues, V.B., Cristaldo, P.F., 2016. Allometric scaling of patrolling rate and nest volume in *Constrictotermes cyphergaster* termites : hints on the settlement of inquilines. PLoS One 11, 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147594>
- Embrapa 2018. Sistema brasileira de classificação de solos. <https://ainfo.cnptia.embrapa.br>
- Hugo, H., Cristaldo, P.F., DeSouza, O., 2020. Nonaggressive behavior: A strategy employed by an obligate nest invader to avoid conflict with its host species. Ecol. Evol. 10, 8741–8754. <https://doi.org/10.1002/ece3.6572>
- Jirošová, A., Sillam-Dussès, D., Kyjaková, P., Kalinová, B., Dolejšová, K., Jančařík, A., Majer, P., Cristaldo, P.F., Hanus, R., 2016. Smells Like Home: Chemically mediated cohabitation of two termite species in a single nest. J. Chem. Ecol. in press. <https://doi.org/10.1007/s10886-016-0756-1>
- Jones, J.C., Oldroyd, B.P., 2006. Nest thermoregulation in social insects. Adv. In Insect Phys. 33, 153–191. [https://doi.org/10.1016/S0065-2806\(06\)33003-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2806(06)33003-2)

- Krishna, K., Grimaldi, D.A., Krishna, V., Engel, M.S., 2013. Treatise on the Isoptera of the world. *Bull. Am. Museum Nat. Histoy* 377, 1–757.
- Lenoir, A., Ettore, P.D., Errard, C., 2001. Chemical ecology and social parasitism in ants. *Annu. Rev. Entomol.* 46, 573–599.
- Mathews, A.G.A., 1977. Studies on termites from the Mato Grosso state, Brazil. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Menzel, F., Blüthgen, N., 2010. Parabiogenic associations between tropical ants: Equal partnership or parasitic exploitation? *J. Anim. Ecol.* 79, 71–81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01628.x>
- Ortolani, I., Zechini, L., Turillazzi, S., Cervo, R., 2010. Recognition of a paper wasp social parasite by its host: Evidence for a visual signal reducing host aggressiveness. *Anim. Behav.* 80, 683–688. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.07.003>
- Pidwirny, M., 2011. Köppen Climate Classification System.
- Prestwich, G.D., 1984. Defense mechanisms of termites. *Annu. Rev. Entomol.* Vol. 29 29, 201–232. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.29.1.201>
- Queller, D.C., Strassmann, J.E., 2002. The many selves of social insects. *Science* 80: 296, 311–313. <https://doi.org/10.1126/science.1070671>
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. The R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0, Vienna, Austria.
- Rodrigues, V.B., Costa, D.A., Cristaldo, P.F., DeSouza, O., 2018. Lagged population growth in a termite host colony: Cause or consequence of inquiline? *Neotrop. Entomol.* 47, 815–820. <https://doi.org/10.1007/s13744-018-0634-3>
- Sledge, M.F., Dani, F.R., Cervo, R., Dapporto, L., Turillazzi, S., 2001. Recognition of social parasites as nest-mates: adoption of colony-specific host cuticular odours by the paper wasp parasite *Polistes sulcifer*. *Proceedings, Biol. Sci.* 268, 2253–2260. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1799>
- Suhonen, J., Ilvonen, J.J., Nyman, T., Sorvari, J., 2019. Brood parasitism in eusocial insects (Hymenoptera): Role of host geographical range size and phylogeny. *R. Soc.* 374, 1–12. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0203>
- Turillazzi, S., Sledge, M.F., Dani, F.R., Cervo, R., Massolo, A., Fondelli, L., 2000. Social hackers: Integration in the host chemical recognition system by a paper wasp social parasite. *Naturwissenschaften* 87, 172–176. <https://doi.org/10.1007/s001140050697>
- Valladares, F., Bastias, C.C., Godoy, O., Granda, E., Escudero, A., 2015. Species coexistence

in a changing world. *Front. Plant Sci.* 6, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00866>
Vasconcellos, A., Araújo, V.F.P., Moura, F.M.S., Bandeira, A.G., 2007. Biomass and population structure of *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae) in the dry forest of Caatinga, Northeastern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 36, 693–698. <https://doi.org/10.1590/S1519-566X2007000500009>



Fig. 1. Ninhos de *Constrictotermes* sp. amostrados no presente estudo. **A)** Ninho epígeo, aderido à planta herbácea do genero *Lippia*, sobre solo pedregoso. **B)** Ninho com a parede externa, de coloração clara, parcialmente fragmentada, evidenciando a parte interna e escura distribuída de forma dispersa por todo seu interior, em Sergipe, Brasil.

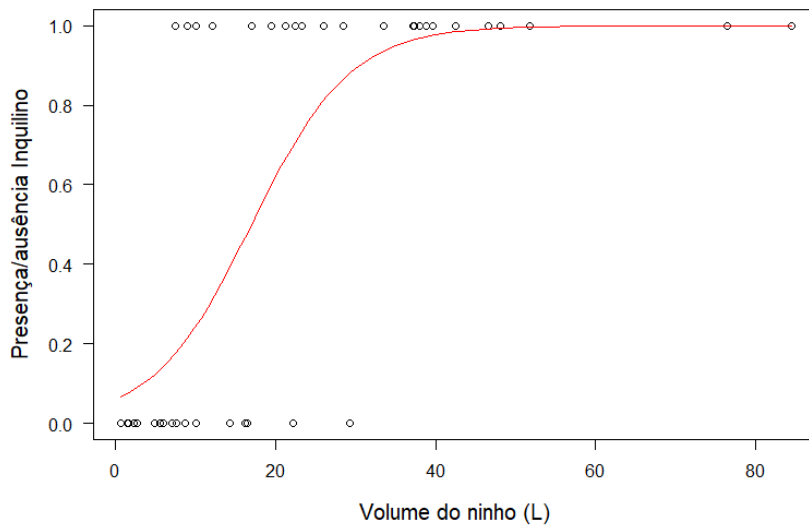


Fig. 2. Efeito do volume do ninho de *Constrictotermes* sp. na presença de *Inquilinitermes microcerus* São Cristóvão, SE, Brasil, 2019-2021. No eixo x, 0 e 1 indicam a ausência e presença de coabitação com inquilinos, respectivamente. A probabilidade de encontro de inquilinos segue a equação logística $\text{Log}(p/q) = -2.75759 + 0.16226v$; onde (p/q) é a razão habitação/ não habitação inquilinos e v é o volume do ninho (L). O volume crítico do ninho acima do qual a probabilidade de habitação inquilina excede 50 % ocorre em 20,07L.

CAPÍTULO 2

Um estranho no ninho: Habituação ou evitação mantêm a relação de inquilinismo obrigatório em ninhos de cupim?

Joseane S. Cruz¹, Daniela L. Santana¹, Amanda T. Santos⁴; Iza M.C. Ventura⁴; Paulo F. Cristaldo²; Leandro Bacci³ & Ana P. A. Araújo^{1,4}

¹Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, Brasil

²Programa de Pós-graduação em Entomologia, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco-PE, Brasil.

³Programa de Pós-graduação em Agricultura e Biodiversidade, Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão-SE, Brasil

⁴Laboratório de Interações Ecológicas, Departamento de Ecologia, Universidade Federal de Sergipe-SE, Brasil.

RESUMO. Colônias de cupins se protegem contra intrusos por meio da estrutura física do ninho, além de um elaborado sistema de reconhecimento de estranhos. No entanto, tal sistema nem sempre impede a coabitação dos ninhos por outras espécies. Estudos sugerem que a relação de inquilinismo obrigatório entre *Inquilinitermes microcerus* e seus hospedeiros *Constrictotermes* sp. parece ser mantida por mecanismos relacionados à uma baixa percepção do inquilino por parte do hospedeiro. Nesse estudo, avaliamos se a coabitação entre *Constrictotermes* sp. e *Inquilinitermes microcerus* pode ser mediada por habituação de pistas ou evitação dentro dos ninhos. Para analisar se há algum tipo de habituação de odores ou de evitação entre coabitantes, analisamos a agressividade e resposta aos odores (intestinal e corporal) entre pareamentos de indivíduos de ambas as espécies provenientes de mesmo e de diferentes ninhos. Nossos resultados mostraram que tanto os inquilinos quanto os hospedeiros morreram mais rapidamente quando em contato. Não foram observados comportamentos agressivos entre hospedeiro x inquilino, sejam provenientes de mesmo ou diferentes ninhos. Os inquilinos mostraram atração para o odor intestinal e corporal do hospedeiro. Por outro lado, os hospedeiros foram atraídos para o odor corporal dos inquilinos. Concluindo, nossos resultados sugerem haver reconhecimento hospedeiro-inquilino, porém com ausência de agressividade. Este resultado poderia ser explicado por camuflagem de odores e evitação por parte do inquilino, assim como habituação de odores por parte do hospedeiro. Esse estudo pode auxiliar no entendimento dos padrões de coexistência de espécies de cupins, na reduzida escala local dos ninhos.

Palavras-chave: agressividade, coabitação, coexistência, comportamento, sinais.

INTRODUÇÃO

A manutenção local de uma espécie depende intrinsecamente de sua capacidade de suportar os filtros bióticos e abióticos (HilleRisLambers *et al.* 2012). A própria ocupação do nicho *per se* muitas vezes gera *feedbacks* que retroalimentam tais filtros, incluindo alterações nas condições abióticas e na natureza das próprias interações (Chesson 2000, HilleRisLambers *et al.* 2012). Em escalas mais estreitas, os organismos podem se envolver em interações interespecíficas mais íntimas e de longa duração, como ocorrem nas simbioses (Dimijian 2000). Tais interações muitas vezes exigem adaptações evolutivas, como a oferta de benefícios mútuos, morfologia específica, percepção de pistas e manipulação fisiológica ou comportamental (Klepzig *et al.* 2009). Animais que constroem ninhos são constantemente confrontados com a presença de outras espécies que são atraídas por seus suprimentos (ex. recurso, abrigo e proteção) (Menzel & Blüthgen 2010). Cupins (Blattodea: Isoptera), por exemplo, apresentam uma ampla diversidade de espécies associadas aos seus ninhos (Cunha & Brandão 2000, Costa *et al.* 2009)

Ninhos de cupins representam a primeira barreira física de defesa contra intrusos, além de permitirem a manutenção da homeostase da colônia, estabilidade das condições de temperatura e umidade, provisão de recursos e coesão colonial (Andersson 1984, Costa-Leonardo 2002, Jones & Oldroyd 2006). Adicionalmente, a defesa pode ocorrer via atividade dos soldados ou de operários capazes de discriminar o odor cuticular entre companheiros e não-companheiros de colônias. Apesar de todo esse sistema defensivo, os ninhos frequentemente abrigam outras espécies (*ex.* termitófilos), incluindo de cupins (inquilinos). A mais intrigante relação de coabitação entre cupins ocorre em ninhos de *Constrictotermes* que são habitados exclusivamente por espécies inquilinas obrigatórias do gênero *Inquilinitermes*. Um dos grandes desafios é entender a coexistência dessas espécies em uma pequena e limitada escala - o interior dos ninhos. Como essa coabitação se mantém? Estudos recentes têm indicado uma baixa agressividade entre as espécies coabitantes, a qual seria possível devido às estratégias

comportamentais do inquilino para se tornarem menos conspícuos ao hospedeiro. Dentre tais estratégias, já foi constatado que os inquilinos: (i) não competem por recurso alimentar, uma vez que se alimentam das fezes de seu hospedeiro (Barbosa-Silva *et al.* 2016); (ii) possuem colônias pequenas que se restringem espacialmente à parte central e escura do ninho, onde há acúmulo de fezes do hospedeiro (Cunha *et al.* 2003); (iii) parecem possuir um perfil químico indetectável pelo hospedeiro (Cristaldo *et al.* 2014); (iv) são capazes de perceber as pistas de alarme e de trilha do hospedeiro, respondendo através de fuga ou evitação de suas galerias (Cristaldo *et al.* 2014, 2016;). Apesar de recentes avanços para o entendimento desse sistema, a classificação dessas relações dentro do possível *continuum* de interações que abrangem a simbiose (parasitismo - comensalismo - mutualismo) ainda consiste em um desafio. Por outro lado, em ninhos de Hymenoptera, existem vários casos de parasitismo social e de coabitação por meio de mimetismo químico, no qual os invasores adquirem o perfil de odores dos seus hospedeiros (Sledge *et al.* 2001, Dronnet *et al.* 2005) através do contato direto com o material do ninho (Singer & Espelie 1992).

A composição de hidrocarbonetos cuticulares é regulada por fatores genéticos (Dronnet *et al.* 2006) e ambientais (Woodrow *et al.* 2000). Uma vez que a dieta do inquilino é provida pelas fezes do hospedeiro, impregnada na parede interna do ninho (Barbosa-Silva *et al.* 2016), a constituição de odores entre hospedeiro-inquilino poderia, em parte, se assemelhar. Estudos realizados com outras espécies de cupins mostraram que o uso de uma dieta semelhante pode promover dois padrões opostos: menor agressividade via similaridade na composição dos hidrocarbonetos cuticulares (Florane *et al.* 2004) ou maior emissão de alarme (*ex.* vibração) o que poderia promover evasão local (Ferreira *et al.* 2018). Adicionalmente, em cupins também já foi constatado habituação de sinais entre diferentes colônias mantidas em íntimo contato (Ferreira *et al.* 2018).

Dessa forma, se *Inquilinitermes microcerus* adquire o odor da colônia hospedeira, seria esperado que o pareamento entre hospedeiro-inquilino de ninhos diferentes resultasse em maior agressividade do que aquele observado entre coabitantes de mesmo ninho, uma vez que haveria habituação estes. Por outro lado, os mecanismos de coexistência entre *Constrictotermes* sp. x *Inquilinitermes microcerus* também poderiam ser mantidos via segregação espacial dentro dos ninhos, como já sugerido em outros estudos (Cunha *et al.* 2003, Cristaldo *et al.* 2012, Cristaldo *et al.* 2014). Nesses casos, a segregação entre coabitantes poderia ocorrer via evitação por parte dos inquilinos (Cristaldo *et al.* 2014), ou ainda por efeito repelente de suas fezes (Hugo *et al.* 2020) ou de substâncias presentes na cabeça do soldado (Jirošová *et al.* 2016).

No presente estudo, analisamos se a coabitação hospedeiro-inquilino poderia ocorrer por mecanismos relacionados à habituação de odores ou por evitação, testando as hipóteses de que: (i) há menor sobrevivência e maior agressividade entre hospedeiro-inquilino provenientes de diferentes ninhos do que entre aqueles de mesmo ninho; e que (ii) odores corporais ou intestinais podem ser repelentes para inquilinos ou hospedeiros. Os testes foram conduzidos em bioensaios manipulativos, com pareamento de hospedeiros e inquilinos provenientes de mesmo e de diferentes ninhos.

MATERIAL & MÉTODOS

Espécies estudadas

Espécies do gênero *Constrictotermes* estão distribuídas na América do Sul (Constantino 1999) e são frequentemente encontradas em ambientes semi-áridos (caatinga) (Vasconcellos *et al.* 2007) e na savana brasileira (Cerrado) (Mathews 1977). Os ninhos de *Constrictotermes* sp. são comumente coabitados por outras espécies, sejam termitófilos e/ou por inquilinos obrigatórios do gênero *Inquilinitermes microcerus* (Mathews 1977, Cunha *et al.* 2003,).

As espécies de *Inquilinitermes* (exceto *I. Jhonchapmani*) são coabitantes exclusivas de ninhos de *Constrictotermes*, sendo obrigatoriamente dependentes dos seus hospedeiros (Mathews 1977). *Inquilinitermes* spp. apresentam colônias menores em relação às colônias de seu hospedeiro e vivem restritas às partes mais internas e escuras do ninho (Cunha *et al.* 2003). De acordo com Barbosa-Silva *et al.* (2016), estes inquilinos se alimentam do material excretado pelo seu hospedeiro, composto por celulose e lignina que se acumula nas galerias internas do ninho.

O sistema estudado aqui, inclui espécies de *Constrictotermes* provavelmente ainda não descritas na literatura (R. Constantino, *comunicação pessoal*). Algumas nítidas diferenças foram observadas entre o sistema hospedeiro-inquilino estudado aqui em relação ao já relatado em outros estudos, como ausência de separação nítida entre parede clara e escura e não-ocorrência de ninhos arborícolas (*para mais detalhes*, ver Cap. 1).

Coleta dos ninhos

Foram coletados 21 ninhos de *Constrictotermes* sp. em coabitação com *Inquilinitermes microcerus*, contendo colônias ativas de ambas as espécies. As coletas foram realizadas em três diferentes locais, no estado de Sergipe, Brasil (municípios de São Cristóvão - 11° 01'S e 37° 12'O, Itaporanga d'Ajuda - 11° 10'S e 37° 26'O; e Estância - 11° 20'S e 37° 37'O), os quais possuem distância mínima de 17km entre si. A altitude média dos locais de coleta é de 200m acima do nível do mar, enquanto a precipitação e temperatura médias anuais da região são de 1.200 mm e 25°C, respectivamente. Segundo a classificação de Köppen, o clima é do tipo As' (tropical, com inverno chuvoso e verão seco) (Pidwirny 2011).

Em cada local, foi mantida uma distância mínima de 30m entre os ninhos amostrados. Os ninhos foram totalmente removidos do campo e mantidos em saco de estopa com algodão umedecido em água, em condições ambientes, por 24h antes da realização dos bioensaios. Os testes foram realizados no Laboratório de Interações Ecológicas, da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Brasil.

Bioensaios

Todos os testes foram realizados em placas de Petri (6 cm de diâmetro e 1,5 cm de altura) com fundo recoberto com papel filtro.

Comportamento e Sobrevivência. Pareamentos de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e de *Inquilinitermes microcerus* (I), provenientes de mesmo e de diferentes ninhos, foram conduzidos a fim de analisar se existe algum tipo de habituação hospedeiro-inquilino.

Pareamentos entre ninhos próximos. Pareamentos entre hospedeiros x inquilinos foram feitos entre grupos de três ninhos de um mesmo local, com seis repetições, totalizando 18 ninhos amostrados. Os pareamentos consistiram em todas as combinações entre colônias incluindo:

seis pareamentos intraespecíficos entre colônias provenientes de mesmo ninho (C x C e I x I); seis pareamentos intraespecíficos (C x C e I x I) entre colônias de ninhos diferentes; três pareamentos interespecíficos (C x I) entre colônias de mesmo ninho; e seis pareamentos interespecíficos (C x I) entre colônias de ninhos diferentes, totalizando 21 pareamentos/repetição (veja Fig. 1A).

Pareamentos entre ninhos distantes. Pareamentos interespecíficos (C x I) entre ninhos diferentes também foram realizados entre combinações de ninhos provenientes de localidades distantes entre si. Para isso foram analisados doze ninhos, com pareamentos a cada seis ninhos, sendo três de cada localidade. O experimento consistiu em um fatorial completo entre todas as combinações hospedeiro-inquilino entre ninhos, totalizando 36 pareamentos (veja Fig. 1B).

Em todos os casos, no interior de cada placa foram introduzidos um total de seis operários em pareamentos interespecíficos (três inquilinos + três hospedeiros) ou intraespecíficos (seis inquilinos ou seis hospedeiros). Os indivíduos utilizados foram previamente marcados na região do pronoto com uma mistura de cola e tinta guache (Marins *et al.* 2017) a fim de discriminar os comportamentos intercoloniais. Os indivíduos foram mantidos por 1 min para aclimação e, em seguida, as placas foram filmadas durante 2 min para análises dos comportamentos. Os vídeos obtidos foram analisados para quantificação dos comportamentos negativos (mordida e luta), positivos (trofalaxia, antenação e *alogrooming*) e de vibração (alarme).

Após as filmagens, as placas foram mantidas em B.O.D., na ausência de luz, à 26° C. O número de indivíduos mortos ao longo do tempo foi registrado diariamente entre 6:00 e 18:00, em intervalos de 1h, até a morte de todos os indivíduos.

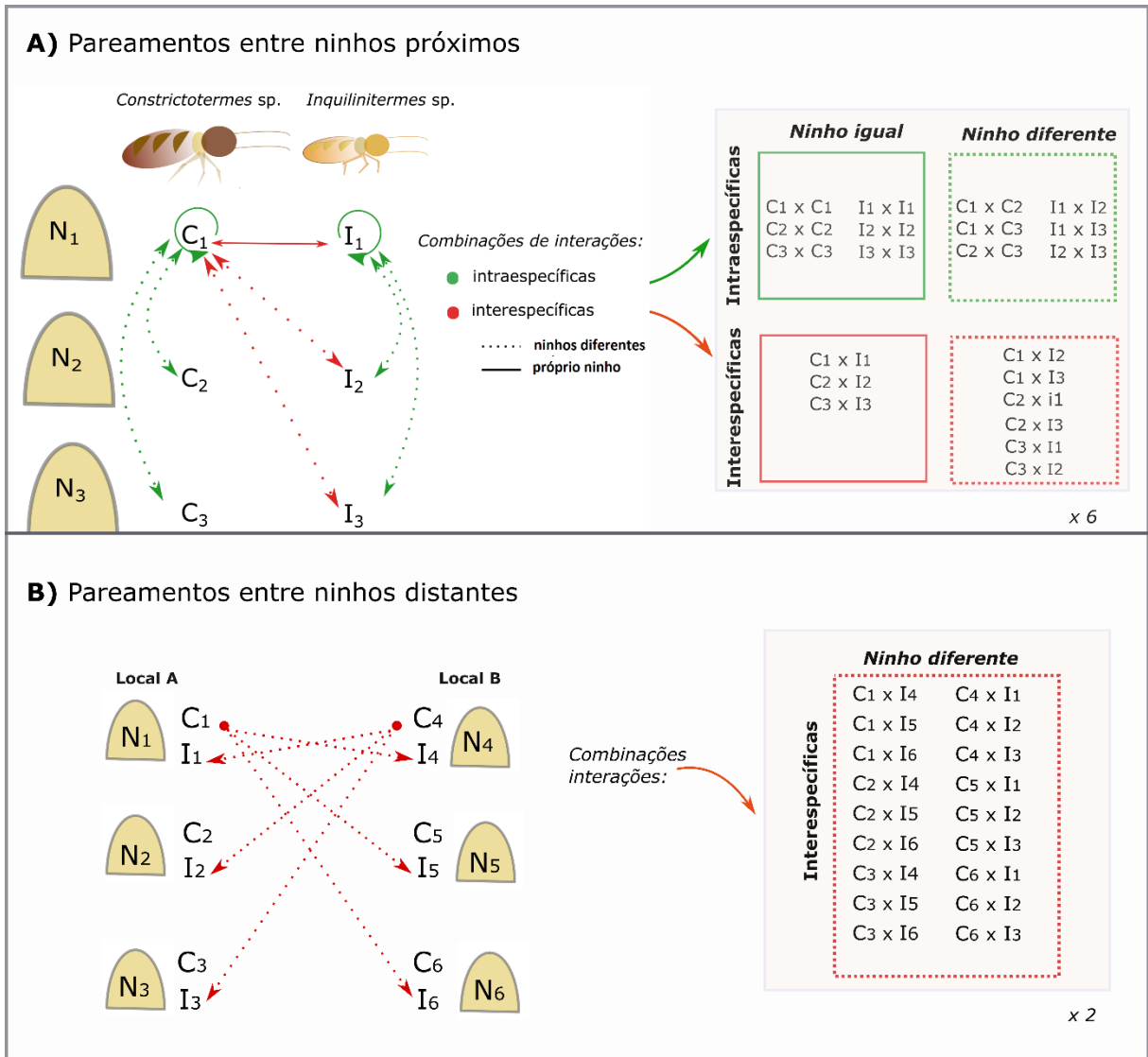


Fig. 1. Esquema de pareamentos de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e *Inquilinitermes microcerus* (I) utilizados nos bioensaios. **A)** Pareamentos entre ninhos próximos foram feitos entre grupos de 3 ninhos cada, analisando os comportamentos intra (C + C ou I + I) e interespecíficos (C + I) entre indivíduos provenientes de mesmo ou diferentes ninhos. **B)** Pareamentos interespecíficos (C + I) realizados entre ninhos distantes, provenientes de diferentes localidades, feitos com dois grupos contendo 6 ninhos cada, sendo três ninhos/local.

Respostas aos odores corporal e intestinal

Bioensaios de escolha de odores foram conduzidos a fim de verificar se há repelência/atração pelos odores intestinais e corporais entre hospedeiros e inquilinos. Foram utilizados quatro ninhos, sendo as combinações de odores inter- e intraespecíficos realizadas entre pares de ninhos. Os testes com odores interespecíficos foram realizados considerando-se a resposta mútua de hospedeiros e inquilinos aos sinais um dos outros, sejam eles provenientes do mesmo ninho ou de diferentes ninhos ($N = 4$ combinações/ espécie/ odor/ bloco). Foram feitas três réplicas para cada tipo de odor testado e espécie, totalizando 96 arenas.

Para a obtenção dos extratos, 105 operários do inquilino e do hospedeiro de cada ninho foram dissecados para a separação completa do intestino (incluindo porção anterior, médio e posterior) e do restante do corpo (sem o intestino). As partes dissecadas foram divididas em três réplicas para cada odor/ ninho. Cada réplica consistiu em partes (intestino ou resto do corpo) de 35 indivíduos, submersas separadamente em 350 μ l de hexano, durante 48 h. Após esse tempo, o volume final do extrato foi mensurado e adicionado hexano até atingir o volume final de 350 μ l.

A arena de escolha consistiu em metade do papel filtro tratada com 100 μ l do extrato do odor (intestino ou resto do corpo) proveniente do mesmo ninho ou de um ninho diferente dos indivíduos testados. A outra metade do papel filtro foi tratada com 100 μ l de hexano (controle). No interior de cada placa foram introduzidos um total de três operários (inquilinos ou hospedeiros).

As arenas foram mantidas em B.O.D., na ausência de luz, à 26° C para quantificar o número de indivíduos em cada lado da placa (tratado ou não-tratado). As observações foram realizadas após 3h e 6h de exposição dos indivíduos.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados foram analisados no software R (R Development Core Team 2015), usando Modelos Lineares Generalizados (GLM) seguidos por análises de resíduos para verificar a adequabilidade dos modelos e a distribuição de erros utilizada. Quando necessário, os modelos foram simplificados extraíndo primeiro as variáveis exploratórias não significativas.

Para verificar se o tempo gasto para mortalidade dos indivíduos em combinações hospedeiros \times inquilinos depende do tipo de combinação (intra- ou interespecífica) e do ninho de origem (próprio ou diferente), os dados foram submetidos à Análise de Sobrevivência, utilizando-se distribuição Weibull. Teste semelhante foi realizado a fim de analisar a variação na mortalidade de hospedeiros e inquilinos provenientes de diferentes ninhos, em função da distância entre os ninhos pareados. Nessas análises cada indivíduo testado entrou no modelo uma única vez, sendo atribuído o $censor = 1$ no tempo de sua morte ou $censor = 0$, para o caso de indivíduos que não morreram ao final do bioensaio.

Análises de Deviancia foram feitas para verificar se há variação nos comportamentos de hospedeiros e inquilinos (variáveis y), separadamente, quando em pareamentos com indivíduos de mesma ou diferente espécie, provenientes de mesmo ou de diferentes ninhos (variáveis x), utilizando-se distribuição de erros Binomial Negativa.

Para testar se hospedeiros e inquilinos são repelidos ou atraídos entre si por seus odores, inicialmente foi analisado se a proporção de indivíduos escolhendo o lado tratado da placa (odor cuticular ou intestinal) depende da origem do ninho ao qual as espécies são provenientes (variável $x =$ ninho igual ou diferente), utilizando distribuição Normal. Posteriormente, foi testado se a proporção de indivíduos (variável y) varia entre os lados tratados e não-trados com os odores (variável x), utilizando-se distribuição de erros Binomial.

RESULTADOS

Comportamento - pareamentos entre ninhos próximos

Grupos de *Constrictotermes* sp. apresentaram variação significativa na agressividade (mordida e luta) entre os tipos de pareamento (Tabela 1). Esses indivíduos exibiram mordidas ($2,47 \pm 0,27$) e lutas ($0,77 \pm 0,12$) apenas contra indivíduos conspecíficos de ninhos diferentes, porém não mostraram nenhum tipo de agressividade entre indivíduos da mesma colônia e nem contra inquilinos, sejam de mesmo ou de diferente ninho. Por sua vez, *Inquilinitermes microcerus* não exibiu agressividade em nenhuma situação, não apresentando assim variação na agressividade (mordida e luta) entre os tipos de pareamentos (Tabela 1).

Ambas as espécies não apresentaram variação no comportamento de vibração entre os tipos de pareamento. Por outro lado, tanto grupos de *Constrictotermes* sp. quanto *Inquilinitermes microcerus* apresentaram maior número médio de antenações em pareamentos intraespecíficos de mesmo ninho (Fig. 2) quando comparados aos pareamentos intraespecíficos (C + C; I + I) entre indivíduos de diferentes ninhos e aos pareamentos interespecíficos (C + I) seja com indivíduos de mesmo ou diferentes ninhos. Em nenhum caso foram observados comportamentos de trofalaxia e *allogrooming*.

Comportamento - pareamentos entre ninhos distantes

Assim como ocorreu nos pareamentos interespecíficos entre ninhos próximos, também não houve nenhuma agressividade (mordida e luta) entre *Constrictotermes* sp. e *Inquilinitermes microcerus* nos pareamentos entre ninhos distantes.

Não foi observada variação nos comportamentos de vibração e antenação entre ninhos próximos e distantes, tanto para *Constrictotermes* sp. (vibração: $F_{1,70} = 2,1$ e $P = 0,14$;

antenação: $F_{1,70} = 0,78$ e $P = 0,37$) quanto para *Inquilinitermes microcerus* (vibração: $F_{1,70} = 2,7$ e $P = 0,09$; antenação: $F_{1,70} = 0,85$ e $P = 0,34$).

Tabela 1. Variação dos comportamentos exibidos por grupos de *Constrictotermes* sp. (C) e *Inquilinitermes microcerus* (I) em função dos tipos de pareamentos dos indivíduos (quatro níveis): pareamentos intraespecíficos: (C + C ou I + I) de ninhos iguais, (C + C ou I + I) de ninhos diferentes; e interespecíficos: (C + I) de ninhos iguais; (C + I) de ninhos diferentes. São Cristóvão, SE, Brasil.

Fonte	df	Variância	P
<i>Constrictotermes</i> sp.			
<i>y = Mordida</i>			
Pareamento	3	143,24	< 0,001
Erro	86	12,02	
<i>y = Luta</i>			
Pareamento	3	45,06	< 0,001
Erro	86	11,90	
<i>y = Vibração</i>			
Pareamento	3	7,11	0,068
Erro	86	68,41	
<i>y = Antenação</i>			
Pareamento	3	207,52	< 0,001
Erro		78,66	
<i>Inquilinitermes microcerus</i>			
<i>y = Mordida</i>			
Pareamento	3	1,60	0,65
Erro	86	3,58	
<i>y = Luta</i>			
Pareamento	3	1,60	0,65
Erro	86	3,58	
<i>y = Vibração</i>			
Pareamento	3	2,26	0,52
Erro	86	22,98	
<i>y = Antenação</i>			
Pareamento	3	15,44	< 0,001
Erro	86	67,19	

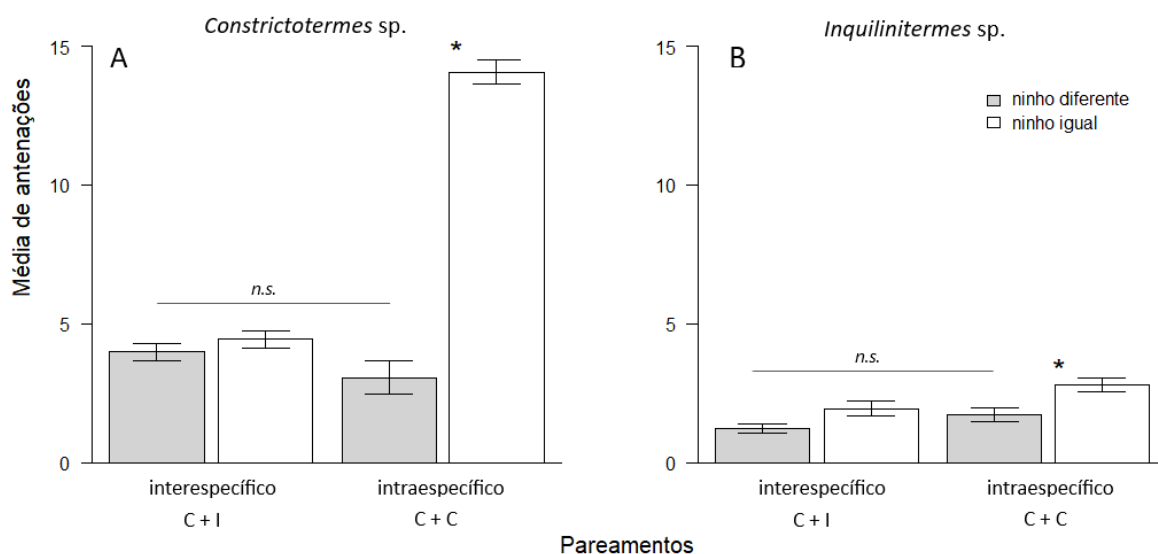


Fig. 2. Médias de antenações executadas por (A) grupos de *Constrictotermes* sp. (C) e de (B) *Inquilinitermes microcerus*(I) em pareamentos interespecíficos (C + C) e intraespecíficos (C + C ou I + I) entre indivíduos provenientes de mesmo ou de diferentes ninhos. * indica diferenças entre tratamentos; n.s. = não significativo.

Sobrevivência

A velocidade de morte de *Constrictotermes* sp. foi maior quando em contato com indivíduos conspecíficos de outras colônias. Por outro lado, a mortalidade desses indivíduos ocorreu mais rapidamente quando em contato com inquilinos (C + I), seja de mesmo ou diferente ninho, do que quando em contato com indivíduos de sua própria colônia (Fig. 3A).

Grupos intraespecíficos de *Constrictotermes* sp. (C + C) apresentaram diferenças significativas no tempo médio para morte entre pareamentos com indivíduos de ninho igual e de ninhos diferentes (Fig. 3A - curvas azuis) ($\chi^2= 139,4$, g.l.= 301, $P < 0,001$). Por outro lado, não houve diferença na mortalidade de *Constrictotermes* sp. quando em pareamentos interespecíficos (C + I) com inquilinos de mesmo ou de diferente ninho (Fig. 3A - curvas vermelhas) ($\chi^2= 0,03$, g.l.= 321, $P < 0,84$).

Grupos de *Inquilinitermes microcerus* apresentaram mais rápida mortalidade quando em contato com hospedeiros (C + I), seja de mesmo ou diferente ninho, do que quando em contato com indivíduos conspecíficos de sua própria colônia ou de colônia diferente (Fig. 3B).

Grupos de *Inquilinitermes microcerus* apresentaram diferenças no tempo médio para morte em pareamentos intraespecíficos (I + I), onde os indivíduos morreram mais rapidamente em pareamentos com outros inquilinos de ninhos diferentes quando comparado aos pareamentos com inquilinos da mesma colônia (Fig. 3B - curvas azuis) ($\chi^2= 25,28$, g.l.= 303, $P < 0,001$). Indivíduos de *Inquilinitermes microcerus* também apresentaram mais rápida mortalidade nos pareamentos interespecíficos (C + I) com *Constrictotermes* sp. de diferentes ninhos quando comparado aos pareamentos com seu próprio hospedeiro (Fig. 3B - curvas vermelhas) ($\chi^2= 4,25$, g.l.= 321, $P < 0,03$).

Nos pareamentos interespecíficos hospedeiro \times inquilino entre ninhos provenientes de diferentes locais, a mortalidade dos indivíduos foi significativamente influenciada pela distância entre os ninhos ($\chi^2= 16,32$, g.l.= 501, $P < 0,01$), porém não houve diferenças entre as espécies ($\chi^2= 0,13$, g.l.= 500, $P < 0,71$) (Fig. 4). Tanto *Constrictotermes* sp. quanto *Inquilinitermes microcerus* morreram mais rapidamente quando em confrontos entre espécies provenientes de ninhos distantes entre si, do que nos confrontos entre ninhos próximos (Fig. 4).

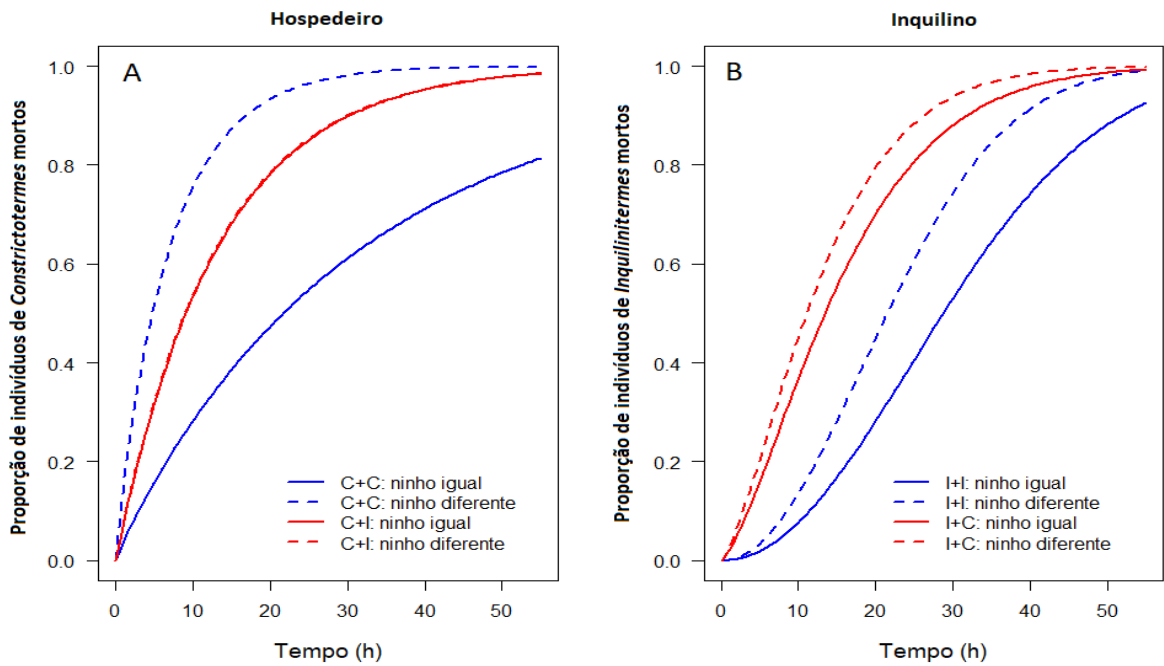


Fig. 3. (A) Proporção de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e (B) de *Inquilinitermes microcerus* (I) mortos ao longo do tempo em pareamentos intraespecíficos (C + C; I + I) e interespecíficos (C + I) provenientes de mesmo ou de diferentes ninhos. Análise de Sobrevivência, Weibull.

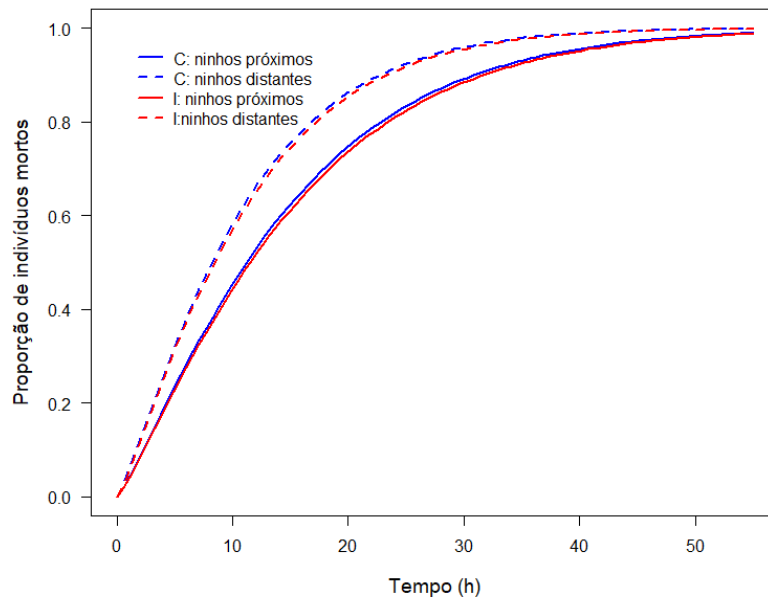


Fig. 4. Proporção de indivíduos de *Constrictotermes* sp. (C) e *Inquilinitermes microcerus* (I) mortos ao longo do tempo em pareamentos interespecíficos (C + I) entre ninhos, provenientes de diferentes locais no estado de Sergipe, Brasil. Análise de Sobrevivência, Weibull.

Resposta do hospedeiro aos odores do inquilino

Odor intestinal. A proporção de indivíduos hospedeiros no lado tratado com o odor intestinal do inquilino não foi influenciada pela origem do inquilino (mesmo ou diferente ninho), após 3 e 6h de exposição ($F_{1,6}=0,65$ e $P = 0,45$; $F_{1,6}=0,36$ e $P = 0,56$, respectivamente). Também não houve variação na escolha do hospedeiro entre o lado tratado e não-tratado com o odor do intestino do inquilino, após 3 e 6h de exposição ($F_{1,14}=0,55$ e $P= 0,47$; $F_{1,14}= 0,88$ e $P= 0,36$, respectivamente) (Fig. 5).

Odor corporal. A proporção de indivíduos hospedeiros no lado tratado com o odor do resto do corpo do inquilino não foi influenciada pela origem do inquilino (mesmo ou diferente ninho), após 3 e 6h de exposição ($F_{1,6}= 0,01$ e $P= 0,90$; $F_{1,6}= 3,17$ e $P= 0,12$, respectivamente). Por outro lado, houve escolha do hospedeiro pelo lado tratado com o odor do resto do corpo do inquilino em relação ao lado não-tratado, após 3 e 6h de exposição ($F_{1,14}= 18,13$ e $P= 0,001$; $F_{1,14}= 5,79$ e $P= 0,03$, respectivamente) (Fig. 5).

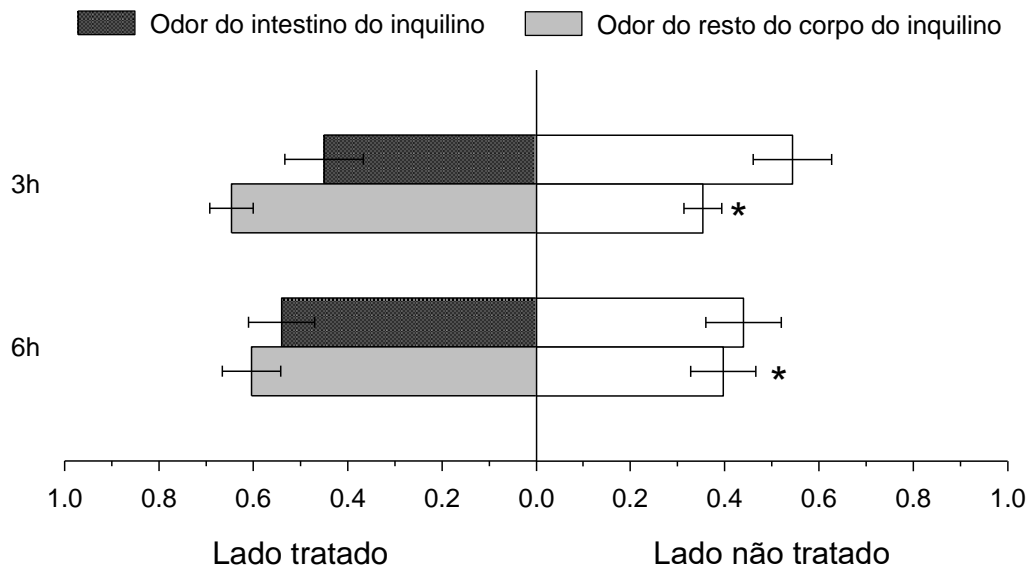


Fig. 5. Escolha do hospedeiro em relação aos lados tratados ou não-tratados em relação ao odor do intestino e do resto do corpo dos inquilinos, após 3h e 6h de exposição. Os hospedeiros não tiveram escolha pelo odor do intestino, porém escolheram os odores do resto do corpo do inquilino em ambos os tempos de exposição. * indica diferenças entre os tratamentos

Resposta do inquilino aos odores do hospedeiro

Odor intestinal. A escolha do inquilino entre os lados tratados e não-tratado com o odor do intestino do hospedeiro não foi influenciada pela origem do hospedeiro (mesmo ou diferente ninho) (3h: $F_{1,6} = 0,65$ e $P = 0,45$; 6h: $F_{1,6} = 0,36$ e $P = 0,45$). Os inquilinos apresentaram maior ocupação no lado tratado pelo odor do intestino do hospedeiro em relação ao lado não-tratado ($F_{1,14} = 38,11$ e $P < 0,001$), após 3h de exposição. Essa seleção, porém, não se manteve após 6h ($F_{1,14} = 3,83$ e $P = 0,07$) (Fig. 6).

Odor corporal. Inquilinos apresentaram maior ocupação no lado tratado pelo odor do resto do corpo do hospedeiro em relação ao lado não-tratado ($F_{1,14} = 44,68$ e $P < 0,001$), após 3h (Fig. 6). Porém, a escolha por essas pistas não se manteve após 6h de exposição ($F_{1,14} = 3,03$ e $P = 0,10$) (Fig. 6).

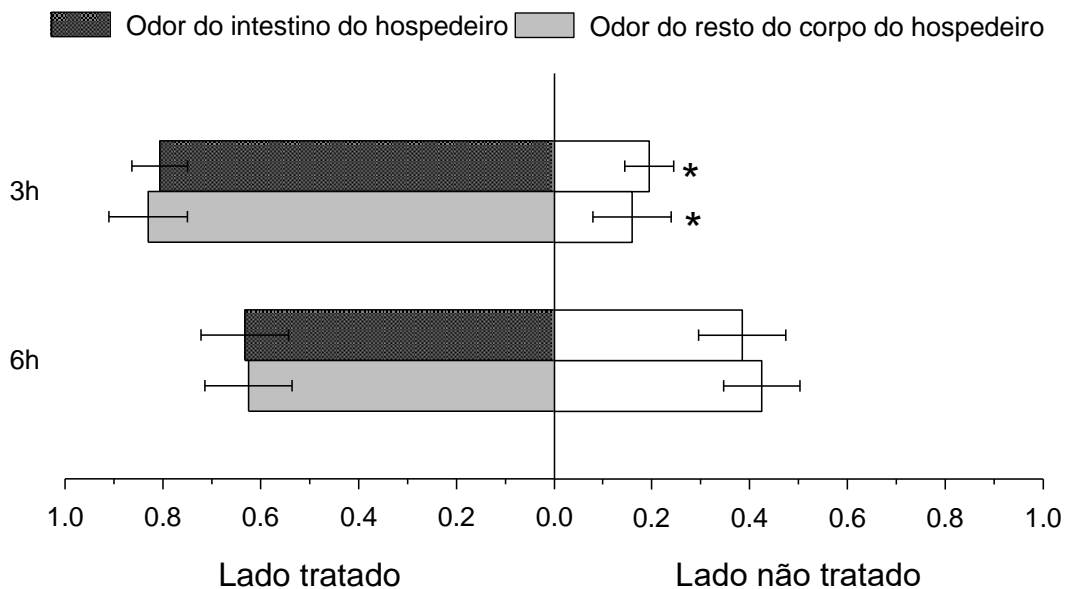


Fig. 6. Escolha do inquilino em relação aos lados tratados ou não-tratados em relação ao odor do intestino e do resto do corpo do hospedeiro, após 3h e 6h de exposição. Os inquilinos escolheram o odor intestinal e corporal do hospedeiro após 3h, porém essa variação não se manteve após 6h de exposição. * indica diferenças entre os tratamentos.

DISCUSSÃO

Em insetos eussociais, a agressividade contra intrusos é uma característica marcante que pode facilitar a sobrevivência e a coesão das colônias. No entanto, relações de inquilinismo são muito comuns nos ninhos desses insetos. Aqui verificamos que apesar da redução da sobrevivência e reconhecimento de pistas por ambas as partes, *Constrictotermes* sp. e seu inquilino obrigatório *Inquilinitermes microcerus* nunca se envolveram em agressões. Provavelmente mecanismos de habituação devido ao contato contínuo dos inquilinos com os restos de seu hospedeiro contribui para uma coabitação pacífica nesse sistema.

Nossos resultados mostraram que ambos coabitantes apresentaram redução significativa na sobrevivência quando em próximo contato (Fig. 3), o que sugere haver algum tipo de percepção mútua entre hospedeiro e inquilino (Fig. 5 e 6). Interessantemente, apesar desse efeito negativo, *Constrictotermes* sp. e *Inquilinitermes microcerus* não mostraram nenhuma reação agressiva entre si (Tabela 1). Comportamento pacífico (Hugo *et al.* 2020) e redução da sobrevivência do inquilino na presença do hospedeiro (Cruz *et al.* 2018) já havia sido relatada anteriormente. Hugo *et al.* (2020) demonstraram que *C. cyphergaster* apresentou comportamentos agressivos contra *I. microcerus*, o qual nunca reagiu. Verificamos que essa passividade do inquilino não necessariamente é uma estratégia frente à ameaça do hospedeiro, uma vez que esses foram pacíficos mesmo com conspecíficos de outros ninhos.

Por outro lado, o que impediria os comportamentos agressivos por parte do hospedeiro apesar de haver percepção do inquilino? Uma hipótese para esse padrão pode estar relacionada às estratégias para evitar confronto entre vizinhos, como proposto pela Hipótese do Querido Inimigo (Fisher, 1954). Esta hipótese propõe que indivíduos podem ser menos agressivos contra seus vizinhos, a fim de reduzir gastos constantes com comportamentos agonísticos (Langen *et al.* 2000). Dentre os mecanismos envolvidos na menor agressividade entre vizinhos está a habituação de odores, que seria uma consequência de encontros frequentes (Langen *et al.* 2000).

Uma alta proximidade hospedeiro-inquilino poderia facilitar a dispersão de odores, permitindo assim a habituação por parte de *Constrictotermes* sp. No sistema estudado, essa maior proximidade poderia ser explicada pelo fato das paredes escuras estarem distribuídas de forma totalmente dispersa dentro do ninho (ver Cap. 1). Aliado a isso, os inquilinos foram atraídos para os odores do conteúdo intestinal e dos restos corporais do seu hospedeiro (Fig. 6), reforçando ainda mais a ideia de que sua distribuição ocorre ao longo das galerias escuras. Essa atração pode resultar em benefícios duplos para o inquilino. Ao mesmo tempo em que são atraídos para seu recurso alimentar, os inquilinos mantêm íntimo contato com os restos corporais e fezes do seu hospedeiro, o que pode lhe conferir a vantagem de se camuflar com o perfil de odores do ninho.

A composição de odores cuticulares é característica para cada colônia de cupins, sendo influenciada tanto por fatores genéticos quanto ambientais, como por exemplo, o tipo de dieta consumida (Florane *et al.* 2004). Sendo assim, poderia haver um confundimento do hospedeiro, que em parte reconhece seu inquilino como um invasor, mas que por outro, também reconhece nos inquilinos odores similares ao de sua colônia. Estudos realizados com outros insetos eussociais, mostraram que a aquisição de odores do ninho hospedeiro consiste em adaptações capazes de impedir o reconhecimento de companheiro de ninho do hospedeiro (Turillazzi *et al.* 2000, Ettore *et al.* 2002). Adicionalmente, ao utilizarem as fezes de seus hospedeiros, os inquilinos poderiam ainda apresentar uma composição de simbiontes intestinais similar àquela do seu hospedeiro (Nalepa 1984, Engel & Moran 2013, Barbosa-Silva *et al.* 2016). De fato, Matsuura (2001) mostrou que bactérias intestinais de *Reticulitermes speratus* foram altamente colônia-específicas e desempenharam papel importante no reconhecimento entre companheiros de ninho. Bactérias presentes nas fezes poderiam se aderir ao corpo dos cupins (Matsuura *et al.* 2001) influenciando assim na aceitação entre indivíduos dentro das colônias. Assim, a

constituição de microrganismos simbiotes poderia, juntamente com fatores endógenos representar papel fundamental na constituição de odores coloniais.

No entanto, se realmente ocorre uma camuflagem de odores pelo inquilino, esta pode ser colônia-específica, uma vez que houve variação na mortalidade dos inquilinos entre pareamentos interespecíficos (C+I) provenientes de mesmo ou diferentes ninhos (Fig. 2). Além disso, fatores exógenos também poderiam interferir na aceitação entre esses indivíduos. Aqui verificamos que confrontos hospedeiro-inquilinos entre ninhos distantes resultaram em mais rápida mortalidade dos indivíduos quando comparado aos confrontos entre ninhos provenientes de um mesmo local (Fig. 3). Isso poderia ser explicado pela maior semelhança na constituição de sinais entre colônias hospedeiras de um mesmo local. Colônias vizinhas de *Constrictotermes* sp. têm mais chances de apresentar maior similaridade genética, assim como consumir dieta mais similar, comparado às colônias distantes. Ainda, existem evidências de que cupins adquirem bactérias durante a exploração do seu recurso alimentar (Waller & LaFage 1985), o que poderia influenciar na composição da microbiota associada a tais ninhos, e conseqüentemente, nos odores de cada colônia (Matsuura 2001). Esse resultado pode ser devido à influência de diferentes fatores exógenos locais (*ex.* dieta e microbiota) sobre a composição e reconhecimento de odores entre hospedeiros e inquilinos provenientes de ninhos distantes.

Concluindo, nosso trabalho mostra existir percepção mútua entre hospedeiro-inquilino, porém sem agressividade. Apesar de haver maior mortalidade do hospedeiro e inquilino em íntimo contato, aqui hipotetizamos que mecanismos como segregação e camuflagem mantêm a coabitação. O hospedeiro percebe o inquilino sendo atraído para seus odores corporais e o inquilino é atraído para os odores intestinais e resto do corpo do seu hospedeiro, possivelmente se refugiando nos sistemas de galerias das paredes escuras. No entanto, o balanço final desta relação, se é baseada em exploração ou se envolve troca de benefícios, ainda permanece uma questão a ser esclarecida.

Conflitos de Interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

Agradecimentos

Agradecemos a Universidade Federal de Sergipe pelo suporte logístico. Esse estudo foi parcialmente financiado pelo CNPq e CAPES.

REFERÊNCIAS

- ANDERSSON, M. 1984. The evolution of eusociality. *Annu. Rev. Ecol.* 15: 165–189.
- BARBOSA-SILVA, A. M., M. A. A. FARIAS, A. P. DE MELLO, A. E. F. DE SOUZA, H. H. M. GARCIA, and M. A. BEZERRA-GUSMÃO. 2016. Lignocellulosic fungi in nests and food content of *Constrictotermes cyphergaster* and *Inquilinitermes fur* (Isoptera, Termitidae) from the semiarid region of Brazil. *Fungal Ecol.* 20: 75–78.
- CHESSON, P. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 31: 343–366.
- CONSTANTINO, R. 1999. Chave ilustrada para identificação dos gêneros de cupins (Insecta: Isoptera) que ocorrem no Brasil. *Pap. Avulsos Zool.* 40: 387–448.
- COSTA-LEONARDO, A. M. 2002. Cupins-praga: Morfologia, Biologia e Controle. Rio Claro.
- COSTA, D. A., R. A. DE CARVALHO, G. F. LIMA-FILHO, and D. BRANDÃO. 2009. Inquilines and invertebrate fauna associated with termite nests of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) in the study area sampling. *Sociobiology* 53: 443–454.
- CRISTALDO, P. F., O. DESOUSA, J. KRASULOVÁ, A. JIROŠOVÁ, K. KUTALOVÁ, E. R. LIMA, J. ŠOBOTNÍK, and D. SILLAM-DUSSÈS. 2014. Mutual use of trail-following chemical cues by a termite host and its inquiline. *PLoS One* 9: 1–9.
- CRISTALDO, P. F., V. B. RODRIGUES, S. L. ELLIOT, A. P. A. ARAÚJO, and O. DESOUSA. 2016. Heterospecific detection of host alarm cues by an inquiline termite species (Blattodea: Isoptera: Termitidae). *Anim. Behav.* 120: 43–49.
- CRISTALDO, P. F., C. S. ROSA, D. F. FLORENCIO, A. MARINS, and O. DESOUSA. 2012. Termitarium volume as a determinant of invasion by obligatory termitophiles and inquilines in the nests of *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). *Insectes Soc.* 59: 1–8.
- CRUZ, J. S., P. F. CRISTALDO, J. J. M. SACRAMENTO, M. L. R. CRUZ, D. V FERREIRA, and A. P. A. ARAÚJO. 2018. Survivorship and walking behavior of *Inquilinitermes microcerus* (Termitidae: Termitinae) in contact with host workers and walls from host nest. *Sociobiology* 65: 31–37.
- CUNHA, H. F., and D. BRANDÃO. 2000. Invertebrates associated with the neotropical termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae). *Sociobiology* 37: 593–599.
- CUNHA, H. F., D. A. COSTA, K. ESPÍRITO-SANTO FILHO, L. O. SILVA, D. BRANDÃO, and K. DO ESPÍRITO-SANTO FILHO. 2003. Relationship between *Constrictotermes cyphergaster* and inquiline termites in the Cerrado (Isoptera: Termitidae). *Sociobiology* 42: 761–770.
- DIMIJIAN, G. G. 2000. Evolving together: the biology of symbiosis, part 1. *BUMC Proc.* 13: 217–226.

- DRONNET, S., C. LOHOU, J. P. CHRISTIDES, and A. G. BAGNÈRES. 2006. Cuticular hydrocarbon composition reflects genetic relationship among colonies of the introduced termite *Reticulitermes santonensis* feytaud. *J. Chem. Ecol.* 32: 1027–1042.
- ENGEL, P., and N. A. MORAN. 2013. The gut microbiota of insects - diversity in structure and function. *Microbiol. Rev.* 37: 699–735.
- ETTORRE, A. P. D., N. MONDY, A. LENOIR, and C. ERRARD. 2002. Blending in with the crowd : Social parasites integrate into their host colonies using a flexible chemical signature. *R. Soc.* 269: 1911–1918.
- FERREIRA, D. V., P. F. CRISTALDO, M. L. C. ROCHA, D. L. SANTANA, L. SANTOS, P. S. S. LIMA, and A. P. A. ARAÚJO. 2018. Attraction and vibration: Effects of previous exposure and type of food resource in the perception of allocolonial odors in termites. *Ethology* 124: 743–750.
- FISHER, J. 1954 Evolution and bird sociality. *In* J Huxley, A. Hardy, and E. Fords (Eds) *Evolution as a Process*.pp. 71-83, Allen & Unwix, London
- FLORANE, C. B., J. M. BLAND, C. HUSSENER, and A. K. RAINA. 2004. Diet mediated intercolonial aggression in the formosan subterranean termite *Coptotermes formosanus*. *J. Chem. Ecol.* 30: 2559–2574.
- HILLERISLAMBERS, J., P. B. ADLER, W. S. HARPOLE, J. M. LEVINE, and M. M. MAYFIELD. 2012. Rethinking community assembly through the lens of coexistence theory. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 43: 227–248.
- HUGO, H., P. F. CRISTALDO, and O. DESOUSA. 2020. Nonaggressive behavior: A strategy employed by an obligate nest invader to avoid conflict with its host species. *Ecol. Evol.* 10: 8741–8754.
- JIROŠOVÁ, A., D. SILLAM-DUSSÈS, P. KYJAKOVÁ, B. KALINOVÁ, K. DOLEJŠOVÁ, A. JANČAŘÍK, P. MAJER, P. F. CRISTALDO, and R. HANUS. 2016. Smells like home: Chemically mediated co-habitation of two termite species in a single nest. *J. Chem. Ecol.* 42: 1070–1081.
- JONES, J. C., and B. P. OLDROYD. 2006. Nest thermoregulation in social insects. *Adv. Insect Phys.* 33: 153–191.
- KLEPZIG, K. D., A. S. ADAMS, J. HANDELSMAN, and K. F. RAFFA. 2009. Symbioses: A key driver of insect physiological processes, ecological interactions, evolutionary diversification, and impacts on humans. *Environ. Entomol.* 38: 67–77.
- LANGEN, T. A., F. TRIPET, and P. NONACS. 2000. The red and the black: Habituation and the dear-enemy phenomenon in two desert *Pheidole* ants. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 48: 285–292.
- MATHEWS, A. G. A. 1977. Studies on termites from the Mato Grosso state, Brazil. *Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro.
- MARINS, A, CRISTALDO, P. F and PAIVA, L. R. 2017. A new approach to mark termites

- (*Cornitermes Cumulans*) (Kollar) Blattodea: Isoptera) for laboratory bioassays. Braz. J Biolo impress
- MATSUURA, K. 2001. Nestmate recognition mediated by intestinal bacteria in a termite, *Reticulitermes speratus*. *Oikos* 92: 20–26.
- MENZEL, F., and N. BLÜTHGEN. 2010. Parabiotic associations between tropical ants: Equal partnership or parasitic exploitation? *J. Anim. Ecol.* 79: 71–81.
- NALEPA, C. A. 1984. Colony composition, protozoan transfer and some life history characteristics of the woodroach *Cryptocercus punctulatus* Scudder (Dictyoptera: Cryptocercidae). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 14: 273–279.
- PIDWIRNY, M. 2011. Köppen Climate Classification System.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM. 2015. R: A Language and Environment for Statistical Computing. The R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0, Vienna, Austria.
- ROSA, C. S., P. F. CRISTALDO, D. F. FLORENCIO, A. MARINS, E. R. LIMA, and O. DESOUSA. 2018. On the chemical disguise of a physogastric termitophilous rove beetle. *Sociobiology* 65: 38–47.
- SINGER, T. L., and K. E. ESPELIE. 1992. Social wasps use nest paper hydrocarbons for nestmate recognition. *Anim. Behav.* 44: 63–68.
- SLEDGE, M. F., F. R. DANI, R. CERVO, L. DAPPORTO, and S. TURILLAZZI. 2001. Recognition of social parasites as nest-mates: adoption of colony-specific host cuticular odours by the paper wasp parasite *Polistes sulcifer*. *Proceedings, Biol. Sci.* 268: 2253–2260.
- TURILLAZZI, S., M. F. SLEDGE, F. R. DANI, R. CERVO, A. MASSOLO, and L. FONDELLI. 2000. Social hackers: Integration in the host chemical recognition system by a paper wasp social parasite. *Naturwissenschaften* 87: 172–176.
- VASCONCELLOS, A., V. F. P. ARAÚJO, F. M. S. MOURA, and A. G. BANDEIRA. 2007. Biomass and population structure of *Constrictotermes cyphergaster* (Silvestri) (Isoptera: Termitidae) in the dry forest of Caatinga, Northeastern Brazil. *Neotrop. Entomol.* 36: 693–698.
- WALLER, D. A., and LAFAGE, J. P. 1985. Nutricional ecology of termites *In*: Stansky, F., Jr and Rodrigues, J. G. (Eds), *Nutricional ecology of insects, mites, spiders and related invertebrates*. Wiley-Interscience, pp. 487-532
- WOODROW, R. J., J. K. GRACE, L. J. NELSON, and M. I. HAVERTY. 2000. Modification of cuticular hydrocarbons of *Cryptotermes brevis* (Isoptera: Kalotermitidae) in response to temperature and relative humidity. *Environ. Entomol.* 29: 1100–1107.