

SINAIS QUÍMICOS DE FORRAGEIOEM *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY, 1855) (TERMITIDAE: NASUTITERMITINAE): DO COMPORTAMENTO A UMA ALTERNATIVA DE CONTROLE

Por

MARILIA RAFAELA PEREIRA DA CRUZ
(Sob Orientação do Professor Paulo Fellipe Cristaldo-UFRPE)

RESUMO

Embora os cupins desempenhem um importante papel no funcionamento dos ecossistemas e no aumento da biodiversidade local, algumas espécies são conhecidas por provocarem impactos negativos nos ambientes urbanos, agrícolas e florestais. O controle de cupins praga muitas vezes é dificultado devido ao seu hábito críptico, complexa organização social e comunicação entre os membros da colônia. Assim o manejo de suas populações poderia ser mais eficaz através do entendimento dos mecanismos de comunicação que estão envolvidos na busca por recursos. Nas últimas décadas, novas abordagens com a utilização de feromônios para o controle de insetos têm surgido, no entanto, estudos direcionados a esse tipo de controle ainda é ausente para insetos pragas de ambientes urbanos. Os feromônios são substâncias não tóxicas, biodegradáveis e geralmente específicas, possibilitando um controle mais ecologicamente viável. Assim, o presente trabalho teve por objetivo geral estudar os sinais químicos envolvidos na comunicação de forrageio, incluindo o papel de pistas químicas intercoloniais. Para isso, bioensaios de trilhas, comportamento e colonização de iscas com diferentes sinais químicos de forrageio foram realizados com diferentes grupos de *N. corniger*. Nossos resultados revelam a complexidade de forrageio de *N.*

corniger, bem como mudança comportamental frente aos sinais intercoloniais e uma maior atratividade de grupos por iscas contendo sinais químicos intercoloniais em comparação com iscas contendo o inseticida imidacloprido. Tais resultados não só contribuem para um melhor entendimento do forrageio de *N. corniger*, mas também para indicar os sinais químicos de forrageio como uma possível alternativa ao uso exclusivo de inseticida para o controle desta praga.

PALAVRAS-CHAVE: Ecologia química, Feromônios, Forrageamento, Termite.

FORAGING CHEMICAL SIGNALS IN *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY,
1855) (TERMITIDAE: NASUTITERMITINAE): FROM BEHAVIOR TO AN
ALTERNATIVE TO CONTROL

por

MARILIA RAFAELA PEREIRA DA CRUZ

(Sob Orientação do Professor Paulo Fellipe Cristaldo)

ABSTRACT

Although termites play an important role in the functioning of ecosystems and in increasing local biodiversity, some species are known to cause negative impacts in urban, agricultural, and forest environments. Controlling pest termites is often hampered due to their cryptic habit, complex social organization, and communication among colony members. Thus the management of their populations could be more effective by understanding the communication mechanisms that are involved in the search for resources. In recent decades, new approaches using pheromones to control insects have emerged, however, studies on this type of control are still lacking for insect pests in urban environments. Pheromones are non-toxic substances, biodegradable and generally specific, allowing a more ecologically viable control. Thus, the overall objective of the present work was study the chemical signals involved in foraging communication, including the role of intercolonial chemical cues. To this, bioassays of trailing, behavior and bait colonization with different chemical foraging signals were conducted with different groups of *N. corniger*. Our results reveal the foraging complexity of *N. corniger*, as well as behavioral change in the face of intercolonial signals and a higher group attractiveness for baits containing intercolonial chemical signals compared to baits containing the insecticide imidacloprid. Such results not only contribute to a better

understanding of the foraging of *N. corniger*, but also to indicate chemical foraging signals as a possible alternative to the exclusive use of insecticide for the control this pest.

KEY WORDS:Chemical ecology, Pheromones, Foraging, Termites.

SINAIS QUÍMICOS DE FORRAGEIO EM *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY,
1855) (TERMITIDAE: NASUTITERMITINAE): DO COMPORTAMENTO À UMA
ALTERNATIVA DE CONTROLE

por

MARILIA RAFAELA PEREIRA DA CRUZ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia, da
Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do
grau de Mestre em Entomologia.

RECIFE - PE

Agosto – 2022

SINAIS QUÍMICOS DE FORRAGEIO EM *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY,
1855) (TERMITIDAE: NASUTITERMITINAE): DO COMPORTAMENTO À UMA
ALTERNATIVA DE CONTROLE

por

MARILIA RAFAELA PEREIRA DA CRUZ

Comitê de Orientação:

Paulo Fellipe Cristaldo-UFRPE

SINAIS QUÍMICOS DE FORRAGEIO EM *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY,
1855) (TERMITIDAE: NASUTITERMITINAE): DO COMPORTAMENTO À UMA
ALTERNATIVA DE CONTROLE

por

MARILIA RAFAELA PEREIRA DA CRUZ

Banca Examinadora:

Ana Paula Albano Araújo - UFS

Fabiana Elaine Casarin dos Santos - UNIFESP

Marilia Rafaela Pereira da Cruz
Mestre em Entomologia

Prof. Paulo Fellipe Cristaldo –
UFRPE
Orientador

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C957s

Cruz , Marilia Rafaela Pereira da
Sinais químicos de forrageio de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky,1855) (Termitidae:Nasutitermitinae): do comportamento a uma alternativa de controle / Marilia Rafaela Pereira da Cruz . - 2022.
70 f. : il.

Orientador: Paulo Fellipe Cristaldo.
Inclui referências.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Recife, 2022.

1. Ecologia química . 2. Feromônios. 3. Forrageamento. 4. Termites . I. Cristaldo, Paulo Fellipe, orient. II. Título

CDD 632.7

DEDICATÓRIA

Ao meu Deus, pelo dom da vida, pela comunhão e pela oportunidade de concluir este ciclo tão sonhado em minha vida. Aos meus amados pais, Noemia Pereira e Carlos Pereira, por todo o amor, investimento e incentivo nos estudos.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) e ao Programa de Pós-graduação em Entomologia (PPGE) pela oportunidade de cursar o mestrado e por todo o apoio para a realização do projeto.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa.

Ao professor Dr. Paulo F. Cristaldo por me orientar neste trabalho, por toda ajuda, conselhos, paciência e dedicação. Aprendi bastante com o professor sou grata por tudo que fez por mim durante o mestrado.

À banca avaliadora, Dra. Ana Paula Albano Araújo e Dra. Fabiana Elaine Casarin dos Santos, por aceitarem o convite para contribuir para a melhoria deste trabalho.

Aos amigos do Laboratório de Ecologia de Insetos, em especial Renan, Cátia e Yuri, pela amizade e por todo empenho e auxílio durante os experimentos. Agradeço também a Larissa e Aline pela ajuda e amizade.

A todos os professores do PPGE pelos conhecimentos compartilhados.

Ao Dr. Wendel José Teles Pontes-UFPE, pela ajuda na correção deste projeto de mestrado e por ser o responsável (ainda na graduação) por eu ter escolhido a Entomologia dentre tantas áreas da Biologia.

Ao meu esposo Floriano Pereira, por todo amor, ajuda e incentivo. Sou muito grata a Deus por tê-lo ao meu lado.

Aos meus familiares e amigos, pelo carinho, orações e por sempre acreditarem em mim.

SUMÁRIO

	Página
AGRADECIMENTOS.....	ix
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	1
LITERATURA CITADA.....	7
2 SINAIS ENVOLVIDOS NO DE FORRAGEIO DE <i>Nasutitermes corniger</i> (MOTSCHULSKY, 1855)(ISOPTERA:TERMITIDAE):PAPEL DAS CASTAS E PERCEPÇÃO INTERCOLONIAL.....	12
RESUMO.....	13
ABSTRACT.....	14
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	17
RESULTADOS.....	22
DISCUSSÃO.....	24
AGRADECIMENTOS.....	28
LITERATURA CITADA.....	29
3 CAN CHEMICAL SIGNALS BE NA ALTERNATIVE TO CONTROL OF <i>Nasutitermes corniger</i> (MOTSCHULSKY, 1855) (TERMITIDAE: NASUTITERMITINAE)?.....	43
ABSTRACT.....	44
RESUMO.....	45
ACKNOWLEDGEMENTS.....	51

AUTHORS CONTRIBUTION.....	51
CONFLICT OF INTEREST STATEMENT.....	51
LITERATURE CITED.....	51
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	60

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO GERAL

Os insetos são considerados os invertebrados terrestres mais importantes do ponto de vista ecológico devido a sua elevada biomassa, diversidade e serviços ecológicos que contribuem para o funcionamento dos ecossistemas (ex. ciclagem de nutrientes, polinização de plantas, controle biológico, dispersão de sementes, manutenção da estrutura e fertilidade dos solos, etc.). Por outro lado, a importância de muitos insetos também se deve a uma série de impactos negativos que causam à agricultura, silvicultura, saúde humana e ambiente urbano (Losey & Vaughan 2006, Rust & Su 2012).

Atualmente, o principal método usado no controle de insetos tem sido a aplicação de inseticidas que, apesar de serem letais aos organismos alvos, podem causar uma série de efeitos prejudiciais, como por exemplo: danos a organismos benéficos (polinizadores, inimigos naturais e artrópodes do solo) e a seleção de insetos resistentes aos inseticidas (Souza *et al.* 2012, Singh *et al.* 2016, Danget *et al.* 2017, Botías & Sánchez-bayo 2018). Além disso, a utilização inadequada e indiscriminada de inseticidas é responsável por causar sérios impactos ambientais como contaminação do solo e dos sistemas aquáticos, além de e riscos diretos e indiretos à saúde humana (Ritter 1990, Van der werf 1996, Moreira *et al.* 2002, Delgado & Paumgartten 2004). Apesar de amplamente utilizado, os inseticidas nem sempre garantem um controle efetivo de insetos, principalmente aqueles presentes em ambientes urbanos. O controle químico para insetos sociais (cupins e formigas), por exemplo, é dificultado devido ao complexo sistema social de suas colônias, os quais incluem: forrageio com transferência de informações; comportamentos elaborados e comunicação que reduzem os riscos de contaminação por patógenos e contaminantes;

além da construção de ninhos policíclicos que dificultam a disseminação de substâncias tóxicas entre os indivíduos (Esparza-Mora *et al.* 2020, Silva *et al.* 2021).

Os cupins ainda possuem o hábito críptico, o que dificulta a localização da colônia, impedindo muitas vezes a eficiência do controle químico (Sands 1973, Boulogne *et al.* 2017). Alternativas de controle mais sustentável e menos danoso ao meio ambiente, incluem, por exemplo, controle biológico, a resistência de plantas aos insetos e o uso de feromônios (Witzgall 2001, Chouvencet *et al.* 2011, Taggar & Gill 2016).

Em insetos, os semioquímicos apresentam um papel crucial tanto na comunicação intraespecífica (quando ocorre entre indivíduos da mesma espécie, feromônios) como na comunicação interespecífica (quando ocorre entre indivíduos de diferentes espécies, aleloquímicos) (Ezzat *et al.* 2020). A importância dos semioquímicos na comunicação dos insetos está relacionada ao fato desses animais utilizarem principalmente pistas químicas para percepção do meio (Bourdereau & Pasteels 2010).

Os feromônios, de um modo geral, são substâncias químicas voláteis produzidas por glândulas exócrinas específicas e que, quando liberados por um indivíduo, geram uma resposta comportamental em outro indivíduo da mesma espécie (Wyatt 2017). Tais substâncias químicas são classificadas segundo os comportamentos que induzem, podendo estar relacionado à cópula (feromônio sexual), agregação (feromônio de agregação), defesa (feromônio de alarme e de ataque), busca por recurso (feromônio de trilha), entre outros (Ezzat *et al.* 2020).

O estudo da ecologia química, particularmente envolvendo feromônios, tem se mostrado uma ferramenta útil na proposta de métodos de controle de insetos praga como alternativa ao uso exclusivo de substâncias tóxicas de amplo espectro (Pickett *et al.* 1997, Norin 2007, Sillam-Dussès 2010). Os feromônios são substâncias não tóxicas, biodegradáveis e geralmente específicas, e por isso, possibilitam um controle ecologicamente viável (Norin 2007, Soroker *et al.* 2015).

Apesar de feromônios (naturais ou sintéticos) serem utilizados, estudos direcionados a esse tipo de controle ainda são escassos para insetos praga, incluindo os cupins e os demais encontrados em ambientes urbanos (Wyatt 2017).

O uso de feromônios no controle de insetos pode ocorrer de três maneiras principais: no monitoramento da praga, no desenvolvimento de armadilhas e na interrupção de comportamentos (reprodução ou forrageamento). Quanto ao uso no monitoramento, ocorre para detectar a presença e a densidade da praga, possibilitando um controle mais adequado. No desenvolvimento de armadilhas, os insetos praga são atraídos e, em seguida, são mortos. Por fim, no método de interrupção de comportamento de acasalamento ou forrageamento, há uma confusão na localização do parceiro sexual e na formação da trilha, respectivamente (Kirsch 1988, Cork *et al.* 2003, Witzgall *et al.* 2010).

O controle de insetos praga por meio de feromônios se aplica mais efetivamente para espécies que são muito dependentes de pistas químicas para localizar parceiros ou recursos alimentares; e que são residentes e com distribuição limitada (Pickett *et al.* 1997, Cork *et al.* 2003). Com base nisso, as espécies de cupins possuem um grande potencial de serem controladas por feromônios, já que as castas estéreis são cegas e necessitam exclusivamente de pistas químicas para localizar recursos alimentares (Gazai *et al.* 2014, Almeida *et al.* 2016, Cristaldo 2018).

Os cupins apresentam um sofisticado sistema de comunicação que envolve sinais químicos responsáveis por atividades importantes da colônia, como por exemplo, a exploração, seleção e a busca por recursos (Cristaldo 2018). Tais sinais são essenciais, uma vez que, as castas estéreis são praticamente cegas e dependentes quase totalmente de sinais químicos para desempenhar suas atividades (Cristaldo 2018). O forrageamento é um comportamento coletivo regulado especialmente por feromônios de trilhas secretados pela glândula esternal e depositado quando o

cupim pressiona o seu abdômen contra o substrato (Traniello 1982, Bordereau & Pasteels 2010, Almeida *et al.* 2016, Cristaldo 2018).

Outras vantagens da utilização de feromônios para controle incluem: o pequeno número de aplicações necessárias por estação, sua alta seletividade (evitando que o controle seja direcionado à organismos não-alvo) e a limitação da supressão da espécie-alvo (a não ser que os predadores ou parasitóides usem o próprio feromônio da praga para localizá-lo) (Pickett *et al.* 1997, Soroker *et al.* 2015). O uso de feromônios no controle de insetos, no entanto, apresenta algumas limitações, tais como: o custo-benefício só é viável se a praga alvo é a principal praga a ser combatida e se a necessidade de a área tratada ser isolada ou grande; a necessidade de conhecimento detalhado sobre a biologia da praga no campo e a possibilidade de que o feromônio utilizado selecione uma mudança na preferência e na produção de feromônios naturais (Pickett *et al.* 1997).

Os feromônios de trilha em cupins possuem um papel duplo, na orientação e no recrutamento durante o forrageamento, principalmente nas espécies de cupins que possuem uma separação total entre o local de nidificação e o recurso alimentar (chamados de ‘*separate-piece*’; Hodotermitidae, Stolotermitidae, Stylothermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae) (Sillam-Dussès 2010). No entanto, feromônios de trilha também são produzidos por espécies nas quais não existe separação total entre o ninho e o recurso alimentar (‘*one-piece*’; Archotermopsidae, Kalotermitidae e algumas espécies de Rhinotermitidae) (Sillam-Dussès 2010). Ainda de acordo com Sillam-Dussès (2010), a presença de feromônios de trilha nas espécies de cupins do tipo ‘*one-piece*’ deve servir para guiar os companheiros de ninhos em pontos de distúrbios, para marcar o local de nidificação ou ainda para localizar novas fontes alimentares.

A natureza dos feromônios de trilhas em cupins já foi identificada em 66 espécies (Sillam-Dussès, 2010, Cristaldo 2018, Cristaldo & Lima, *in press*). Uma característica da natureza dos feromônios de trilha em cupins é a sua parcimônia, sendo identificados apenas nove compostos

divididos em quatro classes químicas (álcoois, aldeídos, hidrocarbonetos e cetona) (Cristaldo 2018). Em cupins do gênero *Nasutitermes*, a mistura de dodecatrienol e neocembreño é o feromônio de trilha mais observado (Sillam-Dussès *et al.* 2010). Ainda segundo Sillam-Dussès *et al.* (2010), o dodecatrienol (substância mais volátil) promove o recrutamento dos indivíduos, enquanto o neocembreño é responsável pela orientação dos cupins do ninho até a fonte de recurso. Em *Nasutitermes corniger* (Motschulsky), um terceiro composto (trinervitatrieno) também foi identificado como feromônio de trilha (Sillam-Dussès *et al.* 2010), porém, seu efeito na sinalização durante o forrageio ainda é desconhecido.

Na grande maioria das espécies de cupins estudadas, o forrageamento é executado primeiramente pelos operários. No entanto, alguns estudos já demonstraram que os soldados podem ter um papel crucial nas fases iniciais da busca por recurso, bem como no recrutamento em massa após a descoberta do recurso (Traniello 1981, Traniello & Busher 1985, Casarin *et al.* 2008, Almeida *et al.* 2016). Recentemente foi demonstrado, por meio de experimentos em laboratório, que a presença de soldados em *N. corniger* aumenta a utilização de fontes alimentares bem como a percepção de mudanças na quantidade de alimento redirecionando os forrageadores para explorar fontes de alimento mais vantajosas (Sacramento *et al.* 2020). De acordo com Almeida *et al.* (2016), a participação de soldados na fase inicial de busca por recurso parece ser comum entre as espécies da subfamília Nasutitermitinae.

O papel preciso da emissão do feromônio de trilha e as respostas a esses sinais pelos soldados de cupins ainda é pouco estudado. No entanto, em espécies do gênero *Nasutitermes*, os soldados demonstraram depositar trilhas mais atraentes do que aquelas depositadas por operários (Arab *et al.* 2006; Almeida *et al.* 2016). Em *N. corniger*, trilhas com extratos de soldados são responsáveis pelo recrutamento apenas de soldados, enquanto trilhas com extratos de operários recrutam tanto operários quanto soldados (Traniello 1981). As diferenças observadas nas respostas das castas ao

feromônio de trilha devem estar relacionadas com diferenças quantitativas no feromônio de trilha produzido por operários e soldados (Cristaldo 2018).

Em *N. corniger*, além dos feromônios de trilha depositados durante o forrageamento, os operários também depositam fezes ao longo das trilhas (Traniello 1981). De acordo com Traniello (1982), as fezes são o principal material estrutural das trilhas de forrageio em *N. corniger*. De fato, alguns estudos indicam que as fezes depositadas nas trilhas de forrageio de *N. corniger* devem servir de orientação após a evaporação das substâncias presentes na glândula esternal (Traniello 1982, Traniello & Busher 1985, Bordereau & Pasteels 2010). De acordo com Gazai *et al.* (2014), trilhas de extrato do corpo inteiro de *N. corniger* induzem uma resposta mais rápida do comportamento de trilha em comparação com extratos do fluído retal e da glândula esternal. Apesar desses estudos, o real papel das fezes no forrageio de *N. corniger* ainda é uma questão em aberto na termitologia.

Nos últimos anos, uma série de estudos tem demonstrado que a percepção e respostas aos sinais químicos de trilha em cupins do gênero *Nasutitermes* pode ser modulada pela disponibilidade de recursos local e pela presença de sinais de colônias da mesma espécie. Em *N. aff. coxipoensis*, Cristaldo *et al.* (2016) mostraram que a disponibilidade de recurso modula a percepção e resposta dos sinais químicos de trilhas de colônias vizinhas. Segundo esses autores, operários de colônias sob baixa e intermediária quantidade de recurso seguem a mesma distância em trilhas da sua própria colônia ou em trilhas de colônias vizinhas. No entanto, operários de colônias sob alta disponibilidade de recursos evitam seguir trilhas com sinais químicos de forrageio de colônias vizinhas. Tais resultados indicam que os sinais químicos de forrageamento de colônias vizinhas podem ser detectados pelos cupins e deve influenciar na seleção de recurso. De fato, um estudo realizado por Silva *et al.* (2021) mostrou que grupos de *N. corniger* preferem colonizar iscas

de cana-de-açúcar com pistas químicas intercoloniais do que iscas com sinais químicos intracoloniais.

Sendo assim, o objetivo dessa dissertação foi estudar os sinais químicos envolvidos na comunicação de forrageio em *N. corniger*, incluindo o papel de pistas químicas intercoloniais. A dissertação foi dividida em quatro capítulos. No capítulo 1 é apresentada uma introdução geral. O capítulo 2 trata-se do artigo-”**Sinais envolvidos no de forrageio de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) (Isoptera:Termitidae): Papel das castas e percepção intercolonial**”- seguintes revistas: *Journal of Insect Behavior*, *Neotropical Entomology* ou *Sociobiology*, no qual mostramos que os sinais da glândula esternal induzem o recrutamento de operários e soldados; e os sinais do fluído retal induzem a orientação dos operários. O capítulo 3 trata-se da nota científica-”**Sinais químicos podem ser uma alternativa no controle *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) (Termitidae; Nasutitermitinae)?**”, no qual mostramos que iscas com pistas intercoloniais, seguida de iscas com pistas intracoloniais são atrativas e podem ser usadas no controle de cupins praga. Por fim, o capítulo 4 traz as considerações finais do trabalho.

Literatura Citada

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& A.P.A. Araújo.2016. Combined foraging strategies and soldier behaviour in *Nasutitermes* aff. *Coxipoensis* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae). *Behavioural Processes* 126:76-8
<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2016.03.006>
<https://doi.org/10.1016/j.beproc.2016.03.006>

Almeida, J.E.M., Alves, S.B., Jr, A.M., Lopes, R.B. 1998. Controle de cupim subterrâneo *Heterotermes Tenuis* (Hogen) com Iscas Termitrap Impregnadas com inseticidas e associadas ao fungo Entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

Boogs, C.L.2009. Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology* 23:27-37.
<https://doi.org/10.1111/j1365-2435.2009.01527.x>

Bordereau, C. & J.M. Pasteels.2010. Pheromones and Chemical Ecology of Dispersal and Foraging in Termites. In: Bignell, D.E., R. Yves & L. Nathan (Eds.). *Biology of Termites: A Modern Synthesis*. Springer.Dordrecht, p.279-320.

Botías, C. & F. Sánchez-bayo.2018. Papel de los plaguicidas em la pérdida de polinizadores. *Revista Ecosistemas* 27: 34-41. <https://doi.org/10.7818/ECOS.1314>

Boulogne, I., R. Constantino., N. Amusant., M. Falkowski., A.M.S. Rodrigues & E. Houel.2017. Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. *J Pest Sci* 90:19-37.<https://doi.org/10.1007/s10340-016-0796-x>

Casarin, F.E., A.M. Costa-Leonardo & A. Arab.2008. Soldiers initiate foraging activities in the subterranean termite, *Heterotermes tenuis*. *J. Insect Sci.* 8:1536-2442. <https://doi.org/10.1673/031.008.0201>

Chouvenc, T., N.Y. Su& J.K. Grace.2011. Fifty years of attempted biological control of termites—Analysis of a failure. *Biol Control* 59: 69-82. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.06.015>

Cocco, A., S. Deliperi& G. Delrio.2012.Potential of mass trapping for *Tuta absoluta* management in greenhouse tomato crops using light and pheromone traps. *Integrated Control in Protected Crops* 80:319-324.

Cork, A., N.Q. Kamal., S.N. Alam., J.C.S. Choudhury & N.S. Talekar.2003. Pheromones and their applications the insect pest control. *Bangladesh J Entomol* 13:1-13.

Cristaldo, P.F., A.P.A. Araújo., C.S. Almeida., N.G. Cruz., E.J.M. Ribeiro., M.L.C. Rocha., A.S. Santana., A.A. Santos., A. Passos., O. De Souza & 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.* (Print) 70:1257-1265.<https://doi.org/10.1007/s00265-016-2134-y>

Cristaldo, P.F 2018. Trail Pheromones in Termites. In: Khan MA, Ahmad W (eds) *Termites and Sustainable Management: Volume 1 - Biology, Social Behaviour and Economic Importance*. Springer International Publishing, Cham, pp 145–158

Cruz, I., M.L.C. Figueiredo., R.B. Silva., I.F. Silva., C.S. Paula., J.E. Faster.2012. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* [Lepidoptera: Noctuidae] larvae in maize. *International Journal of Pest Management* 58:83-90. <https://doi.org/10.1080/09670874.2012.655702>

Dang, K., S.L. Doggett., G.V. Singham & C.Y. Lee.2017. Insecticide resistance and resistance mechanisms in bed bugs, *Cimex* spp. (Hemiptera: Cimicidae). *Parasites vectors* 10:1-31.<https://doi.org/10.1186/s13071-017-2232-3>

Delgado, I.F. & F.J.R. Paumgarten.2004. Intoxicações e uso de pesticidas por agricultores do Município de Paty do Alferes, Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública* 20:180-186. <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2004000100034>

Esparza-Mora, M.A., H.E. Davis., S. Meconcelli., R. Plarre& D.P. McMahon.2020. Inhibition of a Secreted Immune Molecule Interferes With Termite Social Immunity *Front. Ecol. Evol.* 8:75 <https://doi.org/10.3389/fevo.2020.00075>

Ezzat, S.M., J. Jeevanandam., C. Egbuna., R.M. Merghany., M. Akram., M. Daniyal., J. Nisar& A. Sharif.2020. Semiochemicals: A Green Approach to pest and Disease Control. In: *Natural Remedies for Pest, Disease and Weed Control.* Academic Press 1:81-89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819304-4.00007->

Gazai, V., O. Bailez& A.M. Viana-Bailez.2014. Mechanism of Trail Following by the Arboreal Termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Zool. Sci.* 31:1-5. <https://doi.org/10.2108/zsj.31.1>

Junqueira, L.K., Berti Filho, E., Florencio, D.F., Diehl, E.2006. Efficiency of subterranean Baits for termite sampling in *Eucalyptus forests*. *Biokikos* 20: 3-7.

Kirsch, P.1988. Pheromones: Their potential role in control of agricultural insect pests. *American Journal of Alternative Agriculture* 3:83-97. <https://doi.org/10.1017/S0889189300002241>

Losey, J.E & M. Vaughan.2006. The Economic Value of Ecological Services Provided by Insects. *Bio science* 56:311-323. [https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2006\)56\[311:TEVOES\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2006)56[311:TEVOES]2.0.CO;2)

Moreira, J.C., S.C. Jacob., F. Peres., J.S. Lima., A. Meyer., J.J. Oliveira-Silva., P.N. Sarcinelli., D.F. Batista., M. Egler., M.V.C. Faria., A.J. Araújo., A.H. Kubota., M.O. Soares., S.R. Alves., C.M. Moura & R. Curi.2002. Avaliação integrada do impacto do uso de agrotóxicos sobre a saúde humana em uma comunidade agrícola de Nova Friburgo, RJ. *Cien SaudeColet* 7:299-311.

Nagpal, B.N., S.K. Ghosh., A. Eapen., A Srivastava1., M.C. Sharma1., V.P. Singh., B.D. Parashar., S. Prakash., M.J. Mendki., S.N. Tikar., R Saxena., S Gupta., S.N. Tiwari., V.P. Ojha., K. J. Ravindran., K. Ganesan., A.N. Rao., R.S. Sharma., N.R. Tuli., N.K. Yadav., R. Vijayaraghavan., V.K. Dua., A.P. Dash., M.P. Kaushik., P.L. Joshi& N. Valecha.2015. Control of *Aedes aegypti* and *Ae. Albopictus*, the vectors of dengue and chikungunya, by using pheromone C21 with an insect growth regulator: Results of multicentric trials from J Vector Borne Dis 52: 224–231.

Navarro, D.M.A.F., M.M. Murta., A.G Duarte., I.S. Lima., R.R. Nascimento & A.E.G. Sant’Ana.2002. Aspectos práticos relacionados ao uso do Rincoforol, o feromônio de agregação da broca-do-olho-do-coqueiro *Rhynchophorus palmarum* L. (Coleoptera: Curculionidae) no controle de pragas do coqueiro:Análise de sua eficiência em campo. *Quím. Nova* 25:32-36. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422002000100007>

Norin, T.2007. Semiochemicals for insect pest management* Pure Appl. Chem. 79:2129-2136. <https://doi.org/10.1351/pac200779122129>

Pickett, J.A., L.J. Wadhams & C.M. Woodcock.1997. Developing sustainable pest control from chemical ecology. Agric. Ecosyst. Environ 64:149-156 [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(97\)00033-9](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(97)00033-9)

Ritter, W.F.1990. Pesticide contamination of ground water in the United States- A review. J. Environ. Sci. Health B 25:1-29.

Rust, M.K. & N.Y. Su.2012. Managing social insects of urban importance. Annu. Rev. Entomol. 57:355-375.

Sacramento, J.J.M., P.F. Cristaldo., D.L. Santana., J.S. Cruz., B.V.S. Oliveira., A.T. Santos & A.P.A. Araújo.2020. Soldiers of the termite *Nasutitermes corniger* (Termitidae:Nasutitermitinae) increase the ability to exploit food resources. Behav. Processes 181:1-7. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2020.104272>

Sands, W.A.1973. Termites as pests of tropical food crops. Pest Articles & News Summaries 19:167-177. <https://doi.org/10.1080/09670877309412751>

Sillam-Dussès, D., E. Sémon., A. Robert., E. Canello., M. Lenz., I. Valterová& C. Bordereau.2010. Identification of multi-component trail pheromones in the most evolutionarily derived termites, the Nasutitermitinae (Termitidae). Biol J. Linn Soc. Lond 99: 20-27. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01348.x>

Silva, A.N.F., C.R. Silva., R.E.C. Santos., C.C.M. Arce., A.P.A. Araújo & P.F. Cristaldo.2021. Resource selection in Nasute termite: The role of social information. Ethology 1:1-8. <https://doi.org/10.1111/eth.13125>

Singh, V., N. Sharma & S.K. Sharma.2016. A review on effects of new chemistry insecticides on natural enemies of crop pests. Int J.Sci. Environ. Technol 5:4339-4361.

Soroker, V.A., V. Harari& J.R. Faleiro.2015. The role of semiochemicals in date pest management, in: Sustainable Pest Management in Date Palm: Current Status and Emerging Challenges, Springer, pp.315-346.

Souza, C.R., R.A. Sarmiento., M. Venzon., E.C. Barros., G.R. Santos & C.C. Chaves.2012. Impacto f inseticidas on non-target arthropods in watermelon crop. Semina: Ciências agrárias 33:1789-1801.

Taggar, G. & R. Gill. 2016. Host plant resistance in *Vigna sp.* towards whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius): a review. E?ntomol.Gen 36:1-24.

Traniello, J.F.A. & C. Brusher.1985. Chemical regulation of polyethism during foraging in the neotropical termite.J. Chem Ecol 11:319-332.<https://doi.org/10.1007/BF01411418>

Traniello, J.F.A.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.<https://doi.org/10.1073/pnas.78.3.1976>.

Traniello, J.F.A.1982. Population structure and social organization in the primitive ant *Amblyopone pallipes* (Hymenoptera: Formicidae). Psyche 89:65-80.

Van Noordwijk, A.J&de Jong, G.1986.Acquisition and Allocation of Resources: Their influence on variation in life History Tactics. American Naturalist. 128:137-142.<https://doi.org/10.86/284547>

Van der werf, H.M.G.1996. Assessing the impact of pesticides on the environment. Agric Ecosyst Environ 60:81-96. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(96\)01096-1](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(96)01096-1)

Vetter, R.S., J.G. Miller & N.J. Vickers.2006. Mating disruption of carob moth, *Ectomyelois ceratoniae*, with a sex pheromone analog. Southwestern Entomologist 31:33-47.

Witzgall, P., P. Kirsch & A. Cork.2010. Sex pheromones and Their Impact on Pest Management. J. Chem. Ecol. 36:80-100.<https://doi.org/10.1007/s10886-009-9737-y>

Witzgall, P.2001. Pheromones-future techniques for insect control? Pheromones for insect control in Orchards and vineyards 24:114-122.

Wyatt, T.D.2017. Pheromones. Curr. Biol 27:731-745.
<https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.039><https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.06.039>

CAPÍTULO 2

SINAIS ENVOLVIDOS NO FORRAGEIO DE *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY, 1855) (ISOPTERA:TERMITIDAE):PAPEL DAS CASTASE PERCEPÇÃO INTERCOLONIAL¹

MARILIA R. P. DA CRUZ^{1,2}, RENAN E. C. SANTOS², CÁTILA R. SILVA², SARA Y. M.

WATANABE^{1,2}& PAULO F. CRISTALDO^{1,2,*}

¹Programa de Pós-Graduação em Entomologia, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil.

² Laboratório de Ecologia de Insetos, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Brasil.

¹Cruz, M.R.P., R.E.C. Santos., C.R. Silva., S.Y.M.Watanabe&P.F. Cristaldo.Sinais envolvidos no forrageio de *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) (Isoptera:Termitidae):papel das castas e percepção intercolonial. Seguintes revistas: Journal of Insects, Neotropical Entomology ou Sociobiology.

RESUMO - Os insetos sociais possuem um complexo e elaborado sistema de comunicação responsável por mediar diferentes atividades nas colônias. Em cupins, a comunicação química é primordial. Apesar disso, o conhecimento sobre o papel destes sinais químicos ainda é escasso. O presente estudo teve como objetivo analisar o papel dos sinais químicos de forrageio em *Nasutitermes corniger* (Termitidae: Nasutitermitinae), incluindo o efeito das diferentes origens dos sinais, da resposta de grupos com diferentes composições de castas e da percepção intercolonial. Especificamente, testamos as seguintes hipóteses: (i) sinais químicos presentes na glândula esternal (SGE) participam do recrutamento de operários e soldados de *N. corniger*, enquanto que, sinais químicos presentes no fluido retal (RFE) participam da orientação de operários de *N. corniger*; (ii) frente à sinais químicos de forrageio intercolonial os comportamentos coletivos de *N. corniger* são alterados; e (iii) os sinais químicos de forrageio intercolonial possuem atividade atrativa nos grupos de *N. corniger*. Para isso, bioensaios de trilha, comportamento e atração/repelência foram realizados. O SGE desencadeou um maior comportamento de trilha comparado com os demais sinais de forrageio em todos os grupos testados. Além disso, o RFE parece exercer função de orientação enquanto que o SGE parece atuar como um sinal de recrutamento. Por fim, o comportamento e a atratividade dos sinais químicos de forrageio intercolonial foram alterados quando comparados com os sinais químicos de forrageio da própria colônia. Esses resultados aumentam a compreensão da comunicação química de forrageio em Isoptera, reforçando o papel de sinais intercoloniais na atratividade em grupos de *N. corniger*.

PALAVRAS-CHAVE: Atratividade, fluido retal, glândula esternal, comportamento.

CHEMICAL FORAGING SIGNALS IN *Nasutitermes corniger* (MOTSCHULSKY, 1855)
(ISOPTERA: TERMITIDAE): ROLE OF CASTES AND INTERCOLONIAL PERCEPTION

ABSTRACT – Social insects have a complex and elaborate communication system responsible for mediating different activities in the colonies. In termites, chemical communication is primordial. Despite this, knowledge about the role of these chemical signals is still scarce. The present study aimed to analyze the role of chemical foraging signals in *Nasutitermes corniger* (Termitidae: Nasutitermitinae), including the effect of different signal origins, the response of groups with different caste compositions, and intercolonial perception. Specifically, we tested the following hypotheses: (i) chemical signals present in the sternal gland (SGE) participate in the recruitment of workers and soldiers of *N. corniger*, whereas, chemical signals present in the rectal fluid (RFE) participate in the orientation of workers of *N. corniger*; (ii) in the face of intercolonial foraging chemical signals the collective behaviors of *N. corniger* are altered; and (iii) intercolonial foraging chemical signals have attractive activity in *N. corniger* groups. To this end, trail, behavioral, and attraction/repellency bioassays were conducted. SGE elicited greater tracking behavior compared to the other foraging signals in all groups tested. Furthermore, RFE seems to exert orientation function while SGE seems to act as a recruitment signal. Finally, the behavior and attractiveness of the intercolonial foraging chemical signals were altered when compared to the colony's own foraging chemical signals. These results increase the understanding of foraging chemical communication in Isoptera, reinforcing the role of intercolonial signals in attractiveness in groups of *N. corniger*.

KEY WORDS: Attractiveness, rectal fluid, sternal gland, behavior.

Introdução

O comportamento verdadeiramente social envolve um sistema de troca de informação eficiente capaz de permitir a coesão da colônia por meio do reconhecimento entre seus membros; e de permitir a coordenação de atividades, como defesa do ninho e a busca por recursos alimentares (Leonhardt *et al.* 2016). A comunicação nos grupos eussociais fornece informações que reduzem as incertezas sobre determinados aspectos da vida da colônia garantindo seu sucesso evolutivo e ecológico (Seyfarth *et al.* 2010). Os insetos, principalmente formigas e cupins, apresentam os mais complexos e elaborados exemplos de grupos eussociais. Em abelhas e formigas, por exemplo, diferentes sinais são utilizados para a coordenação do forrageamento; inclusive, diferentes intensidades de um mesmo sinal é capaz de modificar o significado e desencadear mudanças comportamentais (Hölldobler & Wilson 1978, Nieh 2010).

Em formigas e abelhas a comunicação pode ocorrer por sinais acústicos/vibracionais, visuais, táteis e/ou químicos (Wilson 1971, Hölldobler & Wilson 1990, 2009, Seeley 1998, Wray *et al.* 2011, Leonhardt *et al.* 2016), enquanto que, em cupins, apesar da comunicação também ocorrer por sinais acústicos/vibracionais, visuais e táteis, é baseada primordialmente por meio de sinais químicos (Costa-Leonardo & Haifig 2010, Richard & Hunt 2013, Leonhardt *et al.* 2016, Cristaldo 2018, Mitaka & Akino 2021). Esse papel dos sinais químicos na comunicação em cupins parece estar relacionado com o hábito críptico e pela ausência de visão nas castas estéreis.

Ao longo da diversificação dos grupos de cupins, a separação total entre nidificação e recurso alimentar, observada nas espécies da família Termitidae, foi acompanhada de uma série de adaptações comportamentais entre os membros das colônias. Nesse grupo de cupins é possível observar uma variedade de estratégias de busca por recurso alimentar que vão desde forrageio por meio de galerias abaixo do solo, construção de túneis que conectam o ninho à fonte de recurso até o forrageio ao ar-livre (Traniello & Leuthold, 2000). Existe ainda o forrageamento combinado, no

qual os indivíduos inicialmente estabelecem trilhas e, após a localização do recurso, constroem túneis conectando o recurso ao ninho (Almeida *et al.* 2016). Esse último tipo de forrageamento parece ser comum entre as espécies de *Nasutitermes*. Além disso, os soldados do gênero *Nasutitermes* possuem um papel efetivo na busca por recurso, participando ativamente na escolha do recurso alimentar (Almeida *et al.* 2016) e sendo responsáveis por tomadas de decisões importantes, como por exemplo, a exploração de diferentes fontes de recurso (Sacramento *et al.* 2020).

A estratégia de forrageio observada nas espécies de *Nasutitermes* é bastante eficiente do ponto de vista energético, como demonstrado recentemente por Almeida *et al.* (2018). No entanto, essa estratégia deve requerer uma elaborada e complexa comunicação envolvendo os sinais químicos de forrageio. De fato, Traniello (1982) e Traniello & Busher (1985) demonstraram uma certa especificidade dos sinais presentes na glândula esternal das castas de operários e soldados de *N. corniger* (Motschulsky, 1855) (Termitidae: Nasutitermitinae); bem como uma alta persistência de orientação nas trilhas contendo os sinais da glândula esternal. Além disso, a comunicação de forrageio ocorre também pela deposição de fezes ao longo a trilha (Traniello 1981, 1982). Sendo assim, é bastante provável que após a evaporação dos feromônios de trilha presentes na glândula esternal, sinais químicos presentes no fluido retal também possam servir de comunicação entre os cupins durante o forrageio (Gazaiet *al.* 2014). Outro fato bastante intrigante na comunicação dos sinais químicos de forrageio em *N. corniger* é a presença de multicomponentes (mistura de dodecatrienol e neocembreno) no feromônio de trilha dessa espécie (Sillam-Dussès *et al.* 2010).

Apesar dessa série de indicativos sobre a complexidade da comunicação dos sinais químicos de forrageio em *N. corniger*, até o presente momento, poucos estudos avaliaram a complexidade da comunicação dos sinais químicos de forrageio em cupins, incluindo os sinais químicos das diferentes castas e as respostas destas a tais estímulos. Além disso, pouco se sabe sobre como os

sinais químicos de forrageio intercolônias (diferentes colônias da mesma espécie) podem modular as respostas comportamentais em *N. corniger*. Desta forma, o presente estudo teve como objetivo analisar o papel dos sinais químicos de forrageio em *N. corniger*, incluindo o efeito das diferentes origens dos sinais químicos, da resposta de grupos com diferentes composições de castas e da percepção intercolonial. Especificamente, testamos as seguintes hipóteses: (i) sinais químicos presentes na glândula esternal (SGE) participam do recrutamento de operários e soldados de *N. corniger*, enquanto que, sinais químicos presentes no fluido retal (RFE) participam da orientação de operários de *N. corniger*; (ii) frente à sinais químicos de forrageio intercolonial os comportamentos coletivos de *N. corniger* são alterados; e (iii) os sinais químicos de forrageio intercolonial possuem atividade atrativa nos grupos de *N. corniger*. Esperamos que os resultados obtidos no presente trabalho possam aumentar a compreensão sobre a comunicação química de forrageio em Isoptera e reforçar o papel de sinais intercoloniais na atratividade em grupos de *N. corniger*.

Material e Métodos

Cupins. Ninhos com colônias ativas de *N. corniger* ($N=17$) foram coletadas no *campus* SEDE da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) ($8^{\circ}04'03''S$, $34^{\circ}55'00'' O$), localizada no município de Recife, Pernambuco, Brasil. O clima na região é caracterizado como “subtropical úmido ou subúmido” (A_w) com temperatura média anual de $25,7^{\circ}C$ e precipitação média anual de 988 mm (Climate 2021).

A autorização para as coletas dos cupins foi emitida pelo ICMBio-IBAMA (#47652). Nenhuma licença específica foi necessária para os experimentos descritos, os quais foram realizados no laboratório com uma espécie não ameaçada ou protegida.

No Laboratório de Ecologia de Insetos da UFRPE os ninhos foram acondicionados separadamente em caixas plásticas com tampa (50 cm diâmetro x 20 cm altura), e mantidos no escuro, sob condições controladas (25-27°C, UR 60±5%), por no máximo 24h até a realização dos experimentos. Durante a manutenção das colônias, algodão embebido em água e iscas de cana-de-açúcar foram ofertados como recurso alimentar.

Os espécimes foram identificados com base na literatura (Constantino *et al.* 2002) e por meio de comparação com material depositados no Museu de Termitologia do Laboratório de Ecologia de Insetos da UFRPE. Após a identificação dos espécimes, os vouchers foram depositados no Museu de Termitologia do Laboratório de Ecologia de Insetos da UFRPE.

Extratos com sinais químicos de forrageio de *N. corniger*. Os extratos de corpo inteiro (WBE), fluido retal (RFE) e da glândula esternal (SGE) de operários e soldados de *N. corniger* (Fig. 1A) foram preparados seguindo a metodologia de extração descrita por Cristaldo *et al.* (2014). As dissecações dos intestinos e das glândulas esternais foram realizadas com pinça esterilizada sob lupa estereoscópica. A extração do fluido retal foi realizada a partir da dissecação do intestino posterior. A extração da glândula esternal foi realizada a partir da dissecação dos 4º e 5º esternitos de indivíduos de cada casta. Em ambas as dissecações, os indivíduos foram imobilizados à frio. Resumidamente, 50 unidades de origem de cada extrato (*i.e.* indivíduos, intestinos ou glândulas esternais) foram imersos em solvente hexano (10 µl por unidade) durante 24 horas sob temperatura de 4 °C. Após esse período, o volume do extrato concentrado foi quantificado e uma nova alíquota de hexano (10 µl por unidade) foi adicionada. As amostras finais foram acondicionadas a -18 °C e utilizadas para os ensaios comportamentais.

De cada uma das 17 colônias foram feitos extratos WBE, FE e SGE de soldados e operários (N = 6 tipos de extratos). Para isso, foram feitas 10 repetições para cada tipo de extrato/

colônia, totalizando 1020 extratos. Cada extrato foi feito separando grupos contendo 50 operários ou 50 soldados. Nos experimentos de comportamento e atração/repelência, os extratos foram testados em grupos de cupins da sua respectiva colônia (controle) e em grupos de cupins de diferentes colônias da mesma espécie (pistas intercoloniais).

Os bioensaios com todos os extratos foram realizados com a concentração de 0.01 μL . Essa concentração foi escolhida por induzir, em testes preliminares, uma melhor atividade de seguimento de trilha tanto em operários como soldados (dados não mostrados).

Avaliação dos sinais químicos de forrageio por grupos de *N. corniger*. Experimentos de trilha sem e com chance de escolha foram realizados a fim de testar o efeito dos extratos de sinais químicos de forrageio (WBE, RFE e SGE) e sua origem (operários e soldados) na percepção, orientação e aceitação de grupos de *N. corniger*. Para cada um dos extratos de sinais químicos de forrageio extraídos de operários e soldados de *N. corniger*, os bioensaios de trilha foram realizados com três diferentes grupos por colônia: i) dez operários (WG), ii) dez soldados (SG) e iii) grupo misto (cinco operários e cinco soldados) (MixG) (Fig. 1B).

Os bioensaios consistiram em trilhas lineares de 10 cm desenhadas com lápis sobre papel filtro (ver detalhes em Cristaldo *et al.* 2014) (Fig. 1C). Em cada trilha, 10 μL do extrato foram colocados com auxílio de uma microseringa Hamilton[®]. Após a evaporação do extrato, o grupo de cupim a ser testado foi acondicionado na câmara de liberação (placa de Petri de 3 cm de diâmetro com uma abertura lateral de 2 mm de largura) posicionada na base da trilha linear. Em seguida, a distância percorrida pelo primeiro indivíduo do grupo que seguiu a trilha foi registrada. Nos bioensaios com grupo misto, além da distância percorrida foi registrado a casta. Para cada tratamento (extratos sinais químicos de operários e soldados) nos grupos testados (operários,

soldados e grupos misto), uma nova trilha foi preparada em um novo papel filtro. Para cada grupo testado e combinação de extratos x origem do sinal foram realizadas três repetições por colônia (N= 10), totalizando 270 ensaios.

Bioensaios de trilha com chance de escolha (formato em Y) foram realizados em laboratório, com diferentes grupos de *N. corniger*, a fim de testar a aceitação dos diferentes sinais químicos de forrageio extraídos de operários e soldados. Para isso, trilhas em forma de Y foram desenhadas com lápis em discos de papel filtro (ver detalhes em Cristaldo *et al.* 2014). A trilha em Y (base 3 cm), possuía 10 cm com ângulo de 120° entre cada braço (7 cm) (Fig. 1D). Os extratos (10 µL de cada extrato testado) foram colocados na trilha com auxílio de uma microseringa Hamilton®. Após a evaporação do extrato, o grupo de *N. corniger* foi acondicionado em câmara de liberação na base do Y. A escolha do primeiro indivíduo por um dos extratos presentes em cada braço foi registrada.

Neste bioensaio, foi testado a escolha dos diferentes grupos apenas pelos sinais químicos provenientes do fluído retal (RFE) e da glândula esternal (SGE). Desta forma, todas as combinações possíveis entre esses dois sinais químicos (RFE e SGE) extraídos de operários e soldados foram testados (ver Fig. 1D). Para cada grupo testado e combinação de extratos x origem do sinal foram realizadas três repetições por colônia (N=10), totalizando 360 ensaios.

Efeitos dos sinais químicos de forrageio intercoloniais em grupos de *N. corniger*. Nesses experimentos foram testadas as respostas comportamentais e de atração/repelência dos grupos de *N. corniger* expostos aos sinais químicos de forrageio intercoloniais. Os extratos testados foram os mesmos dos experimentos anteriores, porém, provenientes da própria colônia (controle) e de outra colônia da mesma espécie (sinais intercoloniais).

Nos ensaios sem chance de escolha, cada réplica consistiu em placas de Petri (60 x 15 mm) forradas com papel filtro tratado com 10 μ L dos tratamentos (WBE, RFE e SGE de operários ou soldados da própria colônia ou intercolonial). Após a evaporação dos extratos, um grupo com 10 indivíduos (oito operários e dois soldados) foi colocado no centro da placa e os comportamentos exibidos entre os indivíduos do grupo foram registrados durante 15 minutos, por dois observadores. Os comportamentos avaliados foram: (1) antenação, (2) trofalaxia (proctodeal e estomodeal), (3) grooming (auto- e allogrooming), (4) vibração, (5) mordida, (6) luta e (7) evitação. Para cada combinação de extrato (WBE, RFE e SGE) \times origem do extrato (operários ou soldados) \times tipo de sinal (controle e intercolonial) foram realizadas três repetições por colônia ($N=7$), totalizando 420 ensaios.

Análises Estatísticas. As análises estatísticas foram realizadas utilizando Modelos Lineares Generalizados (GLMs) no programa estatístico R (R Development Core Team 2019). Em todos os casos, Análise de Resíduo foi realizada a fim de verificar a adequabilidade dos modelos testados e a distribuição escolhida. A simplificação dos modelos foi realizada, quando necessário, através da extração da variável explanatória não significativa ($P > 0.05$). As diferenças dentro dos tratamentos foram testadas por meio de Análise de Contraste seguindo recomendações de Crawley (2012). Em todas as análises, a média de cada colônia em cada um dos tratamentos foi utilizada como uma repetição verdadeira.

A fim de verificar o efeito dos diferentes extratos de sinais químicos de forrageio (WBE, RFE e SGE) ($x-var_1$) e da origem desses sinais (operários e soldados) ($x-var_2$) na distância percorrida nas trilhas lineares ($y-var$), os dados foram submetidos à Análise de Deviancia

(ANODEV) com distribuição de erros Gaussiana. Uma análise independente foi realizada para cada tipo de grupo de cupins testado (WG, SG e MixG).

A fim de verificar o efeito dos diferentes extratos de sinais químicos de forrageio (WBE, RFE e SGE) ($x-var_1$) e da origem desses sinais (operários e soldados) ($x-var_2$) na proporção de escolha ($y-var$) durante os bioensaios de trilha em Y, os dados foram submetidos a ANODEV com distribuição de erros Binomial; corrigido, quando necessário, para sobredispersão. Uma análise independente foi realizada para cada grupo testado (WG, SG e MixG).

A fim de verificar o efeito dos diferentes extratos de sinais químicos (WBE, RFE e SGE; operários e soldados) ($x-var_1$) e da origem desses sinais (próprio e intercolonial) ($x-var_2$) nos comportamentos coletivos da colônia ($y-var$), os dados foram submetidos a ANODEV com distribuição de erros Gaussiana. Uma análise independente foi realizada para cada comportamento observado bem como para cada tipo e origem do extrato testado.

Resultados

Percepção, orientação e aceitação dos sinais químicos de forrageio de *N. corniger* por grupos com diferentes composições de casta. Todos os grupos (WG, SG e MixG) seguiram as trilhas lineares feitas com os extratos dos sinais químicos de forrageio (*i.e.* WBE, RFE e SGE), independente da sua origem (operários ou soldados) (Tabela, 1). O extrato dos sinais químicos teve efeito significativo na distância percorrida pelos indivíduos nas trilhas lineares, em todos os grupos testados (Tabela 1; Fig. 2). O SGE foi mais eficiente em induzir o caminhamento na trilha comparado com o RFE e o WBE (Fig. 2). No entanto, em nenhum dos grupos, houve diferença

significativa da origem do sinal químico (operários ou soldados) na distância percorrida pelos indivíduos nas trilhas lineares (Tabela, 1).

SGE sempre desencadeou mais caminamento nas trilhas seguidas por operários, soldados ou grupo misto. Para grupos de operários e misto não houve diferença significativa na distância seguida por RFE e WBE ($P= 0.30$).

Nos experimentos com chance de escolha, os bioensaios de trilha em formato de Y mostraram que os diferentes grupos de *N. corniger* (WG, SG e MixG) seguiram o mesmo padrão independente de qual casta foi preparado os extratos (operários ou soldados) (Fig. 3). Com exceção para o grupo de operários expostos ao RFE de operários vs. SGE de soldados, os quais não apresentam escolha significativa entre esses sinais ($P= 0.12$; Tabela 2; Fig. 3C). Os resultados estatísticos desses bioensaios estão sumarizados na Tabela 2.

Efeitos Comportamentais E Atrativos/Repelentes Dos Sinais Químicos De Forrageio

Intercoloniais De *N. corniger*. O número de antenações em grupos de *N. corniger* não foi afetado significativamente pelos sinais químicos de forrageio intercoloniais em nenhum dos extratos testados (WBE, RFE e SGE), independentemente de sua origem (Fig. 4A). No entanto, grupos de cupins submetidos aos sinais químicos intercoloniais (WBE, RFE e SGE) extraídos de operários aumentaram significativamente o número de trofalaxia comparado com esses mesmos sinais químicos da sua própria colônia (Fig. 4B). No entanto, o número de trofalaxia foi significativamente menor em grupos de *N. corniger* expostos a SGE intercoloniais de soldados comparados com grupos expostos a esse mesmo sinal da sua própria colônia (Fig. 4B). Os demais sinais químicos de operários intercoloniais não afetaram significativamente o número de trofalaxia.

Os grupos de *N. corniger* submetidos ao WBE e SGE intercoloniais de operários diminuíram o número de grooming comparado com mesmos sinais da própria colônia (Fig. 4C).

Por outro lado, o número de grooming foi significativamente maior nos grupos expostos ao RFE intercoloniais de operários e SGE intercoloniais de soldados comparado com os sinais da própria colônia (Fig. 4C).

O número de vibrações observado nos grupos foi afetado significativamente apenas pelos WBE e SGE intercoloniais de operários e pelo WBE intercoloniais de soldados (Fig. 4D). Os grupos expostos ao WBE e SGE intercoloniais de operários exibiram um aumento no número de vibrações comparado com os grupos expostos aos mesmos sinais da própria colônia. Além disso, houve uma redução no número de vibrações nos grupos expostos ao WBE intercoloniais de soldados em relação aos indivíduos expostos ao WBE de soldados provenientes da mesma colônia (Fig. 4D).

Durante os experimentos comportamentais, não foram observados os comportamentos de mordida, luta e evitação entre os indivíduos dos grupos testados com sinais químicos da própria colônia e sinais intercoloniais.

Discussão

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram a contribuição de operários e soldados na emissão de sinais e respostas no comportamento de forrageio em grupos de *N. corniger* com diferentes composições de castas. Além disso, reforça o papel dos sinais intercoloniais na atratividade da colônia, como já relatado em outros estudos.

De uma maneira geral, o SGE foi capaz de induzir um maior comportamento de trilha comparado com os demais sinais químicos de forrageio testados (*i.e.* WBE e RFE). Esse padrão foi observado para todos os grupos de *N. corniger* (*i.e.* WG, SG e MixG) (Fig. 2). Além disso, a origem dos sinais químicos de forrageio (*i.e.* operários ou soldados) não afetou a percepção e orientação dos indivíduos nas trilhas em nenhum dos sinais químicos de forrageio (Fig. 2). O mesmo padrão ocorreu para a aceitação desses sinais durante os bioensaios de trilha com chance de

escolha (Fig. 3). A única exceção ocorreu com o RFE de operários x SGE de soldados, nos quais os grupos com operários (WG) não mostraram uma escolha entre os sinais (Fig. 3C). Como esperado, a maior distância percorrida nas trilhas com SGE comparado com os demais sinais químicos de forrageio testado está relacionado com a presença da mistura de feromônios de trilha presentes nesse extrato, a saber, os compostos dodecatrienol e neocembrene; já identificados como feromônios de trilha em *N. corniger* (Sillam-Dussès *et al.* 2010). A ausência de diferença significativa na distância percorrida nas trilhas por WG e MixG contendo WBE e RFE pode indicar a presença de compostos específicos no RFE que também devem atuar no comportamento de seguir trilha, principalmente nos operários. Nos experimentos de trilha com chance de escolha, o WG foi o único grupo que não apresentou uma escolha significativa entre RFE de operários e SGE de soldados (Fig. 3C). De fato, Traniello (1982) levantou a hipótese que o feromônio de trilha em *N. corniger* poderia ser composto por uma substância mais volátil responsável pelo recrutamento e uma substância mais persistente responsável pela orientação. Tal hipótese baseou-se na alta persistência de orientação das trilhas em *N. corniger*, as quais se mantinham ativas após meses e anos. Embora Sillam-Dussès *et al.* (2010) identificaram duas substâncias (dodecatrienol e neocembrene) como feromônio de trilha em *N. corniger*; esses autores descartam a possibilidade de uma atividade separada desses compostos, uma vez que o neocembrene (composto menos volátil e teoricamente responsável pela orientação) não se mantém ativo por muito tempo (meses ou anos) como observado nas trilhas de *N. corniger* (Traniello 1982). Por outro lado, Gazai *et al.* (2014), estudando o papel do pavê fecal (composto por fluido retal e compostos do feromônio de trilha) em *N. corniger*, levantaram a hipótese de que o pavê fecal poderia contribuir para a persistência da trilha em *N. corniger*; o que ajudaria na orientação dos cupins para o ninho ou para a fonte de recurso alimentar.

Sendo assim, é possível que o sinal presente no RFE de soldados possa ter um efeito de orientação apenas para os operários e os compostos presentes no SGE possua um efeito de recrutamento para operários e soldados. Como já demonstrado por Traniello & Leuthold (2000), onde *N. corniger* tem seu forrageio iniciado pelos soldados que saem do ninho em busca do recurso. O SGE depositado inicialmente por soldados atrai tanto mais soldados como também operários (Fig.2). Após a localização do recurso pelos soldados, os mesmos retornam para a colônia e, a partir desse momento, inicia o recrutamento de operários. A construção de túneis ocorre apenas após a localização do recurso alimentar. Além disso, em testes preliminares no laboratório, foi possível observar que apenas grupos com operários foram capazes de depositar pavê fecal na trilha (da Cruz, *obs. pessoal*).

A origem de onde foram extraídos os sinais químicos de forrageio (operários e soldados) não desencadeou maior atratividade ou preferência entre os grupos de cupins testados. Esse resultado difere do observado em estudos anteriores. Para *N. aff. coxipoensis*, Almeida *et al.* (2016) demonstraram que grupos com operários preferem seguir SGE extraídos de operários e grupos com soldados e misto preferem seguir SGE extraídos de soldados. Arab *et al.* (2006) demonstraram que tanto operários como soldados preferiram seguir trilhas com SGE de soldados em *N. corniger*. Por outro lado, Traniello (1982), encontraram para *N. corniger* resultados semelhantes com os de *N. aff. coxipoensis*; ou seja, cada casta prefere seguir o SGE da sua respectiva casta. A divergência nos resultados pode estar relacionada com a concentração utilizada em cada estudo ou ainda com o modo de extração dos sinais químicos de forrageio.

Os sinais intercoloniais e intracoloniais afetaram diferencialmente alguns comportamentos coletivos da colônia (Fig. 4). De uma maneira geral, os sinais extraídos de operários aumentaram ou diminuíram significativamente os comportamentos de trofalaxia, grooming e vibração. Por

outro lado, apenas os sinais provenientes do WBE e SGE de soldados afetaram significativamente esses comportamentos.

A diminuição ou aumento nos comportamentos de trofalaxia e grooming pode estar relacionado à percepção de sinais de indivíduos de outras colônias no local com consequente aumento da identificação dos membros da colônia testada. De acordo com Costa-Leonardo & Haifig (2010), o comportamento de grooming estimula o comportamento de trofalaxia em cupins, o que desencadeia a troca de substâncias químicas juntamente com fluidos líquidos contendo alimento. Segundo Richard & Hunt (2013), é por meio do grooming e trofalaxia que os cupins trocam substâncias químicas específicas da colônia a fim de manter o “blend” de hidrocarbonetos cuticulares entre eles. Desta forma, é plausível que após a percepção sinais intercoloniais, os indivíduos passam a modular os comportamentos que reforçam a identidade dos membros de sua colônia a fim de evitar qualquer comportamento altruísta com indivíduos de colônias diferentes ou simplesmente percebem um odor que indica recursos semelhantes aos seus. Ferreira *et al.* (2018) já demonstrou que isso aumenta a vibração e Silva *et al.*(2021) que o sinal de outra colônia aumenta a atratividade por recursos, então, apesar de indicar um possível competidor, também indica um sinal de fonte de recurso potencial a ser explorado.

O número de vibração nos grupos de cupins aumentou significativamente quando expostos ao WBE e SGE intercoloniais de operários comparado com controle (sinal da própria colônia) (Fig. 4D). Esse aumento da vibração frente aos sinais intercoloniais indica que os cupins desencadeiam o comportamento de alerta após a percepção da presença de possíveis competidores. Esse mesmo comportamento já foi observado em *N. aff. coxipoensis* (Ferreira *et al.* 2018). O efeito contrário no número de vibração quando os grupos foram expostos ao WBE intercoloniais de soldados pode indicar que esse sinal desencadeia o sinal de alarme, o que faria aumentar a velocidade dos indivíduos e, conseqüentemente, diminuir o comportamento de vibração (Fig. 4B). De acordo com

Cristaldo *et al.* (2015), as espécies da subfamília Nasutitermitinae possuem a capacidade de modular seus comportamentos de alarme de acordo com a mensagem transmitida por diferentes sinais químicos. Em estudo com *Constrictotermes cyphergaster*, esses autores demonstram que sinais provenientes da cabeça de operários desencadeiam um maior número de vibração; por outro lado, o sinal da cabeça de soldados desencadeia maior deslocamento dos indivíduos uma vez que este sinal contém os feromônios de alarme.

Concluindo, os resultados do presente estudo demonstram a complexidade dos sinais de forrageio em *N. corniger*. Essa complexidade na comunicação durante a busca por recurso deve estar relacionada com o tipo de forrageio da espécie que inclui a participação ativa de soldados e também o comportamento de forrageio combinado (trilhas ao ar livre com posterior construção de túneis). Um cenário hipotético seria de que os sinais da glândula esternal estariam responsáveis pelo recrutamento de operários e soldados, independente da origem (operário ou soldado), que ao encontrar o recurso alimentar, continuaria a depositar esse sinal para o recrutamento dos operários. Em seguida, os operários passariam a depositar o pavê fecal com a combinação dos sinais presentes na glândula esternal e no fluido retal, o que atuaria no recrutamento de mais operários e também na orientação dessa casta até o recurso alimentar. Com a presença do pavê fecal, futuras explorações ao recurso alimentar exigiriam um menor gasto de energia uma vez que os sinais persistem por um tempo; não havendo necessidade de gastos com a exploração do ambiente antes da coleta do recurso. Ao mesmo tempo em que contam com a própria exploração do ambiente, as colônias parecem perceber e utilizar pistas intercoloniais para localização de fontes alimentares.

Agradecimentos

Este estudo foi parcialmente financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Fundação de Pesquisa do Estado de Pernambuco (FACEPE), e pela

Coordenação de Apoio e Avaliação de Pós-Graduação (CAPES-PROEX). PFC agradece ao CNPq pela concessão da bolsa de Produtividade em Pesquisa (PQ 310395/2019-4).

Literatura Citada

- Almeida, C.S., P.F. Cristaldo., D.F. Florencio., N.G. Cruz., A.A. Santos., A.P. Oliveira & A.P.A. Araújo.2016.** Combined foraging strategy and soldier behaviour in *Nasutitermes aff. coxipoensis* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae). *Behav Processes* 126:76–81
- Almeida, C.S., P.F. Cristaldo., O. de Souza., L. Bacci., D.F. Florencio., N.G. Cruz., A.A. Santos, A.A. Santana., A.P. Oliveira., A.P.S. Lima & A.P.A. Araújo.2018.** Resource density regulates the foraging investment in higher termite species. *Ecol Entomol.* <https://doi.org/10.1111/een.12508>
- Arab, A., S. Issa., D. Alfonzo & K. Jaffe.2006.** Caste, colony, and species specificity of the trail pheromone in two sympatric *Nasutitermitinae*. *Sociobiology* 47:345–351
- Constantino, R.2002.** The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. *Journal of Applied Entomology*, 126:355-365.
- Costa-Leonardo, A.M & I. Haifig.2010.** Pheromones and exocrine glands in Isoptera. *Vitam Horm* 83:521–49. [https://doi.org/10.1016/S0083-6729\(10\)83021-3](https://doi.org/10.1016/S0083-6729(10)83021-3)
- Crawley, M. J.2012.** *The R book*. John Wiley & Sons.
- Cristaldo, P.F 2018.** Trail Pheromones in Termites. In: Khan MA, Ahmad W (eds) *Termites and Sustainable Management: Volume 1 - Biology, Social Behaviour and Economic Importance*. Springer International Publishing, Cham, pp 145–158
- Cristaldo, P.F., O. DeSouza., J. Krasulova., A. Jirošová., K. Kotalová., E.R. Lima., E.R. & D. Sillam-Dussès.2014.** Mutual use of trail-following chemical cues by a termite host and its inquiline. *PLoS One*,9: e85315.
- Cristaldo, P.F., V. Jandák., K. Kotalová., V.B. Rodrigues., M. Brothánek., O. Jiricek., O. de Souza & J. Sobotník.2015.** The nature of alarm communication in *constrictotermes cyphergaster* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae): The integration of chemical and vibroacoustic signals. *Biol Open* 4:. <https://doi.org/10.1242/bio.014084>
- Ferreira, D.V., P.F. Cristaldo., M.L.C. Rocha., D.L. Santana., L. Santos., P.S.S. Lima & A.P.A. Araújo.2018.** Attraction and vibration: effects of previous exposure and type of resource in the perception of intercolonial odors in termites. *Ethology* in press:<https://doi.org/10.1111/eth.12806>
- Gazai, V.,O. Bailez&A.M. Viana-Bailez.2014.** Mechanism of Trail Following by the Arboreal

Termite *Nasutitermes corniger* (Isoptera: Termitidae). *Zoolog Sci* 31:1–5

Grüter, C&T.J Czaczkes.2019.Communication in social insects and how it is shaped by individual experience. *Anim Behav* 151:207–215. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2019.01.027>

Hölldobler, B& E.O. Wilson.1978.The multiple recruitment systems of the african weaver ant *Oecophylla longinoda* (Latreille) (Hymenoptera: Formicidae). *Behav Ecol Sociobiol* 3:19–60. <https://doi.org/10.1007/BF00300045>

Hölldobler, B. &E.O.Wilson.1990. The ants. Harvard University Press

Hölldobler, B. & E.O. Wilson.2009. The Superorganism: The Beauty, Elegance, and Strangeness of Insect Societies. W. W. Norton & Company

Hunt, J.H&F.J. Richard.2013. Intracolony vibroacoustic communication in social insects. *Insectes Soc* 60:403–417. <https://doi.org/10.1007/s00040-013-0311-9>

Leonhardt, S.D., F. Menzel.,V. Nehring&T. Schmitt.2016.Ecology and Evolution of Communication in Social Insects. *Cell* 164:1277–1287. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.01.035>

Mitaka, Y& T. Akino.2021.A Review of Termite Pheromones: Multifaceted, Context-Dependent, and Rational Chemical Communications. *Front. Ecol. Evol.* 8:500

Nieh, J.C.2010.A Negative Feedback Signal That Is Triggered by Peril Curbs Honey Bee Recruitment. *Curr Biol* 20:310–315. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2009.12.060>

Queller, D.C.1989.The evolution of eusociality: Reproductive head starts of workers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:3224–6

R Development Core Team.2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. The R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0, Vienna, Austria.

Richard, F.J& J.H. Hunt.2013.Intracolony chemical communication in social insects.*Insectes Soc* 60:275–291. <https://doi.org/10.1007/s00040-013-0306-6>

Sacramento, J.J.M., P.F. Cristaldo., D.L. Santana., J.S. Cruz., B.V.S. Oliveira., A.T. Santos & A.P.A. Araújo.2020.Soldiers of the termite *Nasutitermes corniger* (Termitidae: Nasutitermitinae) increase the ability to exploit food resources. *Behav Processes* 181:104272. <https://doi.org/10.1016/j.beproc.2020.104272>

Seeley, D.T.1998 Thoughts on information and integration in honey bee colonies. *Apidologie* 29:67–80

Seyfarth, R.M.,D.L. Cheney., T. Bergman., J. Fischer., K. Zuberbuhler., K. Hammerschmidt.2010. The central importance of information in studies of animal

communication. Anim Behav 80:3–8.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.04.012>

Sillam-Dussès, D., E. Sémon., A. Robert., E. Canello., M. Lenz., I. Valterová & C. Bordereau.2010. Identification of multi-component trail pheromones in the most evolutionarily derived termites, the Nasutitermitinae (Termitidae). Biol J Linn Soc 99:20–27.
<https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01348.x>

Silva, A.N.F., C.R. Silva., R.E.C. Santos., C.C.M. Arce., A.P.A. Araújo & P.F.Cristaldo.2021. Resource selection in Nasute termite: The role of social information. Ethology 1:1-8.

Szathmáry, E & J.M. Smith.1995. The major evolutionary transitions. Nature 374:227–232.
<https://doi.org/10.1038/374227a0>

Traniello, J.F.A&C. Busher.1985.Chemical regulation of polyethism during foraging in the Neotropical termite *Nasutitermes costalis*. J Chem Ecol 03:319–332

Traniello, J.F.A& R.H. Leuthold.2000.Behavior and ecology of foraging in termites. In: Abe T, Bignell D, Higashi M (eds) Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology. Kluwer Academic Publishers, Netherlands, pp 141–168

Traniello, J.F.A.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.1982.Recruitment and orientation components in a termite trail pheromone. Naturwissenschaften 69:343–345. <https://doi.org/10.1007/BF00480461>

Wilson, E.1971. The Insect Societies. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA, Harvard University Press [Distributed by Oxford University Press

Wilson, E.O& B. Hölldobler.2005.Eusociality: Origin and consequences. Proc Natl Acad Sci 102:13367–13371. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505858102>

Wray, M.K., B.A. Klein&T.D. Seeley.2011. Honey bees use social information in waggle dances more fully when foraging errors are more costly. Behav Ecol 23:125–131.
<https://doi.org/10.1093/beheco/arr165>

Tabela 1. Efeito dos sinais químicos (WBE, RFE e SGE) e da origem desses sinais (operários ou soldados) na distância percorrida por grupos de *Nasutitermes corniger* com diferentes composições de castas (operários, soldados e grupo misto [operários + soldados]) nos experimentos de trilha sem chance de escolha (linear).

Source	d.f.	Deviance Resid	d.f.	R es id.	Dev	F	P	
OPERÁRIOS								
Null			59		498.90			
Sinal químico	2	218.85	57		280.05	21.97	0.0001	***
Origem sinal	1	1.15	56		278.89	0.23	0.23	<i>n.s.</i>
SOLDADOS								
Null			59		499.71			
Sinal químico	2	291.60	57		208.12	39.71	0.0001	***
Origem sinal	1	2.53	56		205.59	0.68	0.41	<i>n.s.</i>
MISTO (OPERÁRIOS + SOLDADOS)								
Null			59		433.07			
Sinal químico	2	180.91	57		252.15	20.21	0.0001	***
Origem sinal	1	1.54	56		250.60	0.34	0.34	<i>n.s.</i>

Modelagem Linear Generalizada com distribuição de erros Normal.

n.s. = não significativo

Tabela 2. Efeito dos sinais químicos (RFE e SGE) extraídos de operários (W) e soldados (S) na escolha por grupos de *Nasutitermes corniger* com diferentes composições de castas (operários, soldados e grupo misto [operários + soldados]) nos experimentos de trilha com chance de escolha (formato em Y).

Source	d.f.	Deviance Resid.	d.f. Resid.	Dev	F	P
RFE W vs. SGE W						
OPERÁRIOS						
Null			19	29.71		
Tratamento	1	17.985	18	11.726	0.0001	***
SOLDADOS						
Null			19	60.263		
Tratamento	1	44.168	18	16.095	0.0001	***
MISTO (OPERÁRIOS + SOLDADOS)						
Null			19	44.987		
Tratamento	1	29.11	18	15.876	0.0001	***
RFE S vs. SGE S						
OPERÁRIOS						
Null			19	60.263		
Tratamento	1	23.129	18	37.134	0.001	**
SOLDADOS						
Null			19	83.178		
Tratamento	1	83.178	18	0.000	0.0001	***
MISTO (OPERÁRIOS + SOLDADOS)						
Null			19	67.901		
Tratamento	1	53.786	18	14.115	0.0001	***
RFE W vs. SGE S						
OPERÁRIOS						
Null			19	29.710		
Tratamento	1	2.4163	18	27.294	2.0602	<i>n.s</i>
SOLDADOS						
Null			19	52.625		
Tratamento	1	36.057	18	16.568	0.0001	***
MISTO (OPERÁRIOS + SOLDADOS)						
Null			19	37.349		
Tratamento	1	13.588	18	23.761	0.001	**
RFE S vs. SGE W						
OPERÁRIOS						
Null			19	75.539		
Tratamento	1	65.64	18	9.899	0.0001	***

Source	d.f.	Deviance Resid.	d.f. Resid.	Dev	F	P
SOLDADOS						
Null			19	60.263		
Tratamento	1	23.129	18	37.134	0.001	**
MISTO (OPERÁRIOS + SOLDADOS)						
Null			19	75.539		
Tratamento	1	65.64	18	9.899	0.0001	***

Modelagem Linear Generalizada com distribuição de erros Binomial.

n.s. = não significativo.

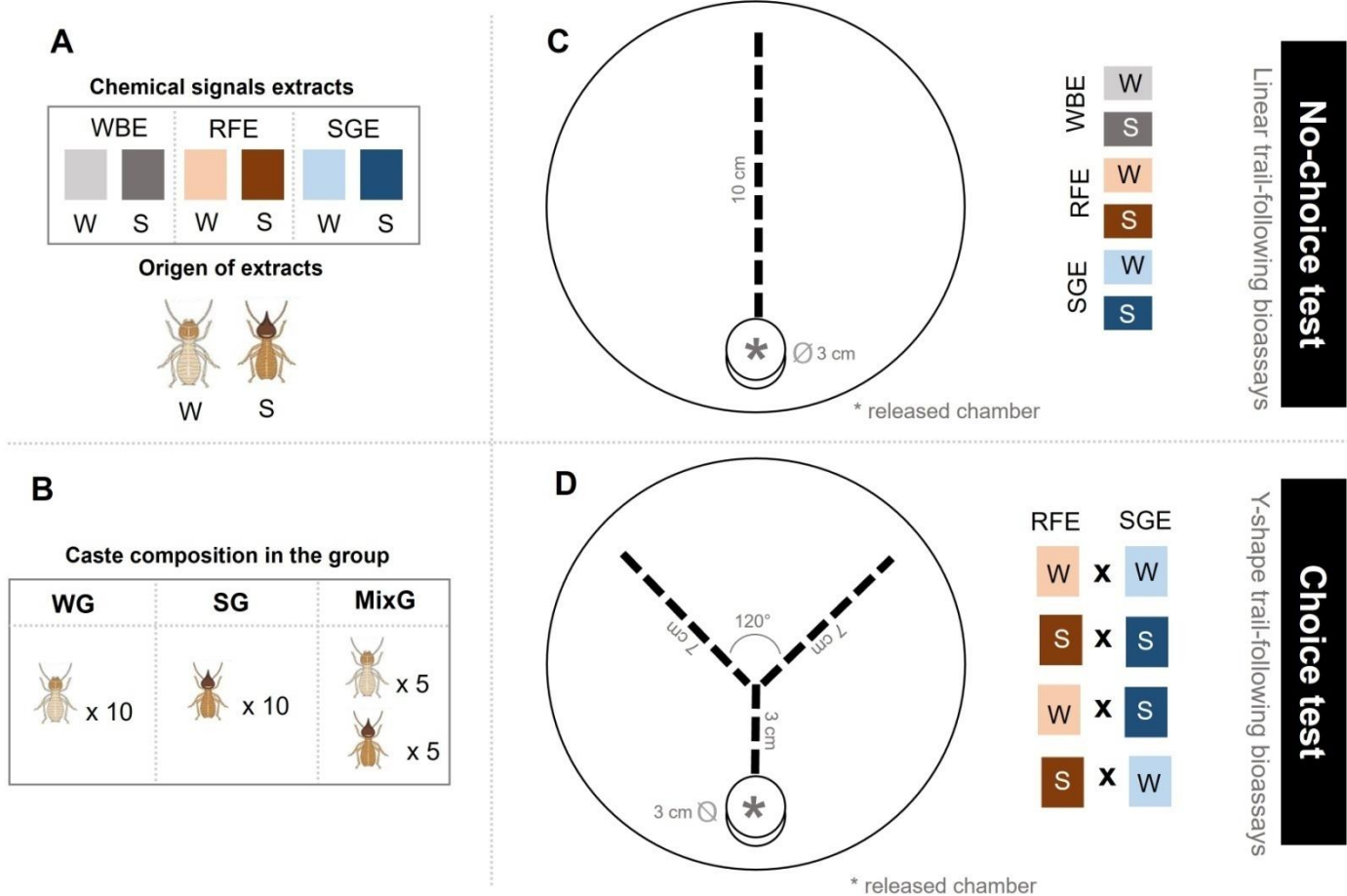


Figura 1. Set-up experimental dos bioensaios de trilhas lineares e de trilhas em forma de Y. A).Origem dos sinais químicos (WBE: extrato do corpo inteiro; RFE: extrato do fluído retal e SGE: extrato da glândula esternal) e das castas (W=operário e S= soldado). B)grupos testados (WG= dez operários; SG=10 soldados e MIXG= cinco operários e cinco soldados). C) sinais testados nos bioensaios

sem chance de escolha (trilhas lineares). D) combinações de sinais testadas nos bioensaios com chance de escolha (trilhas em forma de Y).

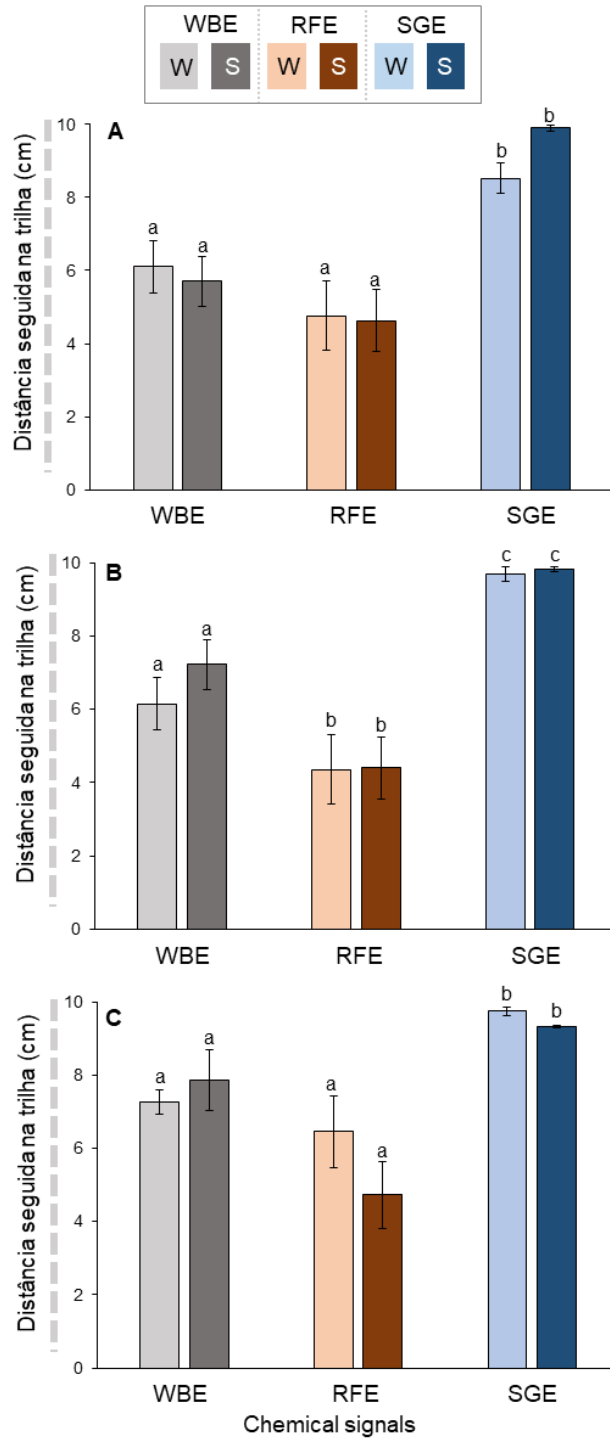


Figura 2. Efeito dos sinais químicos (WBE, RFE e SGE) e da origem desses sinais (operários ou soldados) na distância percorrida em trilhas lineares por diferentes grupos de *Nasutitermes corniger*. A) grupos de *N. corniger* composto apenas por operários; B) grupos de *N. corniger*

composto apenas por soldados; C) grupos mistos de *N. corniger* composto por operários e soldados. WBE=extrato do corpo inteiro; RFE= extrato do fluído retal;SGE= extrato da glândula esternal. Barras seguidas de mesma letra não diferem significativamente pela Análise de Contraste.

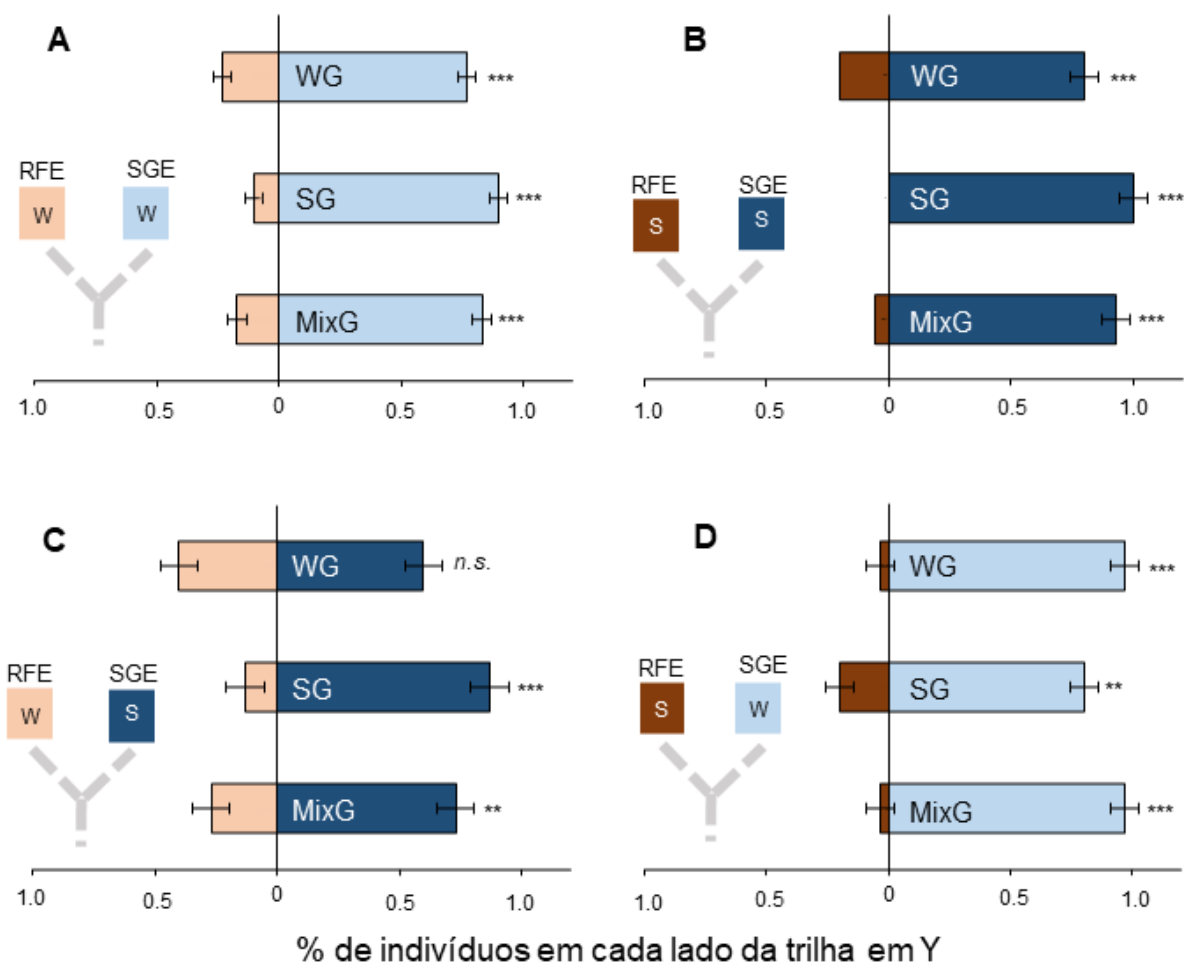


Figura 3. Efeito das combinações dos sinais químicos (RFE e SGE) na escolha dos diferentes grupos de *Nasutitermes corniger*. A) escolha dos grupos de *N. corniger* na combinação RFE de operário vs. SGE de operário; B) escolha dos grupos de *N. corniger* na combinação RFE de soldado vs. SGE de soldado; C) escolha dos grupos de *N. corniger* na combinação RFE de operário vs. SGE de soldado; D) escolha dos grupos de *N. corniger* na combinação RFE de soldado vs. SGE de operário. RFE=extrato do fluído retal; SGE= extrato da glândula esternal; W= extrato oriundo de operário; S=extrato oriundo de soldado; WG= grupo de operários; SG= grupo de soldados; MixG=grupo misto (operários + soldados). Barras *n.s* com não diferem

significativamente pela Análise de Contraste; barras com ** e *** apresentam $P < 0.001$ e $P < 0.0001$, respectivamente.

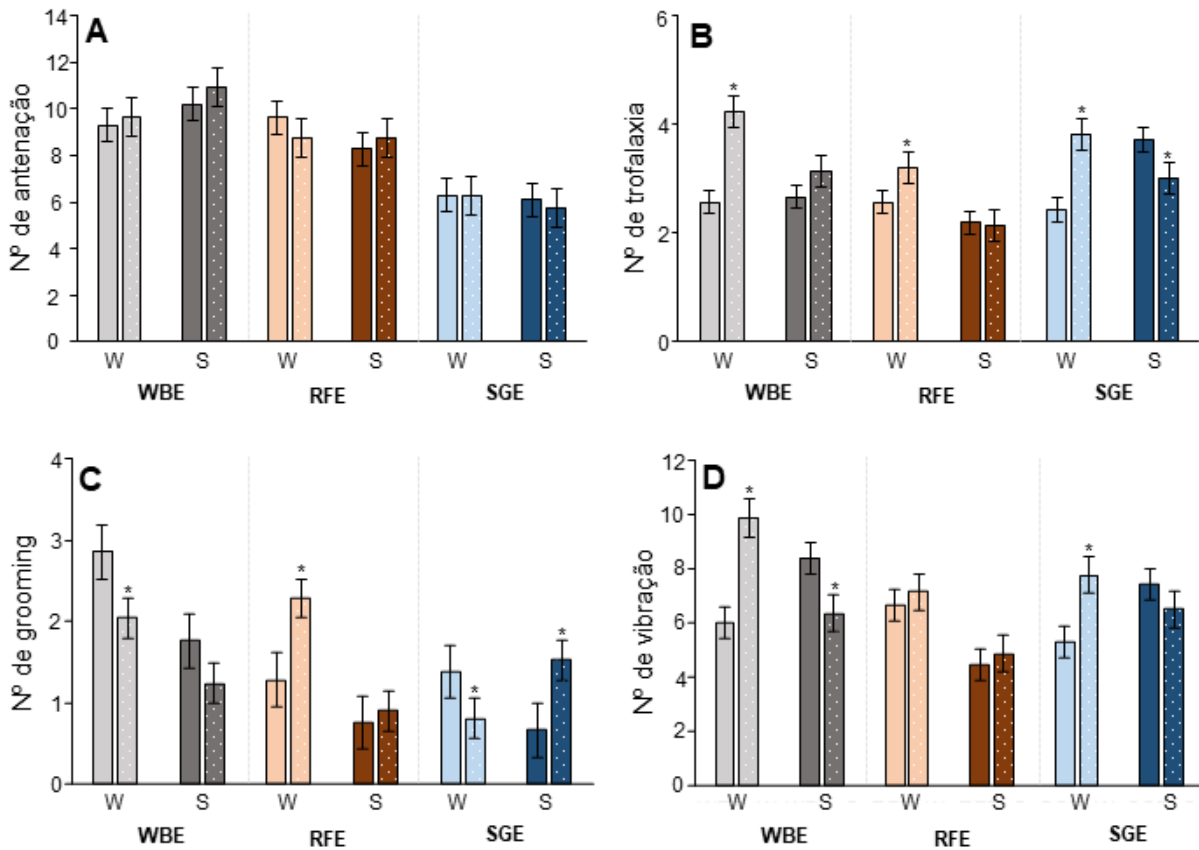


Figura 4. Efeito de diferentes sinais químicos (sinais de diferentes origens: WBE=extrato do corpo inteiro, RFE= extrato do fluido retal e SGE= extrato da glândula esternal; sinais de diferentes castas: W= operário ou S= soldado e sinais intracoloniais (da mesma colônia) e sinais intercoloniais (de outra colônia da mesma espécie)) no comportamento de grupo de *Nasutitermes corniger*. A) efeito de diferentes sinais químicos no comportamento de antenação de grupo de *N. corniger*. B) efeito de diferentes sinais químicos no comportamento de trofalaxia de grupo de *N. corniger*. C) efeito de diferentes sinais químicos no comportamento de grooming de grupo de *N.*

corniger. D) efeito de diferentes sinais químicos no comportamento de vibração de grupo de *N. corniger*. Barras sem nível de significância não diferem significativamente pela Análise de Contraste; barras com * apresentam $P < 0.01$.

CAPÍTULO 3

CAN CHEMICAL SIGNALS BE AN ALTERNATIVE TO THE CONTROL OF

Nasutitermes corniger (MOTSCHULSKY, 1855) (TERMITIDAE; NASUTITERMITINAE)?¹

CÁTILA R. SILVA¹, MARILIA R. P. DA CRUZ², RENAN E. C. SANTOS¹, PAULO F.
CRISTALDO^{1,2}.

¹Laboratório de Ecologia de Insetos, Departamento de Agronomia, Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Recife, Brazil

²Programa de pós-graduação em Entomologia, Departamento de Agronomia, Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brazil

¹Silva, C.R., M.R.P. Cruz., R.E.C. Santos & P.F. Cristaldo. Can chemical signals be an alternative to control *Nasutitermes corniger*? (Motschulsky, 1855) (Termitidae: Nasutitermitinae)? Submitted as *short note* to Sociobiology

ABSTRACT-Although termite species play a key role in the functioning of ecosystems, some species are considered as pests by their destructive potential in the urban environments. The control of termite pest species is mainly conducted by application of synthetic insecticides on the nest and in the foraging areas. However, this method of control is inefficient due to complex behaviors which prevent the toxic substance from reaching the queen. Here, we tested the attractiveness of chemical signals compared to the insecticide imidacloprid in the recruitment of *Nasutitermes corniger* groups. To do so, binary and multiple choice bioassays were conducted with baits containing chemical signals extracted from workers from their own colony (colony signals), workers from different colonies (intercolonial cues) and the insecticide imidacloprid to check the recruitment of individuals over the time. In general, *N. corniger* groups preferred baits with intercolonial chemical cues followed by baits with chemical signals from their own colony than baits with the insecticide. These results suggest that intraspecific chemical cues can be used for attracting termite to baits and that, together with another substance that presents slow toxicity, it may be possible to carry out an effective control.

KEY-WORDS:Recruitment, behavior, urban pest, termite

OS SINAIS QUÍMICOS PODEM SER UMA ALTERNATIVA NO CONTROLE DE

Nasutitermes corniger (MOTSCHULSKY, 1855) (TERMITIDAE; NASUTITERMITINAE)?

RESUMO - Embora as espécies de cupins desempenhem um papel fundamental no funcionamento dos ecossistemas, algumas espécies são consideradas como pragas pelo seu potencial destrutivo nos ambientes urbanos. O controle das espécies de cupins é conduzido principalmente através da aplicação de inseticidas sintéticos no ninho e nas áreas de forragem. Contudo, este método de controle é ineficiente devido a comportamentos complexos que impedem a substância tóxica de chegar à rainha. Aqui, testamos a atratividade dos sinais químicos em comparação com o inseticida imidacloprido no recrutamento de grupos de *Nasutitermes corniger*. Para tal, foram realizados bioensaios binários e de escolha múltipla com iscas contendo sinais químicos extraídos de operários da sua própria colônia (sinais de colônia), operários de diferentes colônias (sinais intercoloniais) e o inseticida imidacloprido para verificar o recrutamento de indivíduos ao longo do tempo. Em geral, os grupos de *N. corniger* preferiram iscas com sinais químicos intercoloniais seguidos de iscas com sinais químicos da sua própria colônia do que iscas com o inseticida. Estes resultados sugerem que traços químicos intra-específicos podem ser utilizados para atrair cupins para iscas e que, juntamente com outra substância que apresenta toxicidade lenta, pode ser possível efetuar um controle eficaz.

PALAVRAS-CHAVE: Recrutamento, comportamento, pragas urbanas, cupins

Eusocial insects (especially termites, ants, and wasps) are serious pests in the urban environment (Rust & Su 2011). Although in recent years there has been an attempt to reduce the use of synthetic insecticides, this method is still the most used to control insect pests (Agarwal 2020). The control of pest termites is usually done by installing baits containing food resource in association with insecticides (Almeida *et al.* 1998, Junqueira *et al.* 2006, Silva *et al.* 2021). Such baits attract the termites to a given location, and subsequently, effect their control. However, differently from observed with solitary insect pests, the use of synthetic insecticides to control eusocial insect pests is ineffective (Rust & Su 2011, Masciocchi *et al.* 2017). Their cryptic lifestyle combined with a complex behavioral repertoire and the presence of an elaborate communication system allow individuals to perceive the toxic substance which often prevent the insecticide from being passed, via trophallaxis, to the control target caste (*i.e.* queen) (Chouvenc *et al.* 2011, Rust & Su 2011).

The study of chemical ecology, particularly such involving chemical signals that influence the behavior of insects, has been shown to be a useful tool in proposing insect pest control methods as an alternative to the exclusive use of toxic substances (Pickett *et al.* 1997, Sillam-Dussès 2010, Rust & Su 2011). Pheromones are non-toxic, biodegradable and generally specific substances, enabling a more ecologically viable control. However, studies aimed at this type of control are still lacking for eusocial insect pests in urban environments, including termites. The study of chemical communication in termites, especially those involved in foraging and defense, can provide valuable information that will contribute to the development of attractive and/or repellent products (Rust & Su 2011, Boulogne *et al.* 2017, Masciocchi *et al.* 2017). In fact, recent studies have shown that chemical signals can increase the recruitment of termite groups (Silva *et al.* 2021; Cruz *et al.* in preparation).

The genus *Nasutitermes* presents greater diversity within the termite group (Blattodea: Isoptera) (Boulogne *et al.* 2017); insects that are known for their destructive potential due to their ability to use cellulosic resources. *Nasutitermes corniger* (Motschulsky, 1855) (Termitidae: Nasutitermitinae) is one of the most abundant and widely distributed species in the Neotropics (Scheffrahn *et al.* 2005, Boulogne *et al.* 2017). Although information on pest status for many termite species in South America is still limited, *N. corniger* is recognized as a pest of high importance and high capacity to adapt to urban environments (Constantino 2002). This species causes damage mainly in buildings due to the consumption of wood (Constantino 2002, Boulogne *et al.* 2017), being considered one of the most important structural pests in South America (Constantino 2002, Fontes & Milano 2002).

In the present study, we evaluated the attractiveness of chemical signals in the selection of resource baits by *N. corniger* groups comparing with the insecticide. Specifically, we tested the hypothesis that *N. corniger* groups show high attractiveness to resource baits containing intercolonial chemical cues compared to the insecticide imidacloprid.

The study was carried out using seven colonies collected at the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE) - campus SEDE (8°04'03'' S, 34°55'00'' W), in Recife, Pernambuco, Brazil. Extracts of chemical signals were prepared from whole body following the methodology described by Cristaldo *et al.* (2014). The concentrations used in each of the bioassays were 0.01 µL/Eq. that was defined after preliminary bioassays. For each nest ($N= 7$), 10 extracts were prepared, totaling 70 extracts. The commercial insecticide used was the neonicotinoid imidacloprid (Bayer CropScience®, São Paulo, Brazil). During the experiments, the lethal dose necessary to kill 50% of the population (LD_{50}) was used (Watanabe *et al. submitted*).

Binary and multiple choice bioassays of bait selection were performed in order to check the recruitment of termites over the time. Binary bioassays were conducted in an arena consisted of a central plastic pot (250 ml) connected in a straight line with a transparent hose (\varnothing 7 mm; 5 cm long) to two other plastic pots (250 ml), in which one of them contained sugarcane baits (26 g) treated with own colony signal, intercolonial cues or insecticide, and in the other the control (26g of sugarcane only with the solvent) (Fig. 1A). Additionally, a control test was performed containing only bait without chemical signals (control) \times bait with hexane (solvent control) (Fig. 1A).

Multiple choice bioassays were conducted in arenas consisted of a central plastic pot (250 ml) connected with a transparent hose (\varnothing 7 mm; 5 cm long) to four other plastic pots at its end containing the treatments (26 g of sugarcane with solvent control, colony signal, intercolonial cues, and insecticide) (Fig. 2A). In both bioassays, filter paper was used as a substrate in each pot. In the central arena, a group of 10 individuals (eight workers and two soldiers) was conditioned and the group's choice of one of the treatments was recorded after one, two, four, six, 12 and 24 hours after the beginning of the experiment. For each bioassay, three replications were performed for combination of treatment \times colony, totaling 105 bioassays.

Data were subjected to Generalized Linear Models in the R software (R Development Core Team 2019). In all analysis, the average value of each tested colony in each treatment was used as true repetition. An independent analysis was conducted for each time. Residual analysis was conducted to check suitability of models. Model simplification, when necessary, was conducted by removing non-significant explanatory variables from the initial model and evaluating subsequent changes in the deviance.

In the binary choice bioassays, the average proportion of termite recruitment was not significantly affected in the untreated (control) and solvent-treated baits at any of the sampled times (Table 1; Fig. 1B). For the insecticide imidacloprid, there is a significant effect on the average proportion of termite recruitment after one, two and four hours of exposition (Table. 1). In these times, termite groups preferred to colonize baits with solvent control instead of baits with insecticide (Fig. 1C).

However, there was no significant effect on the average proportion of termite recruitment after six, 12 and 24 hours (Table. 1; Fig. 1C). In baits treated with solvent and with own colony signal, a higher proportion of termite recruitment was observed in baits treated with colony signal compared to baits containing only solvent (Fig. 1D). The significant difference in recruitment occurred after one, four, six and 12h of exposition (Table 1; Fig. 1D). There was no significant difference in termite recruitment after two and 24 h of extract application (Table 1).

In baits treated with solvent and those with intercolonial cues, a higher average proportion of termite recruitment was observed in baits with intercolonial cues after one, four, 12 and 24h of exposure (Table 1; Fig. 1E). There was no significant difference in termite recruitment after two and six hours of exposure to treatments (Table1; Fig. 1E).

In the multiple choice bioassays, the *N. corniger* groups preferred sugarcane baits with intercolonial chemical cues, followed by baits with solvent control and those with chemical signal from their own colony and, finally, baits containing insecticide imidacloprid ($P < 0.001$).

In general, our results indicate that chemical signals present attractiveness effect on termite groups while imidacloprid insecticide shows repellent effect (Fig. 1). In addition, termite groups were more likely to choose resource baits containing intercolonial cues followed by baits with their own cues or without chemical cues than resource baits with the insecticide imidacloprid (Fig.

2). The results found here reinforce the key role of social information (*i.e.* use of chemical cues from others) in resource selection by *N. corniger*, as already showed by Silva *et al.* (2021).

Eusocial insects have as main characteristics the overlap of generations, the care of the offspring and division of tasks between reproductive and sterile castes (Wilson 1971). Thus, they have sophisticated behaviors that end up making it difficult to control them. Many studies have been shown the ability of animals to use social information to obtain benefits, such as access to food resources or information about local risk (reviewed by Valone 2007). Considering that insecticides are usually repellents and that eusocial insects have the ability to communicate and avoid toxic substances, the use of chemical cues to attract these insects can be effective for their control.

The repellent effect of the imidacloprid insecticide in groups of *N. corniger* has already been observed in previous studies. Silva & Cristaldo (2020), for instance, demonstrated that the insecticide imidacloprid presents repellent effect in workers and soldiers of *N. corniger*. Similarly, Silva & Cristaldo (2021), demonstrated that sugarcane baits containing imidacloprid are less colonized and it have a longer time to be colonized compared to baits containing only solvent (control) and the terpene β -caryophyllene. Furthermore, the authors demonstrated, for the first time, that sugarcane baits with imidacloprid trigger a lower number of trophallaxis among the *N. corniger* groups; indicating that the imidacloprid is not passed on to the other individuals in the colony. Therefore, the use of the imidacloprid to control *N. corniger* becomes ineffective, once for the control of termites, it is necessary that toxic substance to propagate in the colony until it reaches the royal couple (or only the queen). On the other hand, the use of chemical cues showed here could be used together with toxic substances with a toxic effect, such as the terpene β -caryophyllene (Silva & Cristaldo 2020).

Concluding, chemical signals can be considered as a possible alternative to attract *N. corniger* to baits. Future studies should be carried out in order to evaluate the effect of chemical signals combine with low toxicity substances (*i.e.* β -caryophyllene) on decrease *N. corniger* population. In addition, it is necessary to evaluate the most viable option for the development of *N. corniger* control baits. As it is a natural substance, these chemical signals would be an environmentally safer option, mitigating the environmental problems caused by the use of insecticides, especially in urban environments.

Acknowledgements

This study was partially funded by the National Council of Technological and Scientific Development (CNPq), the Foundation for Research of the State of Pernambuco (FACEPE), and Brazilian Federal Agency for the Support and Evaluation of Graduate Education (CAPES-PROEX). CRS and MRPC are supported with a scholarship from FACEPE. RECS is supported with scholarship from CNPq. PFC holds a Research Fellowships from CNPq (PQ 310395/2019-4).

Authors Contribution

PFC conceived the study; PFC conceived the experiment; CRS, MRPC and RECS collected termite colonies in the field and performed the bioassays. PFC performed the statistical analyses. CRS and PFC wrote the first version of the manuscript. All authors review the manuscript.

Conflict of interest statement

The authors have declared that no competing interests exist.

Literature cited

Agarwal, M. & A. Verma.2020. Modern technologies for pest control: a review. *Heavy Metals-Their Environmental Impacts and Mitigation*.

Boulogne, I., R. Constantino., N. Amusant., M. Falkowski., A.M.S. Rodrigues & E. Houel.2017. Ecology of termites from the genus *Nasutitermes* (Termitidae: Nasutitermitinae) and potential for science-based development of sustainable pest management programs. *J Pest Sci* (2004) 90:19–37. <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0796-x>

Chouvenc, T., N.Y. Su & J.K. Grace.2011.Fifty years of attempted biological control of termites Analysis of a failure. *Biol Control* 59:69–82. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.06.015>

Constantino, R.2002.The pest termites of South America: taxonomy, distribution and status. *J Appl Entomol* 126:355–365.

Cristaldo, P.F., O. De Souza., J. Krasulová., K. Kotalová., E.R. Lima., J. Sobotník & D. Sillam-Dussés.2014. Mutual use of trail-following chemical cues by a termite host and its inquiline. *PLoS One* 9:e85315<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085315>

Fontes, L. & S. Milano.2002. Termites as an urban problem in South America. *Sociobiology* 40:103–151.

Junqueira, L.K., Berti Filho, E., Florencio, D.F., Diehl, E.2006. Efficiency of subterranean Baits for termite sampling in *Eucalyptus forests*. *Biokikos* 20: 3-7.

Masciocchi, M., R.D. Dimarco & J.C. Corley.2017.Pest management of social insects in urban settings. *Int J Pest Manag* 63:205–206. <https://doi.org/10.1080/09670874.2017.1310413>

Pickett, J.A., L.J. Wadhams & C.M. Woodcock.1997. Developing sustainable pest control from chemical ecology. *Agric Ecosyst Environ* 64:149–156. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(97\)00033-9](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0167-8809(97)00033-9)

R Development Core Team.2019. R: A Language and Environment for Statistical Computing. The R Foundation for Statistical Computing. ISBN: 3-900051-07-0, Vienna, Austria.

Rust, M.K & N.Y. Su.2011. Managing Social Insects of Urban Importance. *Annu Rev Entomol* 57:355–375. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100634>

Scheffrahn, R.H., J. Krecek., A.L. Szalanski & J.W. Austin.2005. Synonymy of Neotropical Arboreal Termites *Nasutitermes corniger* and *N costalis* (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), with Evidence from Morphology, Genetics, and Biogeography. *Ann Entomol Soc Am* 98:273–281. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2005\)098\[0273:SONATN\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2005)098[0273:SONATN]2.0.CO;2)

Sillam-Dussès, D.2010. Trail Pheromones and Sex Pheromones in Termites. Nova Science.

Silva, A.N.F., C.R. Silva., R.E.C. Santos., C.C.M. Arce., A.P.A. Araújo & P.F. Cristaldo.2021. Resource selection in nasute termite: The role of social information. *Ethology* 127:278–285. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/eth.13125>

Silva, C.R. & P.F. Cristaldo.2020. O terpeno β -cariofileno atrai ou repele *Nasutitermes corniger*? Anais da 24a Jornada de Iniciação Científica FACEPE.

Silva, C.R. & P.F. Cristaldo.2021. Avaliação do potencial de utilização do β -cariofileno em iscas para o controle de cupins. Anais da 25a Jornada de Iniciação Científica FACEPE.

Valone, T.2007. From eavesdropping on performance to copying the behaviour of others: a review of public information use. *Behav Ecol Sociobiology* 62:1-14.

Wilson, E.1971. *The Insect Societies*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, MA.

Table 1.Effect of treatments in the recruitment of *Nasutitermes corniger* groups over time during binary choice bioassays.

Source	Resid. <i>d.f.</i>	Resid. <i>Dev.</i>	<i>d.f.</i>	Deviance	P	
Control x Solvent control (C x SC)						
t= 1 hour						
NULL	13	100.15				
Treat	12	86.88	1	13.26	0.14	<i>n.s.</i>
t= 2 hour						
NULL	13	120.99				
Treat	12	116.14	1	4.85	0.43	<i>n.s.</i>
t= 4 hour						
NULL	13	96.29				
Treat	12	77.71	1	3.44	0.08	<i>n.s.</i>
t= 6 hour						
NULL	13	115.66				
Treat	12	111.88	1	3.78	0.50	<i>n.s.</i>
t= 12 hour						
NULL	13	89.50				
Treat	12	89.36	1	0.14	0.87	<i>n.s.</i>
t= 24 hour						
NULL	13	112.82				
Treat	12	112.11	1	0.70	0.76	<i>n.s.</i>
Solvent control x Insecticide (SC x I)						
t= 1 hour						
NULL	13	52.89				
Treat	12	37.99	1	14.89	0.03	*
t= 2 hour						
NULL	13	35.50				
Treat	12	13.42	1	22.07	0.0006	***
t= 4 hour						
NULL	13	46.30				
Treat	12	31.89	1	14.41	0.03	*
t= 6 hour						
NULL	13	30.21				
Treat	12	24.57	1	5.63	0.11	<i>n.s.</i>

Source	Resid. <i>d.f.</i>	Resid. <i>Dev.</i>	<i>d.f.</i>	Deviance	P	
t= 12 hour						
NULL	13	18.47				
Treat	12	18.45	1	0.02	0.91	<i>n.s.</i>
t= 24 hour						
NULL	13	35.92				
Treat	12	33.59	1	2.32	0.37	<i>n.s.</i>
Solvent control x Own chemical signal (SC x OC)						
t= 1 hour						
NULL	13	77.94				
Treat	12	37.41	1	40.53	0.003	**
t= 2 hour						
NULL	13	56.60				
Treat	12	49.42	1	7.18	0.16	<i>n.s.</i>
t= 4 hour						
NULL	13	95.23				
Treat	12	51.89	1	43.34	0.004	**
t= 6 hour						
NULL	13	130.19				
Treat	12	68.23	1	61.96	0.004	**
t= 12 hour						
NULL	13	100.05				
Treat	12	60.48	1	39.56	0.009	**
t= 24 hour						
NULL	13	58.20				
Treat	12	57.02	1	1.18	0.59	<i>n.s.</i>

Source	Resid. <i>d.f.</i>	Resid. <i>Dev.</i>	<i>d.f.</i>	Deviance	P	
Solvent control x Intercolonial chemical signals (SC x DC)						
t= 1 hour						
NULL	13	133.04				
Treat	12	106.54	1	26.50	0.03	*
t= 2 hour						
NULL	13	114.45				
Treat	12	95.79	1	18.66	0.13	<i>n.s.</i>
t= 4 hour						
NULL	13	146.25				
Treat	12	72.33	1	73.91	0.003	**
t= 6 hour						
NULL	13	159.38				
Treat	12	128.14	1	31.24	0.08	<i>n.s.</i>
t= 12 hour						
NULL	13	113.94				
Treat	12	59.98	1	23.95	0.03	*
t= 24 hour						
NULL	13	97.50				
Treat	12	69.87	1	27.63	0.03	*

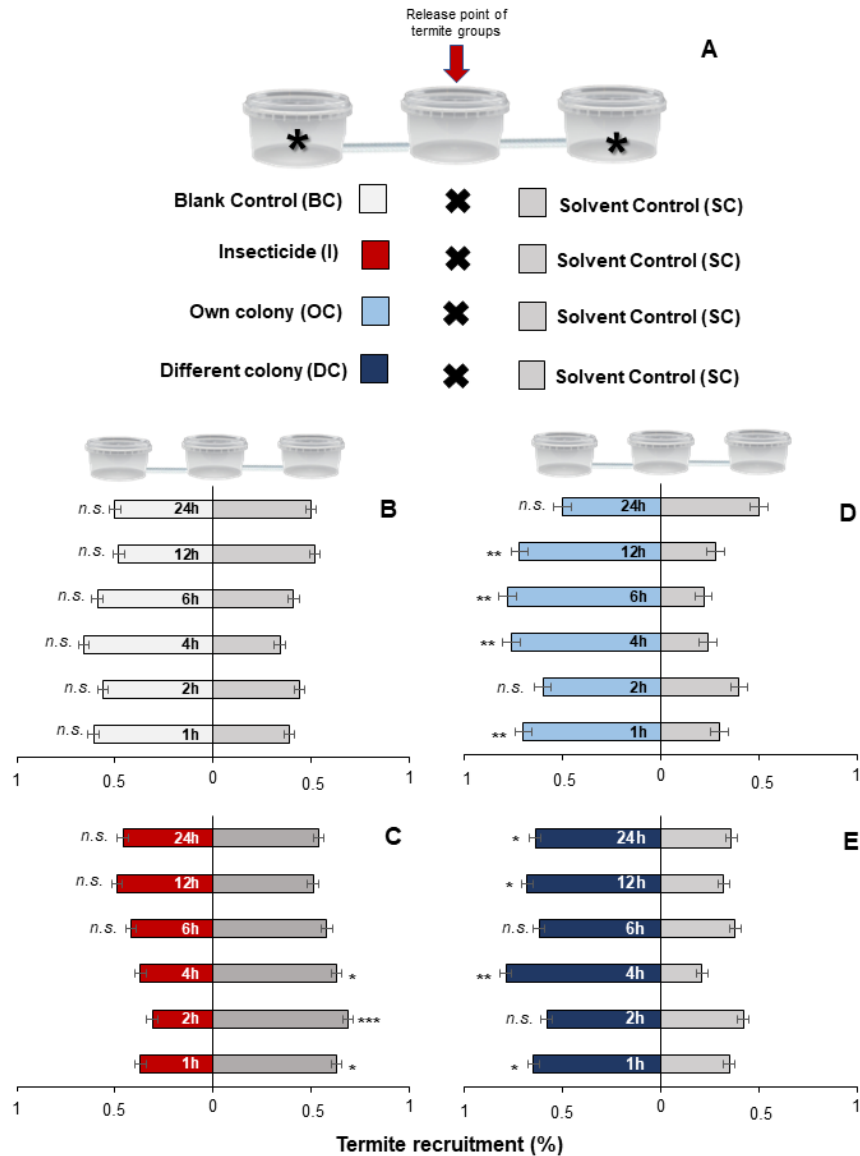


Figure 1. Effect of chemical foraging signals and imidacloprid insecticide on the proportion of recruited termites to sugarcane baits. (A) Experimental design of binary chance bioassays; (B) Proportion of termites colonizing baits from untreated sugarcane and treated with the hexane solvent after one, two, four, six, 12 and 24h of exposure of the groups of *N. corniger*; (C) Proportion of termites colonizing sugarcane baits treated with insecticide and treated with the solvent hexane after one, two, four, six, 12 and 24h of exposure of the *N. corniger* groups; (D) Proportion of termites colonizing sugarcane baits treated with colony signal and treated with the solvent hexane after one, two, four, six, 12 and 24h of exposure of the groups of *N. corniger*; (E) Proportion of termites colonizing sugarcane baits treated with different colony signal and treated

with hexane solvent after one, two, four, six, 12 and 24h of exposure of the groups of *N. corniger*. *n.s.* indicates no significant difference between the baits ($P > 0.05$).

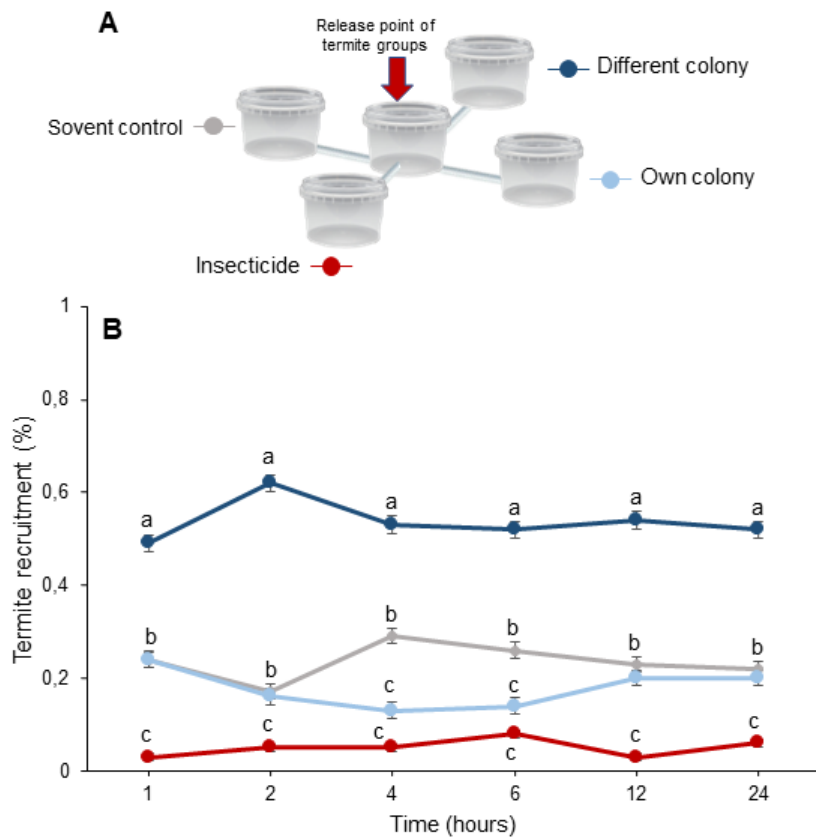


Figure 2. Effect of chemical foraging signals and imidacloprid insecticide on the proportion of termites in multiple choice. (A) Experimental design of multiple choice bioassays; (B) Proportion of termites colonizing sugarcane baits treated, respectively, with different colony cues, solvent control, own colony signal and insecticide after one, two, four, six, 12 and 24h of exposure of *N. corniger* groups.

CAPÍTULO 4

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo mostraram que o SGE desencadeou maior caminhamento nas trilhas de *N. corniger*, tanto por operários, quanto por soldados. Outro resultado obtido foi o fato do RFE oriundo de operários ser mais atrativo para os operários, indicando que as fezes parecem possuir um importante papel na orientação dos operários após a evaporação dos compostos químicos, porém, como não foram realizados bioensaios contendo o pavê fecal, novos estudos precisam ser feitos para analisar de fato o papel das fezes em *N. corniger*. Esses resultados aumentam o arcabouço teórico sobre ecologia química de forrageio de cupins, especialmente para cupins de famílias mais derivadas, como é o caso da espécie aqui estudada, a saber, *Nasutitermes corniger*, da família Termitidae, contribuindo para uma nova alternativa de controle de cupins pragas com base nos feromônios de trilha. Quanto aos resultados das iscas contendo sinais intracoloniais, intercoloniais e inseticida, grupos de *N. corniger* foram mais atraídos por iscas contendo sinais intercoloniais em comparação com sinais intracoloniais e inseticida. Este resultado é de suma importância para que iscas contendo sinais de maior atratividade (que neste caso foi as pistas químicas intercoloniais) sejam usadas para efetuar um controle de cupins mais efetivo.