

**MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÕES - MCTIC
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA - INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENTOMOLOGIA - PPG-ENT**

**Características funcionais de espécies frequentes de cupins (Blattaria:
Isoptera) em florestas tropicais amazônicas**

RAYSSA ALMEIDA DE AZEVEDO

Manaus - AM

Junho de 2022

RAYSSA ALMEIDA DE AZEVEDO

**Características funcionais de espécies frequentes de cupins (Blattaria:
Isoptera) em florestas tropicais amazônicas**

Orientador: Dr. José Wellington de Moraes (INPA)

Coorientador: Dra. Elizabeth Franklin Chilson (INPA)

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas (Entomologia).

Manaus - AM

Junho de 2022

BANCA EXAMINADORA

João Rafael Alves De Oliveira

Márlon Breno C. Santos da Graça

Diego Galvão de Pádua

A994 Azevedo , Rayssa Almeida de

Características funcionais de espécies frequentes de cupins (Blattaria: Isoptera) em florestas tropicais amazônicas / Rayssa Almeida de Azevedo; orientador José Wellington de Moraes; coorientadora Elizabeth Franklin Chilson; - Manaus:[s. l.], 2022.

16 MB

51 p. : il. color.

Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Entomologia) -
Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2022.

1. Cupins. 2. Traço morfológico. 3. Térmita. I. Moraes, José Wellington de. II. Chilson, Elizabeth Franklin. III. Título

CDD 595.736

Almeida-Azevedo, Rayssa

Características funcionais de espécies frequentes de cupins (Blattaria: Isoptera) em florestas tropicais amazônicas / Rayssa Almeida de Azevedo. – Manaus: [s.n.], 2022.

Dissertação (Mestrado)–INPA, Manaus, 2022.

Orientador: Moraes, José Wellington de.

Coorientadora: Franklin, Elizabeth.

Área de concentração: Entomologia

1. Traço morfológico. 2. Térmita. 3. Morfometria geométrica. I. Título.

Sinopse:

Estudou-se como os traços funcionais de espécies de cupins frequentes variam em florestas tropicais amazônicas. Os traços foram cabeça e mandíbula direita das espécies. Esses traços foram utilizados para verificar se existe variação intraespecífica e interespecífica da forma nas espécies mais frequentes.

Palavras-chave: Análise morfométrica, Fauna de solo, Traço funcional.

AGRADECIMENTO

Agradeço primeiramente a Deus por todo o caminho que pude percorrer até aqui.

Agradeço ao meu orientador, José Wellington de Moraes, por todo o ensinamento profissional que me deu e por estar sempre disposto a ajudar no desenvolvimento deste estudo. Também quero agradecer a minha coorientadora, Elizabeth Franklin Chilson, que da mesma maneira me auxiliou. Agradeço também a Renato Azevedo, por todo tempo investido em meu crescimento profissional, pelos incentivos e por estar sempre disposto a tirar minhas dúvidas. Obrigada, Renato, seu suporte foi fundamental para o desenvolvimento deste estudo.

Agradeço a minha família que foi a peça fundamental durante todo o processo de mestrado. Aos meus tios, em especial ao Rodolfo que mora comigo, ao Amaury que sempre perguntava como eu estava e ao Renato que sempre animou todas as reuniões familiares. Agradeço fortemente aos meus avós. E agradeço ainda mais minha querida mãe Arthemisa, que nunca deixou de me apoiar mesmo nos dias mais estressantes e difíceis. Obrigada mãe, por ser extremamente forte por mim.

Gostaria também de agradecer a todos os meus colegas de laboratório: Renato Azevedo, Rafael Sobral, João Rafael, Rafael Heleodoro, Alberto Neto e Natália Reategui pelas discussões nos horários de café que foram importantes para meu crescimento profissional.

Agradeço ao meu namorado Bruno, por estar ao meu lado nestes anos sempre torcendo por mim, e por me compreender nos dias difíceis e nos momentos que eu me frustrava por travar na leitura, na escrita e no R. Acredito que sejam momentos comuns a todos que realizam pesquisa. Obrigada, Bruno, por você ser a pessoa mais paciente e amável que já conheci.

Por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela disponibilidade da bolsa.

RESUMO

Sob o ponto de vista ecológico e evolucionário, é fundamental investigar os fatores que impulsionam a diversificação das funcionalidades das espécies nos ecossistemas. Assim, podemos compreender como as espécies são filtradas pelo ambiente e, por outro lado, como o ambiente é modificado por elas. Neste estudo, analisamos como as características interespecíficas da forma da cabeça e mandíbula de operários de espécies frequentes de cupins se modificam ao longo de florestas amazônicas. Em adição, investigamos a variação intraespecífica destas características funcionais em espécies frequentes e que ocorrem em mais de um sítio amostral ao longo da paisagem estudada. Foram avaliados cupins de 436 colônias coletadas em quatro sítios florestais ao longo de uma extensão longitudinal de 1400 quilômetros de Norte ao Sul na Amazônia Central. Dois sítios estão localizados no Estado de Roraima, um no Estado do Amazonas e outro no Estado de Rondônia. As coletas foram efetuadas seguindo o modelo de grade ou módulo com parcelas de 250 m de comprimento instaladas pelo PPBio. Em cada parcela, foram instaladas cinco subparcelas de 5 m × 2 m, com espaçamento de 50 m entre elas. Três coletores revistaram manualmente todos os possíveis locais habitáveis por cupins por 20 minutos/coletor. Métodos de morfometria geométrica foram aplicados para observarmos a forma da mandíbula e cabeça da casta operário de 17 espécies frequentes de cupins, sendo que apenas seis ocorreram em mais de um local. Foram feitas análises dos componentes principais e análise de variância de Procrustes. Ao longo dos sítios estudados, verificamos que as características funcionais interespecíficas de espécies variaram tanto na forma da mandíbula (dente apical), quanto da cabeça (largura e comprimento). Examinando a relação intraespecífica das seis espécies que ocorreram em dois ou mais locais de coleta, comprovamos mudanças significativas tanto na forma da mandíbula (dente apical, largura e comprimento), quanto da cabeça (largura e comprimento), em resposta ao ambiente investigado. A variação na forma das características destacadas aqui, sugere mudanças morfológicas relacionadas a pressões seletivas, em que morfologias se adaptam a diferentes espaços funcionais. Além disso, sugerimos que devido às espécies serem muito diferentes entre si, é possível a existência de espécies muito frequentes compartilhando o mesmo espaço funcional. Nossos resultados destacam ainda que os hábitos alimentares das espécies podem estar associados a variações morfológicas. Tal abordagem funcional é muito promissora para a compreensão da origem evolutiva de novas formas e espécies amazônicas.

ABSTRACT

From an ecological and evolutionary point of view, it is essential to investigate the factors that drive the diversification of species' functionalities in ecosystems. Thus, we can understand how the environment filters species and, on the other hand, how they modify their environment. This study analyzed how the interspecific characteristics of the head and mandibles in termite workers change throughout Amazonian forests. In addition, we investigated the intraspecific variation of these functional characteristics in frequent species which occur in more than one sampling site along the investigated landscape. Termites from 436 colonies collected in four forest sites along a longitudinal extension of 1400 kilometers from North to South in Central Amazonia were evaluated. Two sites are located in the State of Roraima, one in the State of Amazonas and another in the State of Rondônia. The collections were carried out following the grid or module model with 250 m long plots installed by PPBio. Five 5 m × 2 m subplots were installed in each plot, with a 50 m spacing between them. Three collectors manually searched all possible termite habitable sites for 20 minutes/collector. Geometric morphometric methods were applied to observe the shape of the mandible and head of the worker caste of 17 common termite species, with only six occurring in more than one location. Principal component analyzes and Procrustes analysis of variance were performed. Phylogenetic Generalized Least Squares models were used to test an association of morphological traits controlling for phylogenetic autocorrelation. Along with the studied sites, we proved that the interspecific functional characteristics of species varied in the shape of the mandible and the head. Examining the intraspecific relationship of the six species that occurred in two or more collection sites, we found significant changes in the shape of the apical tooth, the mandible's width and length, and the head's width and length in response to the investigated environment. The variation in the shape of the features highlighted here suggests morphological changes related to selective pressures, in which morphologies adapt to different functional spaces. Furthermore, we suggest that due to the species being very different from each other, it is possible for very frequent species to share the same functional space. Our results also highlight that the feeding habits of the species may be associated with morphological variations. Such a functional approach is very promising for understanding the evolutionary origin of new Amazonian forms and species.

Sumário

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
INTRODUÇÃO	1
OBJETIVOS	5
MATERIAL E MÉTODOS	6
RESULTADOS	12
DISCUSSÃO	29
CONCLUSÃO	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Tabela de espécies de cupins selecionadas por sítio de coleta. Os números ao lado de cada amostra representam o respectivo sítio.

Tabela 2. Resultados dos testes de Anova e Tukey da relação intraespecífica das espécies mais frequentes de cupins. Em negrito os valores significativos.

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Hipótese da distribuição de espécies ao longo do gradiente ambiental segundo Gleason (1926) e Clements (1916). A, variação gradual na composição da comunidade ao longo de gradiente ambiental. B, mudança abrupta na composição de espécies ao longo de gradiente ambiental. C e D, recorte das espécies mais abundantes em cada hipótese. Imagem adaptada de Vellend (2016).

Figura 2. Sítios de coleta. 1. Estação Ecológica de Maracá; 2. Parque Nacional do Viruá; 3. Reserva Ducke; 4. UHSA, Usina Hidrelétrica de Santo Antônio (UHSA).

Figura 3. Traços morfológicos utilizados para cada indivíduo da casta operário de cupins. A e C Pontos marcados em cada traço. B e D variação de pontos em cada característica.

Figura 4. Primeiro e segundo eixos da PCA com formato da cabeça e mandíbula de 17 espécies frequentes de cupins. A: cabeça, B: variações na forma da cabeça; C: mandíbula esquerda, D: variações na forma da mandíbula esquerda; E: mandíbula direita, D: variações na forma da mandíbula direita. Cada agrupamento de cor representa uma espécie frequente de cupim.

Figura 5. PCA da forma da cabeça e mandíbula por locais. A: PCA da forma da cabeça, B: forma da mandíbula esquerda, C: forma da mandíbula direita. Roxo (Ducke), verde (Viruá), rosa (Maracá), amarelo (UHSA).

Figura 6. Forma da cabeça e mandíbula de *Nasutitermes guayanae* em quatro sítios de coleta (Maracá, Viruá, Ducke e UHSA) A. PCA da forma da cabeça, B. variações na forma da cabeça; C. Plot da forma da cabeça; D. Resultados da Anova e Teste de Tukey; E. PCA da forma da mandíbula direita; F. Variações na forma da mandíbula; G. Plot da forma da mandíbula; H. Resultados da Anova e teste de Tukey. Cada cor representa uma localidade. Roxo (Ducke), amarelo (UHSA), verde (Viruá), rosa (Maracá).

Figura 7. Forma da cabeça e mandíbula de *Nasutitermes banksi* em três sítios de coleta (Viruá, Ducke e UHSA). A. PCA da forma da cabeça, B. Variações na forma da cabeça; C. Plot da forma da cabeça; D. Resultados da Anova e teste Tukey; E. PCA da forma da

mandíbula direita; F. variações na forma da mandíbula; G. Plot da forma da mandíbula; H. Resultados da Anova e Teste Tukey. Roxo (Ducke), verde (Vuruá), rosa (Maracá).

Figura 8. Forma da cabeça e mandíbula de *Heterotermes tenuis* que em três sítios de coleta (Maracá, Vuruá e Ducke) A: PCA da forma da cabeça, B: variações na forma da cabeça; C: Plot da forma da cabeça; D: Resultados da Anova e teste Tukey; E: PCA da forma da mandíbula direita; F: Variações na forma da mandíbula; G: Plot da forma da mandíbula; H: Resultados da Anova e teste Tukey. Roxo (Ducke), verde (Vuruá).

Figura 9. Forma da cabeça e mandíbula de *Neocapritermes braziliensis* em dois sítios de coleta (Vuruá e Ducke). A: PCA da forma da cabeça, B: variações na forma da cabeça; C: Plot da forma da cabeça; D: Resultados da Anova e teste Tukey; E: PCA da forma da mandíbula direita; F: Variações na forma da mandíbula; G: Plot da forma da mandíbula; H: Resultados da Anova e teste Tukey. Roxo (Ducke), verde (Vuruá).

Figura 10. Forma da cabeça e mandíbula de *Microcerotermes arboreus* em dois sítios de coleta (Maracá e Vuruá) A: PCA da forma da cabeça, B: variações na forma da cabeça; C: Plot da forma da cabeça; D: Resultados da Anova e teste Tukey; E: PCA da forma da mandíbula direita; F: Variações na forma da mandíbula; G: Plot da forma da mandíbula; H: Resultados da Anova e teste Tukey. Verde (Vuruá), rosa (Maracá).

Figura 11. Forma da cabeça e mandíbula de *Syntermes molestus* em dois sítios de coleta (Maracá e UHSA). A: PCA da forma da cabeça, B: variações na forma da cabeça; C: Plot da forma da cabeça; D: Resultados da Anova e teste Tukey; E: PCA da forma da mandíbula direita; F: Variações na forma da mandíbula; G: Plot da forma da mandíbula; H: Resultados da Anova e teste Tukey. Amarelo (UHSA), rosa (Maracá).

INTRODUÇÃO

Várias hipóteses têm sido usadas para explicar como o gradiente filtra as características morfológicas das espécies. No caso da distribuição das espécies, algumas hipóteses sugerem que as espécies podem responder individualmente ao ambiente (Clements, 1916) (Figura 1A), ou que as espécies podem ser uma entidade interdependente respondendo aos fatores ambientais (Gleason, 1926) (Figura 1B). Em ambos os casos, a abundância de espécies varia ao longo de gradientes particulares (Figura 1C), e dessa forma, uma ou várias espécies abundantes estão presentes ao longo de uma determinada área geográfica (Figura 1D). No entanto, é necessário compreender melhor quais fatores interagem para estruturar essas espécies abundantes nos ecossistemas e como suas características morfológicas respondem a esses fatores.

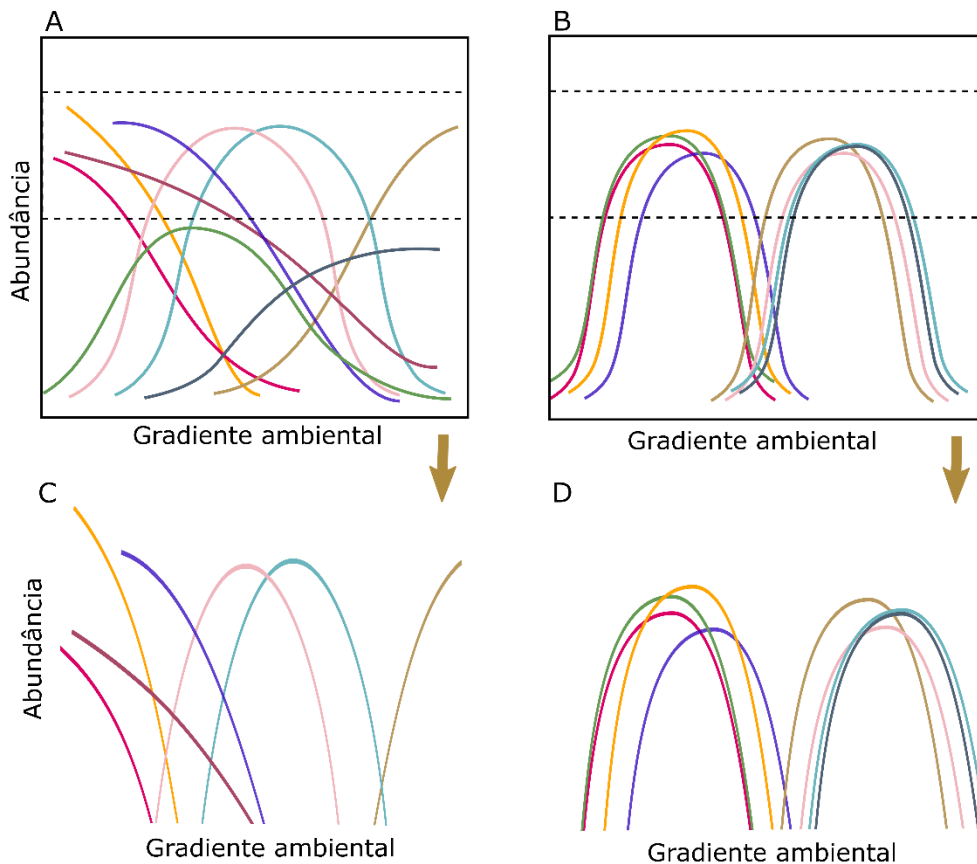


Figura 1. Hipótese da distribuição de espécies ao longo do gradiente ambiental segundo Gleason (1926) e Clements (1916). A, variação gradual na composição da comunidade ao longo de gradiente ambiental. B, mudança abrupta na composição de espécies ao longo de gradiente ambiental. C e D, recorte das espécies mais abundantes em cada hipótese. Imagem adaptada de Vellend (2016).

As pressões ecológicas têm efeitos variados em características morfológicas das espécies, por exemplo, o tamanho e a forma dos animais, confundindo os esforços para medir a evolução adaptativa somente por meio da identidade taxonômica das espécies (Marroig e Cheverud, 2005; Santana e Cheung, 2016; Slater e Friscia, 2019). Deste modo, mensurar a evolução das espécies através de ferramentas que possam ir além das descrições taxonômicas é essencial para elucidar sua história evolutiva e adaptativa. Há cerca de 20 anos, tem havido aumento no uso de dados tridimensionais morfológicos, e não há limitações matemáticas para dados em duas ou três dimensões (Adams *et al.*, 2013). A morfometria geométrica é um método que pode quantificar a trajetória de mudança de forma, como a progressão de crescimento alométrico ou ontogenético, sequências temporais, mudanças de forma evolutiva, mudanças de forma resultantes de mudanças ecológicas ou mudanças de forma observadas em plasticidade fenotípica (Adams *et al.*, 2013; Moreno, 2019).

Essas questões podem ser abordadas em parte pela identificação de correlações robustas entre traços ecológicos e morfológicos, fornecendo evidências de que pressões ecológicas específicas estão impulsionando mudanças fenotípicas adaptativas (Grossnickle, 2020). Por exemplo, estudos morfológicos sugerem fortes associações entre a forma das mandíbulas e a dieta dos mamíferos, incluindo evolução morfológica convergente em táxons distantemente relacionados, mas que ocupam nichos ecológicos semelhantes (Evans *et al.*, 2007; Boyer, 2008; Berthaume *et al.*, 2019). Apesar dessas associações entre morfologia e hábitos de vida, a maioria dos estudos quantifica apenas o tamanho das estruturas, e não como a forma do traço evoluiu (Graipel *et al.*, 2019). Além disso, alguns animais podem ser muito mais sensíveis a mudanças ambientais, e como resposta, suas características funcionais são filtradas pelo meio, tal qual ocorre em peixes (Svanback e Eklov, 2003; Gajdzik *et al.*, 2019) e muitos grupos de insetos (Simons *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2019; Guilherme *et al.*, 2019).

Os traços funcionais e morfológicos, como cabeças e aparelhos bucais de insetos, têm sido amplamente utilizados para medir como essas características podem se modificar a partir de pressões ecológicas (Marroig e Cheverud, 2005; Santana e Cheung, 2016; Slater e Friscia, 2019), fornecendo evidências de que pressões específicas estão impulsionando mudanças fenotípicas adaptativas (Grossnickle, 2020). Em alguns grupos como Collembola e Coleoptera a forma dos traços está diretamente relacionada aos hábitos de vida das espécies (Karolyi *et al.*, 2016; Malcicka *et al.*, 2016) e alterações no hábitat podem conduzir mudanças na

morfologia alimentar (Svanback e Eklov, 2003). No entanto, essas categorizações não revelam a evolução sutil que pode estar diferenciando e selecionando as espécies e que eventualmente levam a uma forte especialização ecológica.

Em florestas tropicais, alguns insetos se destacam pela sua alta abundância e por serem agentes na manutenção do ecossistema, como é o caso de cupins (Holldoble e Wilson, 1990). Por exemplo, os cupins estão entre os mais abundantes artrópodes de solo nos ecossistemas tropicais e podem influenciar a distribuição de outros organismos (Black e Okwakol, 1997; Davies *et al.*, 1999; Okwakol, 2000; Tuma *et al.*, 2020). Na Amazônia, a comunidade de cupins está fortemente relacionada com o gradiente físico e químico do solo (Dambros *et al.*, 2017), além do tipo de vegetação (Ackerman *et al.*, 2009). No entanto, algumas espécies se destacam pela sua grande frequência em diferentes áreas da floresta. Portanto, supostamente essas espécies possuem características morfológicas que favorecem sua dominância e contribuem para um melhor sucesso adaptativo.

Os cupins são insetos sociais que evoluíram de baratas e formam um grupo-irmão das baratas do gênero *Cryptocercus* (Lo *et al.*, 2000). Algumas espécies de cupins são importantes decompositores, sendo a principal fonte de alimento material vegetal morto em vários estágios de decomposição como madeira morta, serrapilheira, grama seca e solo com quantidades variadas de minerais (Donovan, 2001; Eggleton e Bignell, 2001). Algumas espécies de cupins comedores de madeira podem decompor metade da vegetação em florestas tropicais na Malásia (Griffiths *et al.*, 2019) e são capazes de processar até 60% da produção anual de serrapilheira em ecossistemas tropicais (Wood e Sands, 1978; Collins, 1981). Além disso, os cupins são capazes de digerir uma parcela significativa da celulose presente nos alimentos ingeridos com a ajuda de suas poderosas mandíbulas e moela (Constantino *et al.*, 1999). Dessa forma, a análise desse grupo de insetos é capaz de prover informações confiáveis se o objetivo é mensurar sua funcionalidade no ecossistema.

Para cupins, algumas estruturas funcionais são utilizadas para separar grupos alimentares, como a denteição e forma das mandíbulas (Primanda *et al.*, 2005; Donovan *et al.*, 2001; Azevedo *et al.*, 2021). Isso porque as mandíbulas de cupins estão diretamente relacionadas ao hábito alimentar (Donovan *et al.*, 2001; Primanda *et al.*, 2005, Azevedo *et al.*, 2021). Essas adaptações são observadas em outros grupos de invertebrados (Károlyi *et al.*, 2016; Malcicka *et al.*, 2017) e vertebrados (Grossnickle, 2020). Além disso, o tamanho dos dentes das mandíbulas já foi utilizado para verificar relações intraespecíficas entre diferentes

hábitats (Liu *et al.*, 2020). A outra característica funcional bastante utilizada para medições taxonômicas e de diversidade funcional é a cabeça dos cupins. A cápsula cefálica dos cupins abriga músculos que estão diretamente ligados a biomecânica das mandíbulas (Kaji *et al.*, 2016), além de ser fortemente diferenciada entre operários e soldados. O mastigar de soldados e operários de algumas espécies de cupins pode influenciar mudanças sutis na morfologia da cabeça e essas mudanças surgem gradualmente no organismo (Kaji *et al.*, 2016). Essas alterações na forma da cabeça pelo mastigar das mandíbulas foram muito bem avaliadas para insetos prógnatos (David *et al.*, 2016; Blanke *et al.*, 2018). Além disso, a forma da cabeça pode ser utilizada como um caráter para a discriminação de espécies através de análises multivariadas, agrupando táxons através da forma (Herrera *et al.*, 1996; Anez *et al.*, 1997; Karolyi *et al.*, 2016; Marramà e Kriwet, 2017; Wikantyoso, *et al.*, 2021). Tais estudos podem explicar que a existência e coexistência de espécies é possível por elas terem morfologias mais distintas entre si.

Neste estudo, nós analisamos a forma das características funcionais cabeça e mandíbula de operários de 17 espécies mais frequentes de cupins ao longo de florestas amazônicas. Além disso, realizamos comparações intraespecíficas de cabeças e mandíbulas de seis espécies mais frequentes que ocorreram em mais de um sítio de coleta. Nós hipotetizamos que, através de morfometria geométrica, poderíamos avaliar como a forma das características morfológicas varia em espécies de cupins frequentes. Supomos que através das comparações inter- e intraespecíficas poderíamos demonstrar que as espécies mais frequentes possuem diferenças entre suas características funcionais e entre diferentes sítios amostrais.

OBJETIVOS

Avaliar a variação interespecífica da forma das características funcionais cabeça e mandíbula de operários de espécies frequentes de cupins em quatro sítios amostrais situados ao longo de florestas amazônicas.

Comparar a variação intraespecífica na forma das características funcionais cabeça e mandíbula de operários de espécies frequentes de cupins que ocorrem em mais de um sítio amostral ao longo da paisagem de florestas amazônicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Estudo da área

As coletas foram realizadas entre 2008 à 2014 em quatro sítios de amostragem pelos pesquisadores Cristian Dambros e Renato Azevedo. Dois desses locais estão localizados no Estado de Roraima, a Estação Ecológica do Maracá e Parque Nacional do Viruá, a partir de agora chamados de Maracá e Viruá. Outros dois locais estão localizados no Estado do Amazonas, na Reserva Ducke, a partir de agora chamada de Ducke, e no Estado de Rondônia, nos módulos próximos à Usina Hidrelétrica de Santo Antônio, a partir de agora chamados de UHSA (Figura 2). As amostras de cupins estão depositadas no Laboratório de Sistemática e Ecologia de Invertebrados do Solo, INPA, Manaus, Brasil.

O sítio Maracá (03°24'20''N, 61°29'18''W), é constituído pela Ilha de Maracá situada no Rio Uraricoera, Santa Rosa e Maracá (Thompson *et al.*, 1992). A estação abrange uma área de mais de 100.000 ha e é uma das maiores ilhas protegidas do mundo (ICMBio 2015). A vegetação é caracterizada por Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Estacional Decídua, Floresta Estacional Semidecídua, além de Buritizais, Brejos e pequenos trechos de Savana. O relevo é ondulado com formação de morros na parte Oeste (ICMBio 2015). Os solos têm dominância arenosa e com formação de solos argilosos na porção mais ao norte de Maracá (Souza *et al.*, 2012; ICMBio, 2015). O clima é considerado “Am”, clima monção (Kottek *et al.*, 2006) com estação chuvosa de abril a agosto e uma estação seca de setembro a março. A temperatura média anual é de 24°C (CPTEC, 2022).

O sítio Viruá (01°29'12''N, 61°02'52''W), compreende uma área de cerca de 227.000 ha. A vegetação é heterogênea, com mosaicos de diferentes fisionomias de Floresta Ombrófila Aberta, Floresta Ombrófila Densa, Floresta de Igapó e Várzea, Campinas e Campinaranas (Souza *et al.*, 2016). O relevo é predominantemente plano e inundável durante parte do ano, com formação de serras e rampas. O solo é arenoso mal drenado, argiloso-arenoso e solos sedimentares e metamórficos (Ribeiro, 2014). O tipo de clima pertence ao “Af”, constantemente úmido (Kottek *et al.*, 2006), com estação chuvosa de abril a agosto e uma estação seca de setembro a março, com temperatura média anual de 26°C (CPTEC, 2022)

O sítio Ducke, distante 26 Km do perímetro urbano de Manaus, na AM 010, (02°58'2,05''S, 59°55'52,69'O), pertence ao INPA desde 1963 cobrindo uma área de 10.000 ha. A reserva está inserida à Área de Proteção Ambiental Adolpho Ducke, tornando-se protegida pelo Sistema Nacional de Unidades de Conservação. O relevo é ondulado com

platôs de solos argilosos, vertentes com solos em gradativa transição, e baixios com solos arenosos coberto por uma Floresta Úmida de Terra Firme, não sujeita a inundações (Hopkins 2005). O clima é classificado como “Af” (Kottek *et al.*, 2006). A estação chuvosa ocorre de novembro a maio e a seca ocorre de junho a outubro, com temperatura média anual de 26 °C (CPTEC, 2022).

O sítio UHSA, está localizado no alto Rio Madeira. As áreas fazem parte dos Programas de Monitoramento de Fauna da Usina Hidrelétrica de Santo Antônio (UHSA). Foram construídos módulos de monitoramento ao longo do Rio Madeira, compreendendo as áreas de influência da UHSA. A área possui solo argiloso e siltoso, com vegetação variando em altura ao longo de toda sua extensão, além da presença de sub-bosque (Carrijo, 2013). O dossel varia de aberto a fechado, e o clima é classificado como “Aw”, tropical quente (Kottek *et al.*, 2006). A estação chuvosa ocorre de novembro a abril e a seca ocorre de maio a outubro, com temperatura média anual de 26°C (CPTEC, 2022).



Figura 2. Sítios de coleta (círculos marrons). 1, Estação Ecológica de Maracá. 2, Parque Nacional do Viruá. 3, Reserva Ducke. 4, UHSA Usina Hidrelétrica de Santo Antônio (UHSA).

Delineamento amostral e protocolo de coleta

Todas as coletas foram realizadas em grades ou módulos instalados pelo Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio). O sistema grade compreende trilhas que vão de Norte a Sul e de Leste a Oeste regularmente espaçadas para acessar as parcelas. Por exemplo, na Ducke existem 30 parcelas monitoradas pelo PPBio. Na UHSA, existe o sistema módulo, com 10 parcelas. Ambas as estratégias são apropriadas para pesquisas ecológicas de longa-duração, permitindo inventários rápidos para avaliação da complementaridade biótica e

planejamento do uso da terra na Amazônia (Magnusson *et al.*, 2005). A distância entre as parcelas é de 1 km e cada parcela possui um transecto de 250 m de comprimento, seguindo a curva do relevo para minimizar as variações edáficas (Magnusson *et al.*, 2005).

Cada parcela foi dividida em cinco subparcelas de 5×2 m, distantes 50 m uma da outra. Esse protocolo foi implementado para o modelo de grade ou módulo, de acordo com as parcelas de 250 m de comprimento instaladas pelo PPBio (Dambros *et al.*, 2020). Em cada subparcela, os cupins foram coletados por três coletores durante o período de 20 minutos/coletor. Os cupins encontrados foram coletados manualmente com auxílio de pinças entomológicas, e para cavar o solo e quebrar troncos maiores foi usada uma picareta. Todos os possíveis locais habitáveis por cupins foram revistados, tais como: solo, madeira morta, ninhos (epígeos, hipógeos e arbóreos de até 2 m de altura), galerias de forrageamento, raízes de plantas, fezes de animais, frutos caídos e serapilheira. O material coletado foi acondicionado em frascos coletores plásticos contendo álcool 70%. As amostras foram triadas e identificadas por meio de chaves de identificação (Constantino, 1999) e comparadas com o material depositado na Coleção de Invertebrados do INPA. Todo o material está no laboratório de Sistemática e Ecologia de Invertebrados do Solo (INPA).

Seleção das espécies e protocolo de dissecação

Para selecionar as espécies com maior frequência em cada um dos quatro sítios amostrados, foi utilizada uma fórmula matemática que leva em consideração a frequência máxima de uma espécie dividida por dois. Por exemplo, a espécie X ocorreu em 28 das 30 parcelas da Reserva Ducke, então todas as espécies que foram encontradas em 14 parcelas ou mais, foram consideradas frequentes. Além disso, como se trata de um grupo social que possui uma estrutura organizada, cada ninho ou colônia foi tratada como um indivíduo.

Ao todo, 17 espécies de cupins e 436 colônias foram selecionados (Tabela 1). Três indivíduos por colônia foram retirados para dissecação e fotos, totalizando 1.308 indivíduos mensurados. Os traços morfológicos escolhidos das espécies de cupins frequentes foram cabeça e mandíbulas. Esses caracteres são relevantes para o uso de recursos e hábito de vida (Eggleton, 2011; Kaji *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2019).

As dissecações foram feitas com pinça e estilete entomológico em uma Placa de Petri e observadas sob microscópio estereoscópio Leica MZ205. Cada operário era posto em lâmina para a remoção da cabeça e mandíbulas. Após a remoção da cabeça, a mandíbula era

dissecada, evitando-se rachaduras na cabeça antes da fotografia. Todas as regiões dissecadas juntamente ao corpo, foram colocadas em frasco coletor Ependorff com álcool 80% e colocado com liga elástica na amostra original.

Tabela 1. Tabela de espécies de cupins mais frequentes selecionadas por sítio de coleta.

Táxon	Número de colônias	Sítios de ocorrência
<i>Nasutitermes guayanae</i>	75	Ducke/UHSA/Viruí/Maracá
<i>Heterotermes tenuis</i>	62	Ducke/Virua/Maracá
<i>Nasutitermes banksi</i>	43	Ducke/UHSA/Viruí
<i>Microcerotermes arboreus</i>	32	Viruí/Maracá
<i>Neocapritermes braziliensis</i>	29	Ducke/Viruí
<i>Syntermes molestus</i>	27	UHSA /Maracá
<i>Cornicapritermes</i> sp.3	11	Maracá
<i>Dentispicotermes</i> sp.3	16	Maracá
<i>Nasutitermes gaigei</i>	20	Maracá
<i>Neocapritermes</i> sp.8	12	Maracá
<i>Syntermes parallelus</i>	12	Maracá
<i>Macuxitermes triceratops</i>	9	Maracá
<i>Cylindrotermes parvignathus</i>	21	Ducke
<i>Dolichorhinotermes longilabius</i>	17	UHSA
<i>Embiratermes ignotus</i>	18	UHSA
<i>Planicapritermes planiceps</i>	17	UHSA
<i>Triangularitermes triangulariceps</i>	15	UHSA

Dados morfométricos

A morfometria geométrica é a análise estatística da variação da forma e sua covariação com outras variáveis (Bookstein, 1991). Esse método quantifica a variação na forma de objetos anatômicos usando as coordenadas cartesianas de pontos de referência anatômicos. Os estudos de morfometria geométrica são realizados através do Paradigma de Procrustes, uma abordagem estatística rigorosa para análise da forma (Kendall, 1981, 1984, 1985). Primeiro, de cada espécime é obtido um conjunto de coordenadas de pontos de referência bi ou tridimensionais, que registram posições anatomicamente definíveis. Esses pontos de referência podem ser considerados “pontos fixos”, pois definem atributos biológicos distintos. Em seguida, uma análise generalizada de Procrustes (GPA: Gower, 1975; Rohlf e Slice, 1990) é usada para sobrepor as configurações de pontos de referência em todos os espécimes a um sistema de coordenadas comum. Esse procedimento traduz todos os espécimes para a origem, dimensiona-os para o tamanho do centróide unitário e os gira para minimizar os desvios totais das coordenadas do ponto de referência de todos os espécimes (Adams *et al.*, 2013).

Neste estudo, os valores morfométricos foram obtidos a partir da distância entre *landmarks* (pontos homólogos) ou *semi-landmarks* (pontos não homólogos) (Parés-Casanova *et al.*, 2020). Os *landmarks* são coordenadas homólogas que indicam uma forma biológica, enquanto os *semi-landmarks* são coordenadas arbitrárias ao longo de uma curvatura entre os pontos de referência (Bookstein, 1986, 1991). As coordenadas das cabeças e mandíbulas dos operários foram definidas para representar a forma e foram determinadas a partir de estudos morfométricos de separação de espécies a partir da cápsula cefálica de soldados de cupins (Wikantyo *et al.*, 2021) e mandíbulas de operários de cupins (Liu *et al.*, 2019; Azevedo *et al.*, 2021).

Relação interespecífica

A cápsula cefálica foi dividida em quatro pontos: região anterior (pontos 1 a 8 e 26 a 33) e posterior (pontos 8 a 26) e região lateral esquerda e direita (separadas pelo ponto central 17) (Figura 3 A-B). Os 33 *semi-landmarks* foram dispostos de forma a capturar a curvatura da cabeça (Figura 3D). Para a mandíbula, a marcação dos *landmarks* foram em dentes, côndilos, placas e proeminências molares, e *semi-landmarks* na curvatura anterior e entre côndilos (Figura 3 D-E). A mandíbula esquerda recebeu 13 pontos, enquanto a mandíbula direita recebeu 14 pontos (Figura 3D).

Relação intraespecífica

Para a análise da relação intraespecífica, utilizamos 33 pontos para a cabeça (Figura 3B). Nós utilizamos apenas a mandíbula direita das espécies. Essa escolha decorre de estudos prévios para observação de características funcionais intraespecíficas que utilizam apenas uma das mandíbulas dos operários de cupins, em decorrência de sua assimetria (ver Liu *et al.*, 2019). Os pontos utilizados para a análise intraespecífica da mandíbula seguem os mesmos 14 pontos da relação interespecífica (Figura 3 D e E, mandíbula direita).

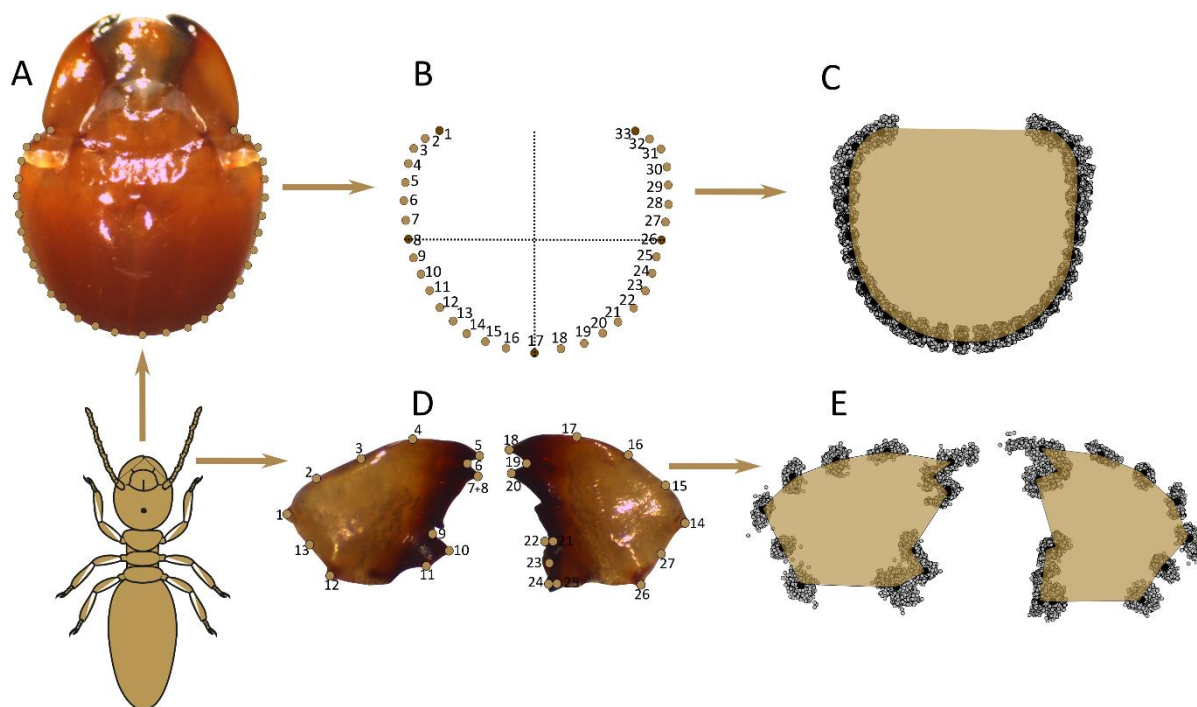


Figura 3. Traços morfológicos utilizados para cada indivíduo da casta operário de cupins. A e B, Marcos da cabeça. D, Marcos das mandíbulas. C e E, Variação de pontos em cada característica.

Análise de dados

Associação de características morfológicas aos sítios amostrais

Para quantificar as formas das estruturas morfológicas (mandíbulas e cabeças) os pontos da mandíbula esquerda foram separados dos pontos da mandíbula direita. Em seguida, foi realizada uma análise de Procrustes para cada estrutura (mandíbula esquerda, mandíbula direita e cabeça) utilizando as coordenadas dos pontos. Essa análise realiza uma rotação e dimensionamento separando o tamanho e a forma das estruturas, retornando um vetor de tamanho para cada amostra e uma matriz de coordenadas anatômicas da forma para cada amostra (Adams *et al.*, 2013).

Essa matriz de coordenadas é independente do tamanho da estrutura e permite a comparação considerando apenas a forma. Para quantificar a forma, essas matrizes foram resumidas usando uma análise de componentes principais (PCA). O primeiro e segundo eixos da PCA foram utilizados para as análises por terem capturado mais de 70% da variação da forma, nos casos da relação interespecífica, e mais de 60% da variação da forma, nas relações intraespecíficas.

Para verificarmos a forma das estruturas na relação interespecífica, usamos a representação da forma de todos os sítios de coleta. Para a observação intraespecífica da forma por sítios de coleta, utilizamos Análise de Variância (ANOVA) ou teste T. Usamos a forma das estruturas (obtida da análise de Procrustes) ou o eixo PCA representando a forma como variáveis de resposta e os sítios de coleta como variáveis predictoras. Para verificar se havia diferença significativa na forma dos atributos entre as espécies, realizamos Teste de Tukey ou o teste T.

As espécies com caminhos evolutivos compartilhados tendem a ter características e hábitos semelhantes devido à autocorrelação filogenética (Felsenstein, 1985). Para testar uma associação de características morfológicas controlando a autocorrelação filogenética, usamos modelos de Mínimos Quadrados Generalizados Filogenéticos (PGPS). Esta análise considera a relação entre as espécies e pondera de forma diferente os grupos irmãos. Um Teste de Tukey foi utilizado para corrigir as comparações entre espécies considerando a autocorrelação filogenética. Como não foi possível construir uma filogenia, a análise foi feita com base em filogenias recentes (Bourguignon *et al.*, 2015).

A marcação morfométrica foi realizada no programa tpsDig2 (Rohlf, 2017). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa R (R Core Team 2022) usando os pacotes geomorf (Adams, 2021), ape (Paradis e Schliep, 2019), picante (Kembel *et al.*, 2010), nlme (Pinheiro, 2020), multcomp (Hothorn *et al.*, 2008), MASS (Venables e Ripley, 2002), fitools (Revell, 2012) e vegan (Okasanen *et al.*, 2020).

RESULTADOS

Relação interespecífica

Resposta das 17 espécies frequentes de cupins às formas da cabeça e das mandíbulas

A forma da cabeça e das mandíbulas (esquerda e direita) foram diferentes entre as espécies mais frequentes de cupins (Figuras 4 A, C, E). A forma da cabeça variou de larga na margem anterior, a cabeça oval ou totalmente redonda (Figura 4B 1-4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 64,8% e 12,8% de variação da forma, respectivamente.

As estruturas mais variáveis da mandíbula foram os dentes, as placas e as proeminências molares. A forma da mandíbula esquerda variou de dentes muito próximos (Figura 4D, 1 e 2), mandíbula curta e proeminência molar larga (Figura 4D, 1 e 3) a dente apical fortemente desenvolvido (Figura 4D, 3) e mandíbula longa e proeminência molar

pouco desenvolvida (Figura 4D, 2 e 4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 42,5% e 13,1% de variação da forma, respectivamente. A forma da mandíbula direita variou de conjuntos de dentes distantes das placas molares (Figura 4F, 1 e 2), dentes marginais próximos as placas molares e dentes apicais muito desenvolvidos (Figura 4F, 3). O primeiro e o segundo eixos capturaram 56,2% e 13% da variação da forma, respectivamente.

Em relação a disposição das características funcionais cabeça e mandíbulas no espaço funcional (Figura 5 A-C), houve sobreposição de formas para alguns sítios, como Ducke (roxo) e Viruá (verde). Em contraste, na UHSA (amarelo) houve variação na forma das características funcionais, e essa variação engloba a variação nas formas observadas para Maracá (rosa). A PCA da forma da cabeça dos sítios de coleta capturou 65,5% para o primeiro eixo e 12,6% para o segundo eixo (Figura 5A). A PCA da forma da mandíbula esquerda capturou 42,4% e 13,4% de variação da forma no primeiro e segundo eixos, respectivamente (Figura 5B). A PCA da mandíbula direita capturou 59,2% e 12,6% de variação da forma no primeiro e segundo eixos, respectivamente (Figura 5C).

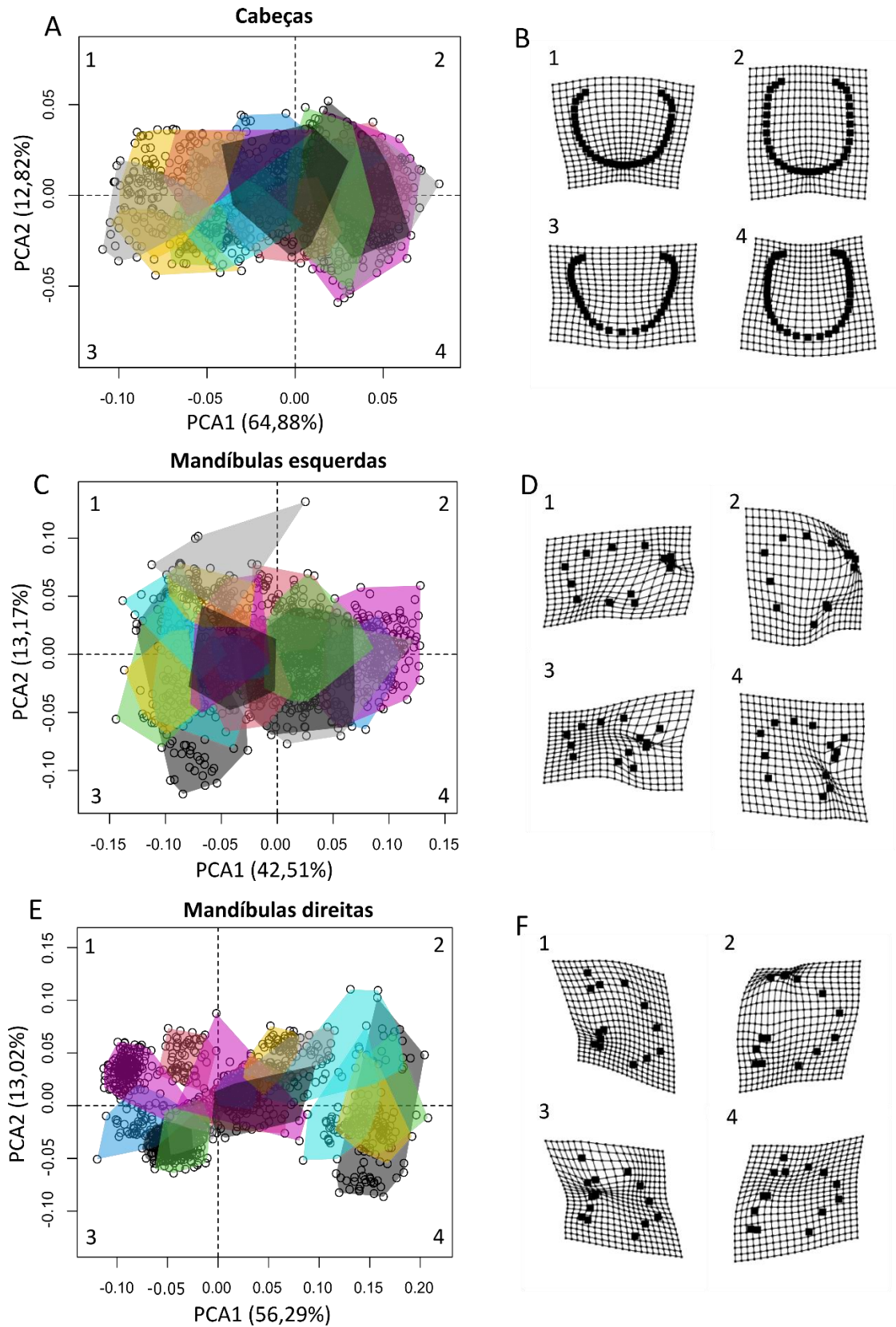


Figura 4. Primeiro e segundo eixos da PCA com formato da cabeça e mandíbula de 17 espécies frequentes de operários de cupins. A, cabeça. B, variações na forma da cabeça. C, mandíbula esquerda. D, variações na forma da mandíbula esquerda. E, mandíbula direita. D, variações na forma da mandíbula direita. Cada agrupamento de

cor representa uma das 17 espécies frequentes de cupim. Os círculos representam os 1308 indivíduos mensurados.

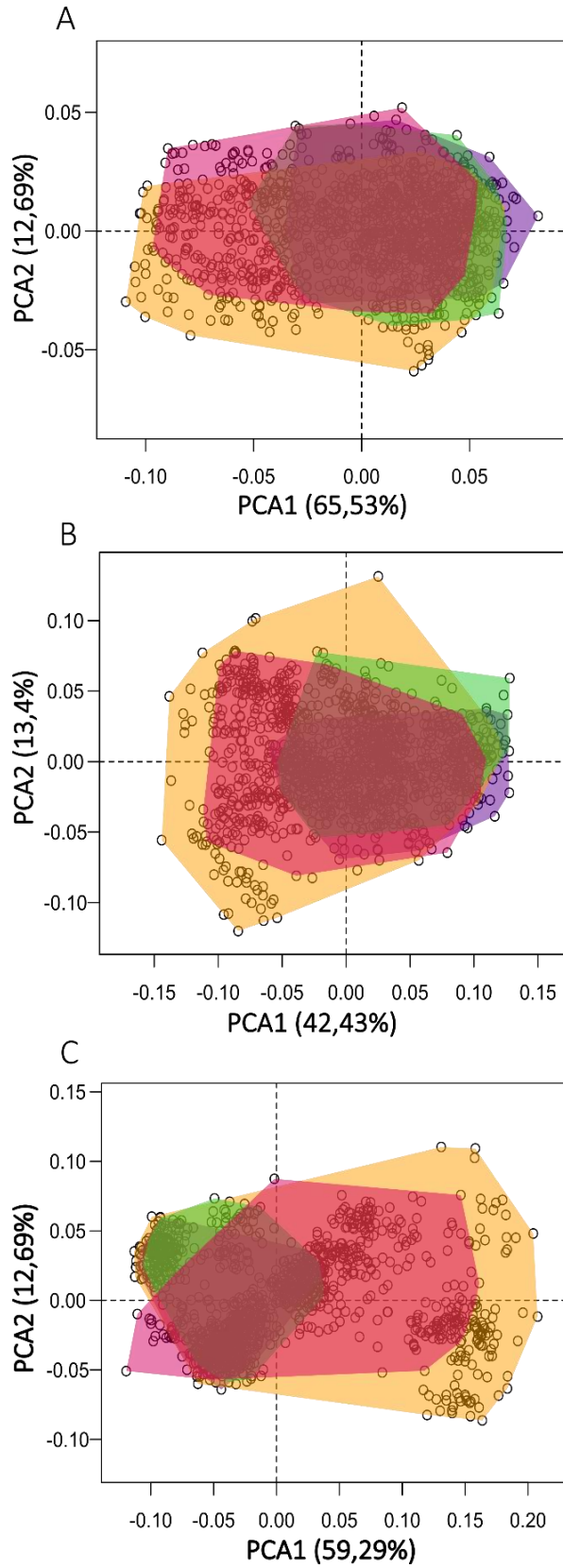


Figura 5. PCA da forma da cabeça e mandíbula por locais. A, PCA da forma da cabeça. B, PCA da forma da mandíbula esquerda. C, PCA da forma da mandíbula direita. Roxo (Ducke), amarelo (UHSA), verde (Vuruá), rosa (Maracá). Os círculos representam os 1308 indivíduos mensurados.

Relações Intraespecíficas

Respostas das espécies frequentes de cupins à forma da cabeça e mandíbula

Apenas seis das 17 espécies ocorreram em mais de um sítio e foram usadas para testar relações intraespecíficas (Tabela 1): *Nasutitermes guayanae*, *Nasutitermes banksi*, *Heterotermes tenuis*, *Neocapritermes braziliensis*, *Microcerotermes arboreus* e *Syntermes molestus*. Apenas *Nasutitermes guayanae* ocorreu nos quatro sítios. Duas espécies ocorreram em três sítios: *Nasutitermes banksi* na Ducke, UHSA e Vuruá e *Heterotermes tenuis* na Ducke, Vuruá e Maracá. Três espécies ocorreram em dois sítios: *Neocapritermes braziliensis* na Ducke e Vuruá, *Microcerotermes arboreus* em Vuruá e Maracá e *Syntermes molestus* em UHSA e Maracá. Houve diferença significativa para as formas das espécies de cupins mensuradas e os sítios de coleta (Tabela 2).

A forma da cabeça de *Nasutitermes guayanae* (Figuras 6, A-H) variou em média entre UHSA e Maracá ($p < 0,001$), Vuruá e Maracá ($p < 0,001$) e UHSA e Ducke ($p = 0,012$) (Figura 6D). A dissimilaridade foi registrada na região lateral, com cabeças mais ovais ou paralelas para Maracá (Figura 6B, 2 e 4) a cabeças mais achatadas lateralmente para UHSA (Figura 6B, 3). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 41,1% e 11,8% de variação da forma, respectivamente (Figura 6A). Para a mandíbula direita, houve variação média entre Ducke e Maracá ($p = 0,020$) (Figura 6H). A variação da mandíbula direita foi registrada na distância entre os dentes, com dentes mais próximos a mais espaçados entre si, além de mandíbulas com curvaturas laterais levemente maiores em Maracá (Figura 6F, 2), a mandíbulas muito curtas para a Ducke (Figura 6F, 4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 31,3% e 14,2% de variação da forma, respectivamente (Figura 6E).

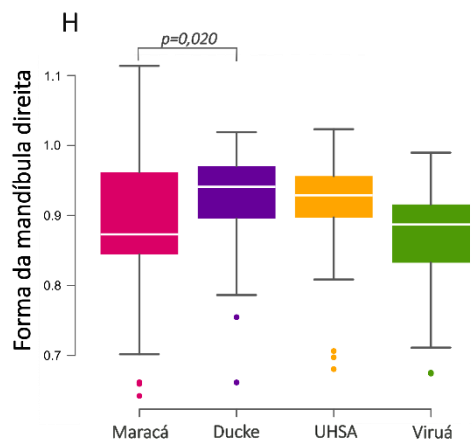
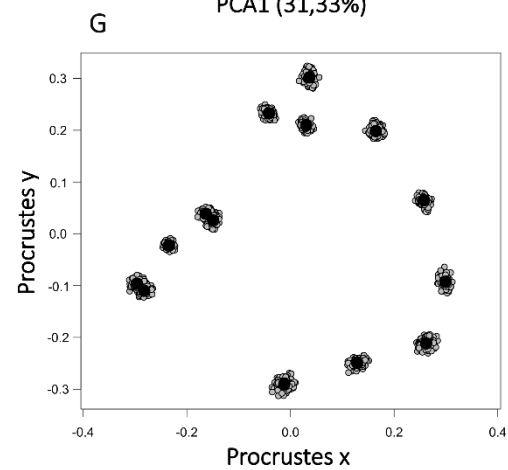
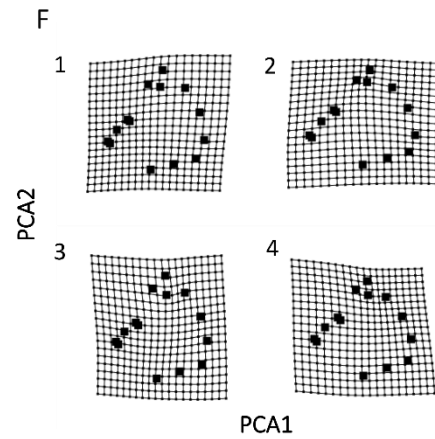
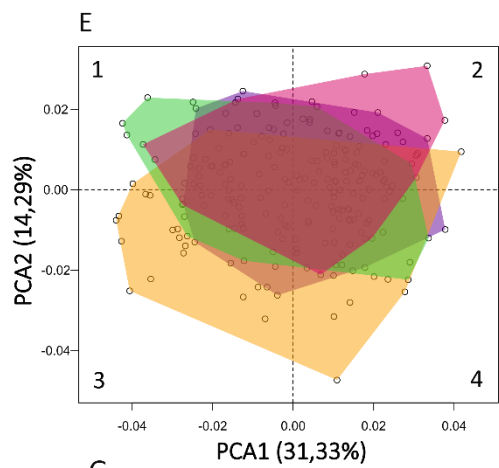
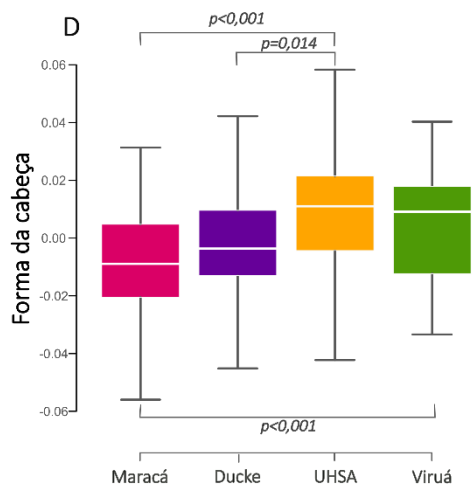
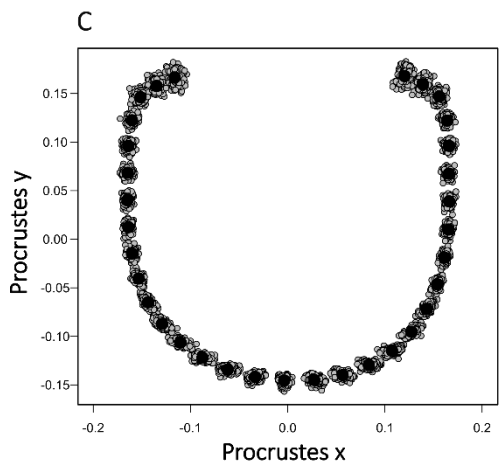
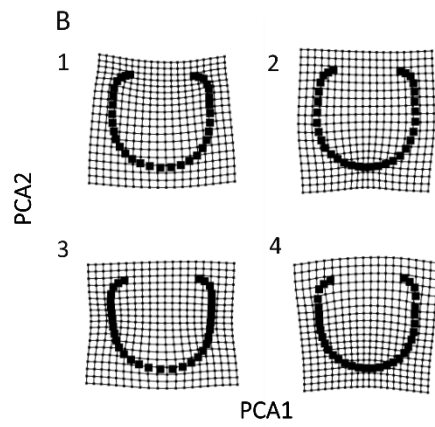
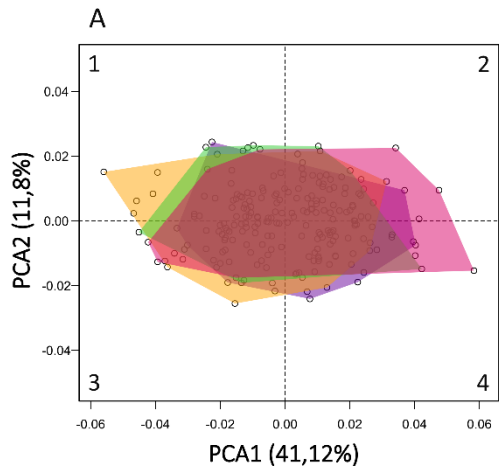


Figura 6. Forma da cabeça e mandíbula de *Nasutitermes guayanae* em quatro sítios de coleta (Maracá, Viruá, Ducke e UHSA). A, PCA da forma da cabeça. B, variações na forma da cabeça. C, Plot da forma da cabeça. D, Resultados da Anova e Teste de Tukey. E, PCA da forma da mandíbula direita. F, variações na forma da mandíbula. G, Plot da forma da mandíbula. H, Resultados da Anova e teste de Tukey. Cada cor representa uma localidade. Roxo (Ducke), amarelo (UHSA), verde (Viruá), rosa (Maracá). Os círculos representam 225 indivíduos mensurados.

A forma da cabeça *Nasutitermes banksi* (Figura 7, A-H) variou em média entre UHSA e Viruá ($p = 0,006$) e UHSA e Ducke ($p = 0,001$) (Figura 7D). A forma da cabeça pode ser redonda (Figura 7B, 4) ou diferir na região posterior, apresentando cabeças achatadas para a UHSA (Figura 7B, 1 e 3). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 28,3% e 17,8% de variação da forma, respectivamente. A forma da mandíbula direita variou em média entre Ducke e UHSA ($p < 0,001$) e Ducke e Viruá ($p < 0,001$) (Figura 7H). Para a mandíbula direita, a forma diferiu principalmente na largura, podendo ser mais estreita na UHSA (Figura 7F, 1) a mais larga na Ducke e Viruá (Figura 7F, 2 e 4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 29,4% e 16,2% da variação da forma, respectivamente (Figura 7E).

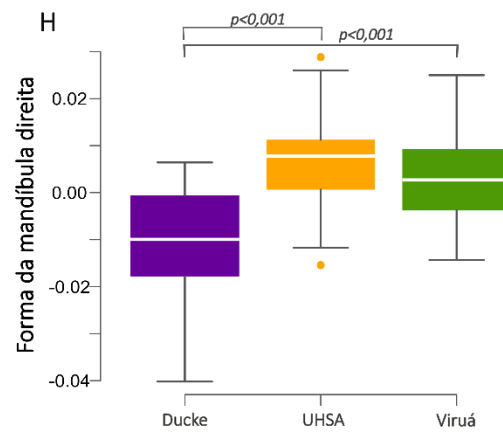
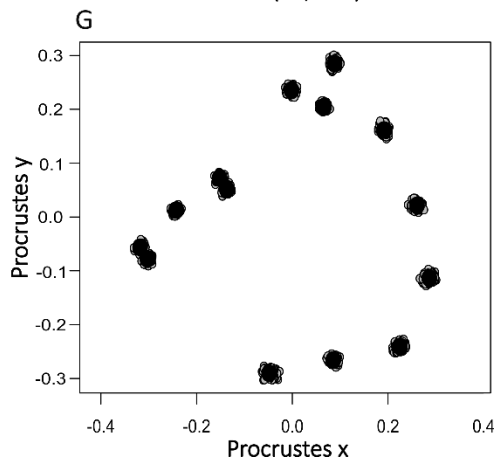
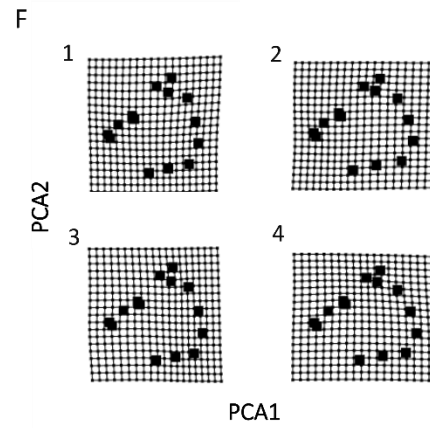
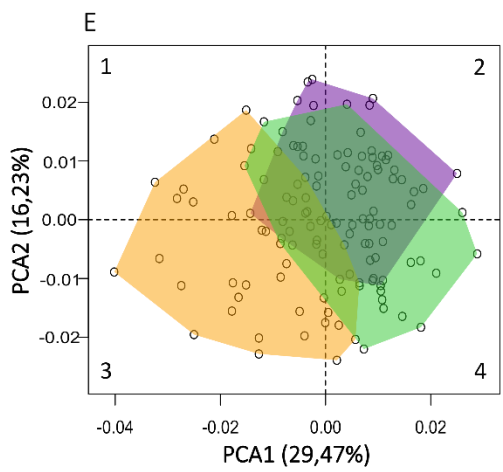
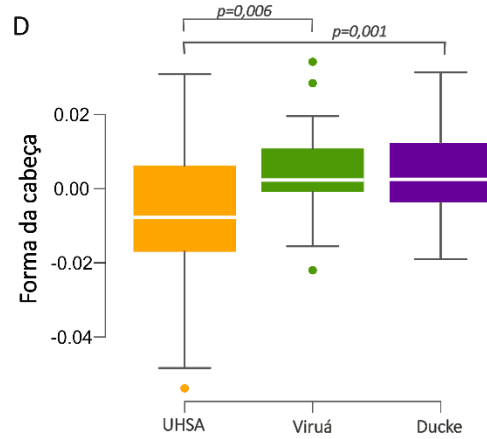
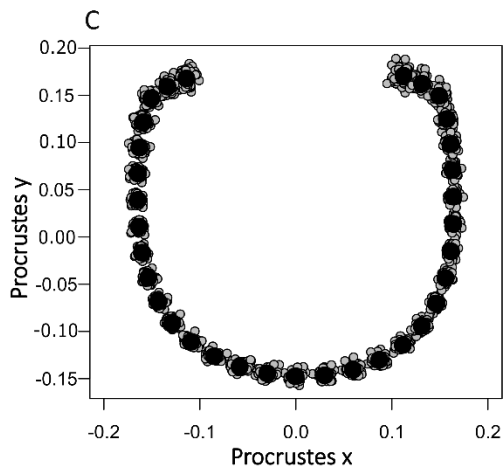
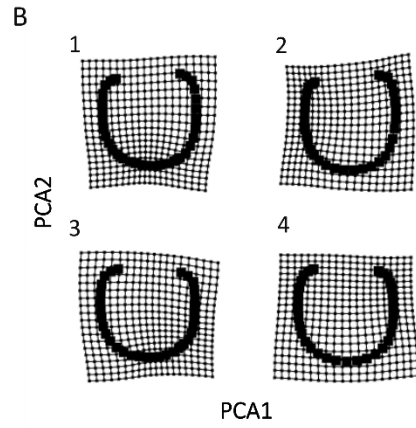
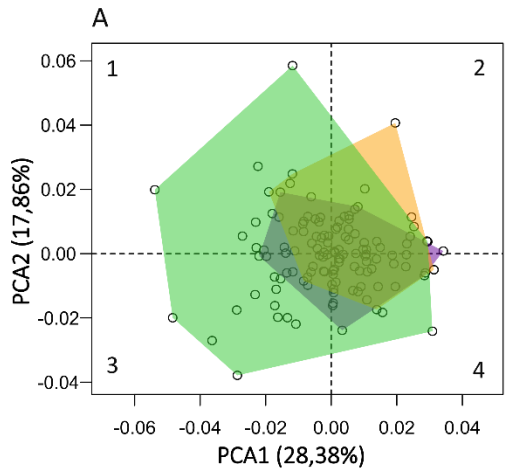


Figura 7. Forma da cabeça e mandíbula de *Nasutitermes banksi* em três sítios de coleta (Ducke, UHSA e Viruá). A, PCA da forma da cabeça. B, variações na forma da cabeça. C, Plot da forma da cabeça. D, Resultados da Anova e teste Tukey. E, PCA da forma da mandíbula direita. F, variações na forma da mandíbula. G, Plot da forma da mandíbula. H, Resultados da Anova e Teste Tukey. Roxo (Ducke), amarelo (UHSA), verde (Viruá). Os círculos representam 132 indivíduos dissecados.

A forma da cabeça de *Heterotermes tenuis* (Figuras 8, A-H) variou em média entre os sítios Ducke e Maracá ($p < 0,001$), Viruá e Maracá ($p < 0,001$) e Viruá e Ducke ($p < 0,001$) (Figura 8D). A dissimilaridade foi registrada na região lateral, variando entre cabeças bastante largas para Viruá (Figura 8 B1), cabeças redondas para a Ducke, e cabeças com laterais fortemente paralelas para Maracá (Figura 8B, 2 e 4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 37,7% e 17,5% de variação da forma, respectivamente (Figura 8A). Para a mandíbula direita, houve variação média entre as localidades Viruá e Ducke ($p = 0,024$), Maracá e Ducke ($p < 0,001$) e Maracá e Viruá ($p < 0,001$) (Figura 8H). Para a mandíbula direita, a forma variou na largura e curvatura, podendo haver mandíbulas pouco curvas lateralmente e largas para Maracá (Figura 8F, 4), mandíbulas com curvatura mais longa para Viruá (Figura 8F, 2) e mandíbulas mais estreitas e pouco curvas para Ducke (Figura 8F, 1). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 23,5% e 13,6% da variação da forma, respectivamente (Figura 8E).

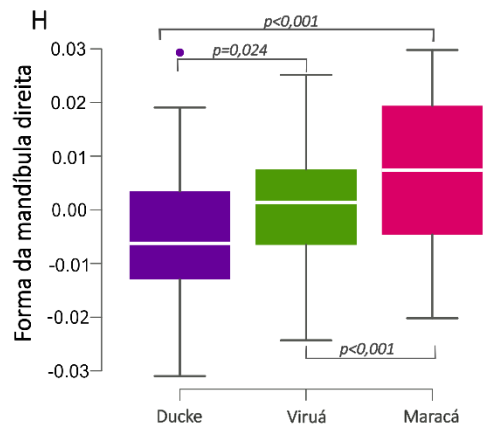
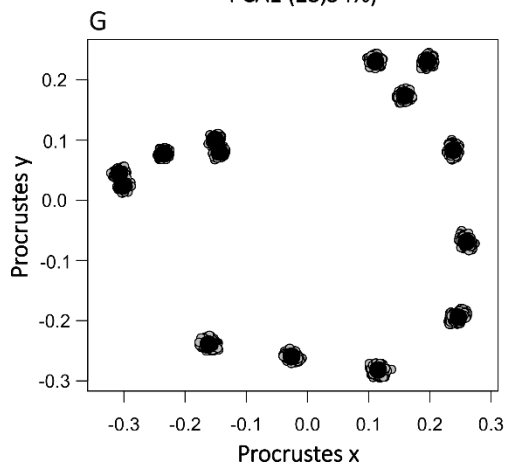
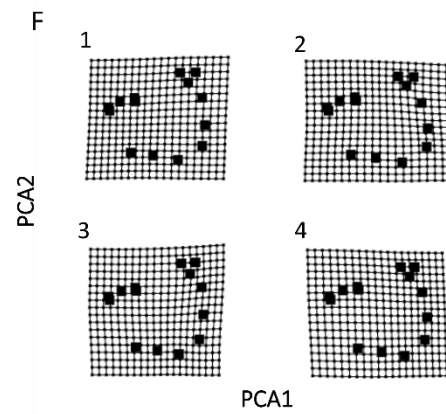
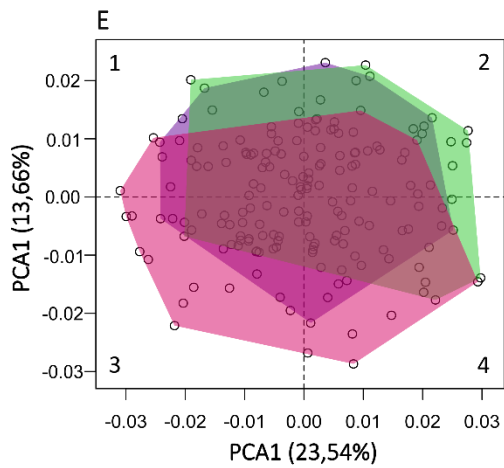
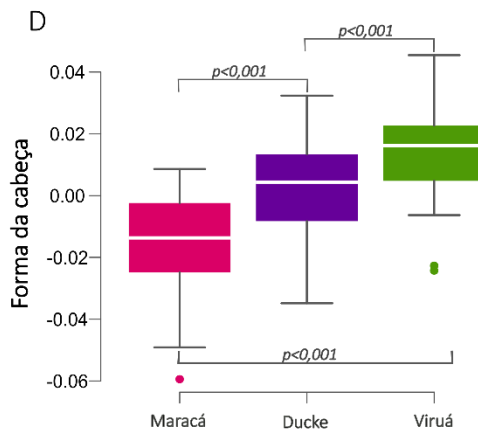
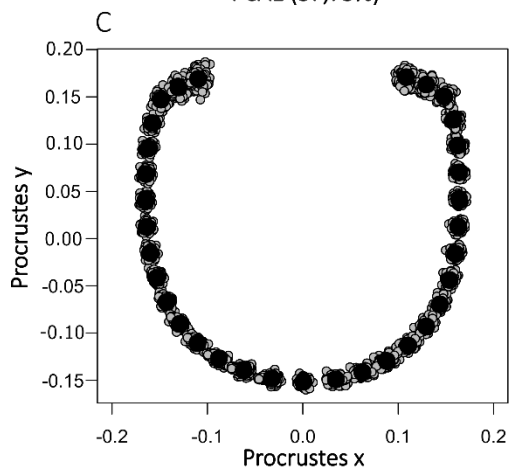
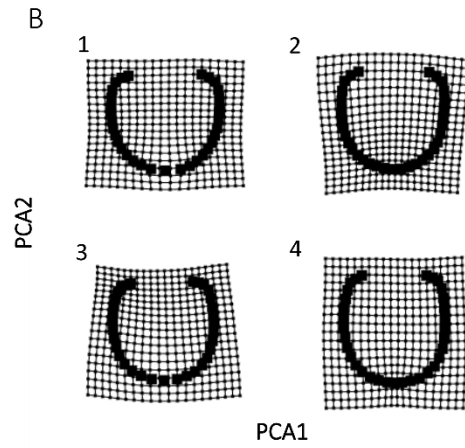
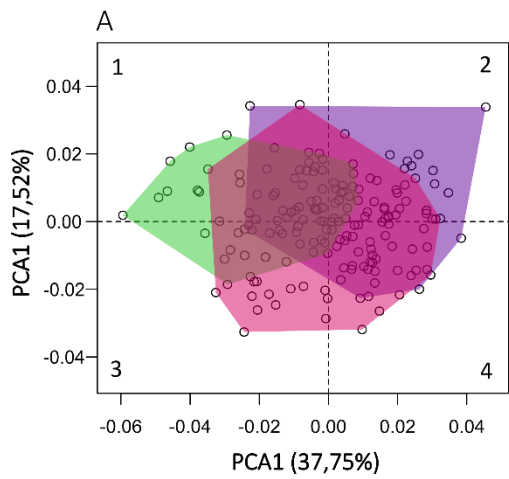


Figura 8. Forma da cabeça e mandíbula de *Heterotermes tenuis* que em três sítios de coleta (Ducke, Viruá e Maracá). A, PCA da forma da cabeça. B, variações na forma da cabeça. C, Plot da forma da cabeça. D, Resultados da Anova e teste Tukey. E, PCA da forma da mandíbula direita. F, variações na forma da mandíbula. G, Plot da forma da mandíbula. H, Resultados da Anova e teste Tukey. Roxo (Ducke), verde (Viruá), rosa (Maracá). Os círculos representam 186 indivíduos dissecados.

A forma da cabeça de *Neocapritermes braziliensis* (Figura 9 A-H), variou entre os sítios Viruá e Ducke ($p = 0,005$) (Figura 9D). Na cabeça, houve maior variação nas regiões antero-laterais, com cabeças mais estreitas ou largas para Viruá (Figura 9B, 1 e 4), a cabeças levemente largas para a Ducke (Figura 9B, 1 e 4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 35,8% e 20% de variação da forma (Figura 9A). A forma da mandíbula direita variou entre os sítios Viruá e Ducke ($p = 0,003$) (Figura 9H). A mandíbula variou de mandíbulas mais largas e dentes mais próximos entre si para Viruá (Figura 9F, 2 e 4), a mandíbulas mais estreitas e dentes mais distantes entre si para a Ducke (Figura 9F, 1 e 3). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 23,6% e 18,4% de variação da forma, respectivamente (Figura 9E).

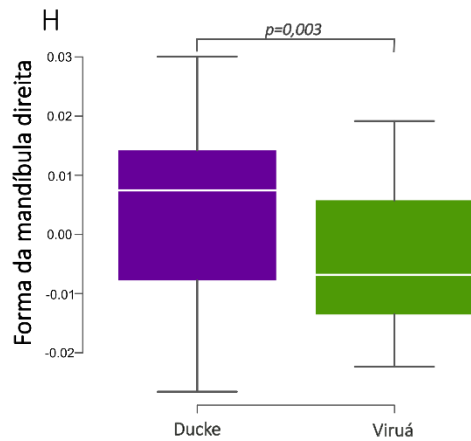
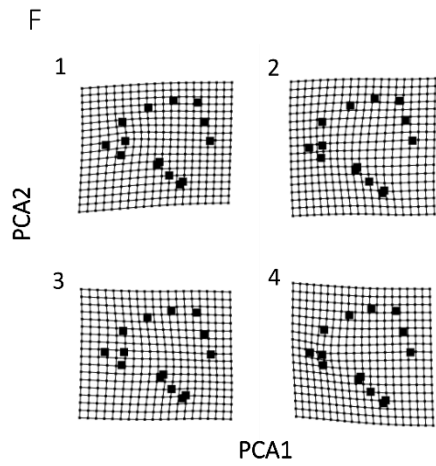
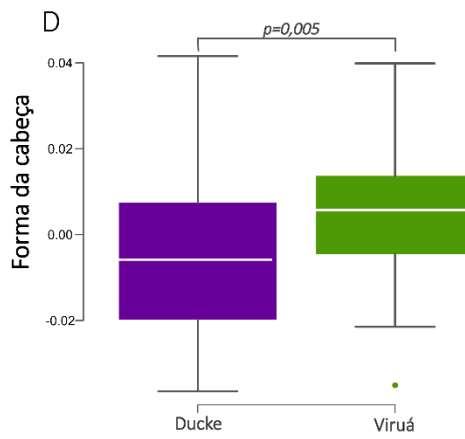
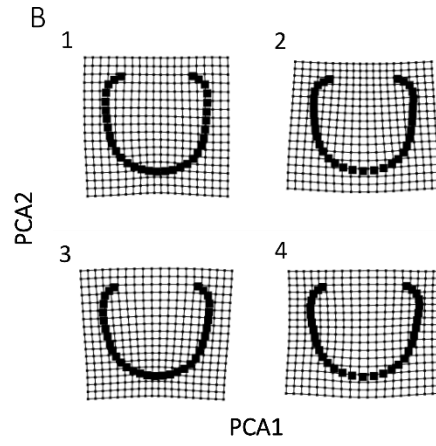
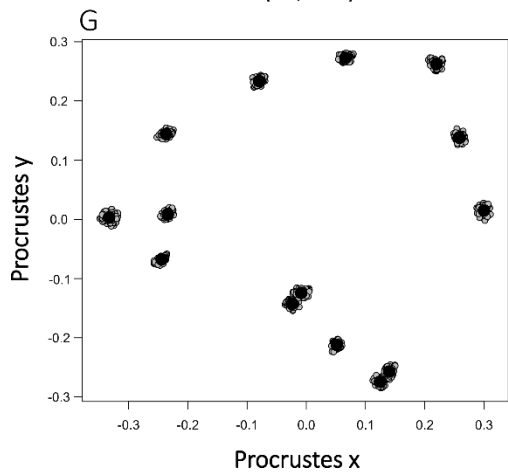
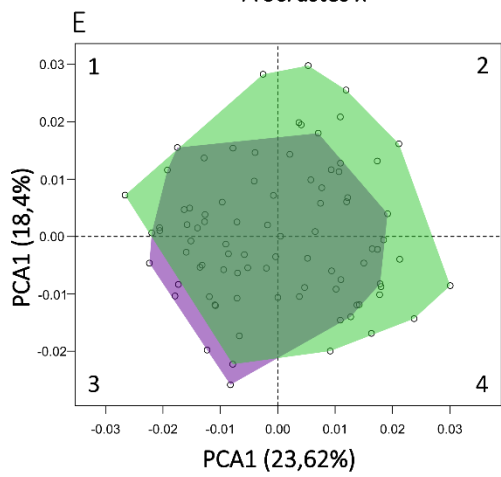
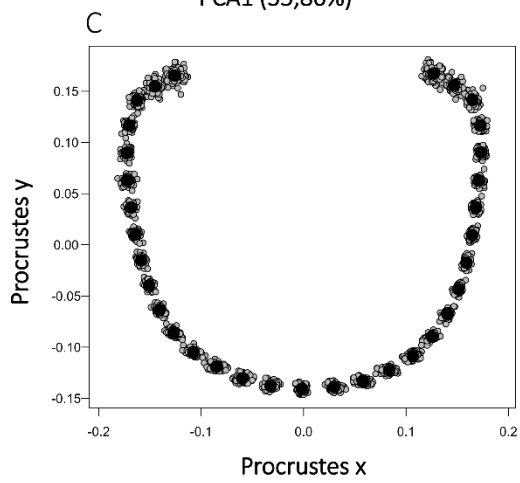
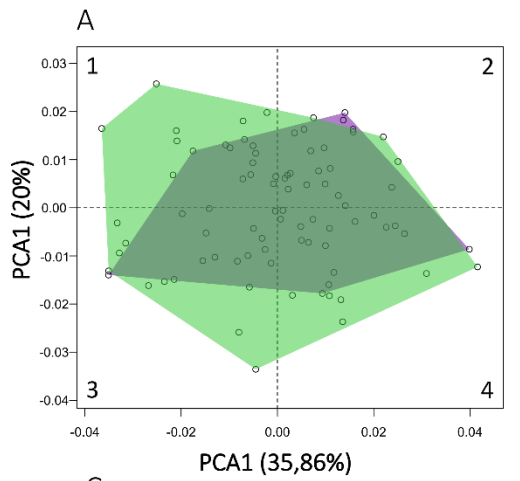


Figura 9. Forma da cabeça e mandíbula de *Neocapritermes braziliensis* em dois sítios de coleta (Ducke e Viruá). A, PCA da forma da cabeça. B, variações na forma da cabeça. C, Plot da forma da cabeça. D, Resultados da Anova e teste Tukey. E, PCA da forma da mandíbula direita. F, variações na forma da mandíbula. G, Plot da forma da mandíbula. H, Resultados da Anova e teste Tukey. Cada cor representa uma localidade. Roxo (Ducke), verde (Viruá). Os círculos representam 87 indivíduos dissecados.

Para *Microcerotermes arboreus* (Figura 10 A-H), a cabeça teve variação de forma em Viruá e Maracá ($p < 0,001$), (Figura 10D). Na cabeça, houve formas mais estreitas e paralelas lateralmente para Maracá (Figura 10 B1), a cabeças mais largas e ovais para Viruá (Figura 10 B4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 45,7% e 15,1% de variação da forma (Figura 10A). A mandíbula direita diferiu entre Viruá e Maracá ($p < 0,001$) (Figura 10H). A forma variou entre mandíbulas com dentes próximos para Viruá (Figura 10 F1), a mandíbulas com dentes distantes entre si para Maracá (Figura 10 F4). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 32,6% e 12,81% de variação da forma, respectivamente (Figura 10E).

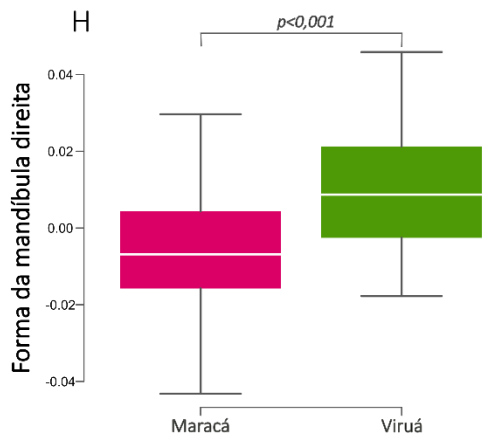
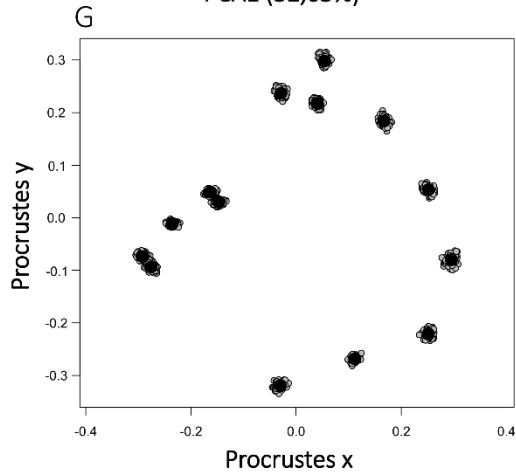
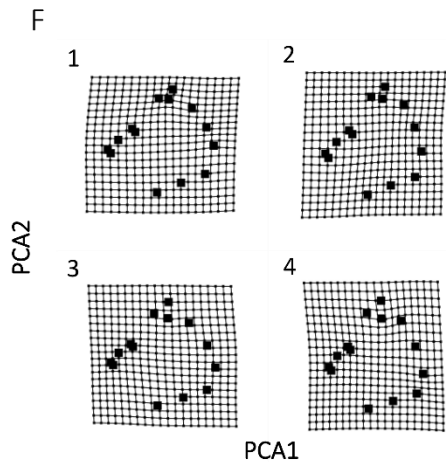
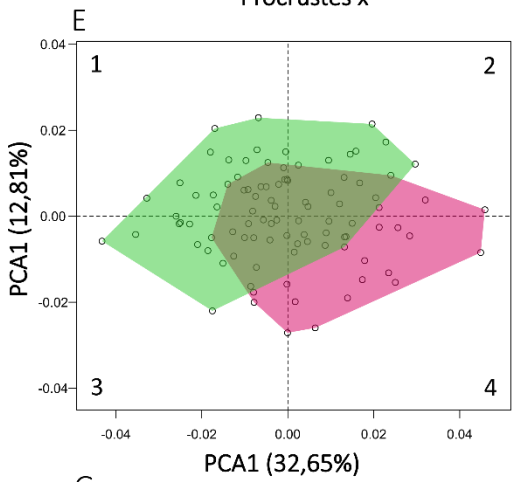
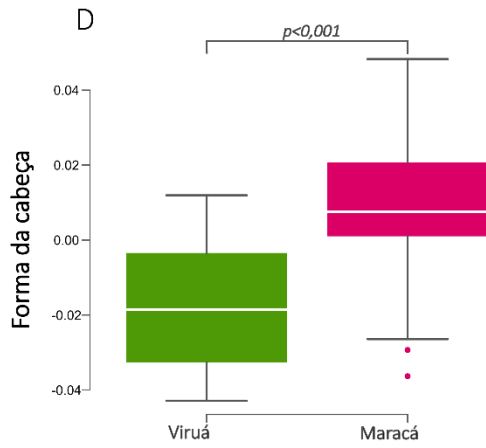
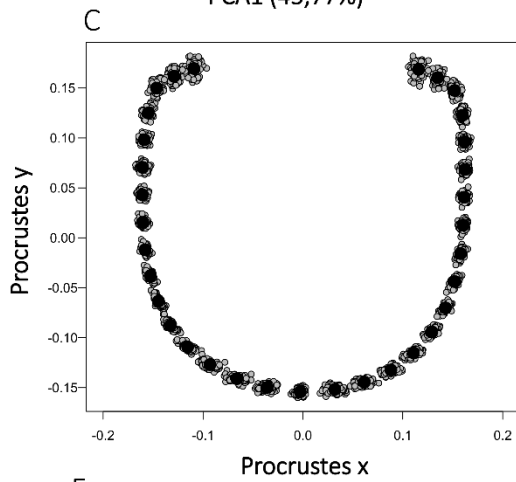
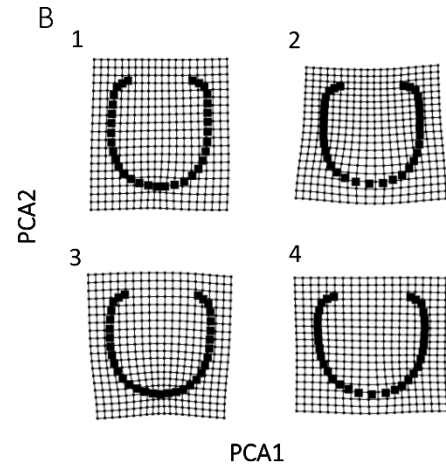
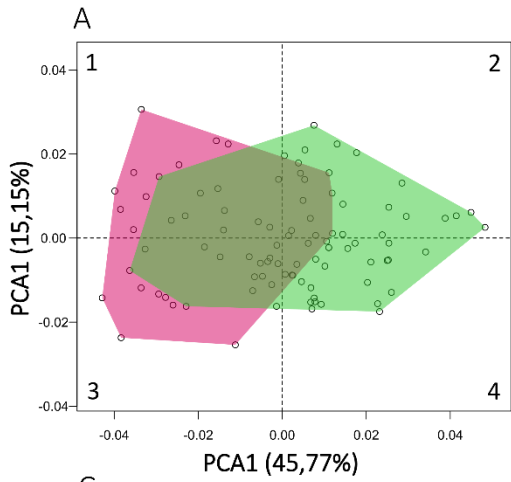


Figura 10. Forma da cabeça e mandíbula de *Microcerotermes arboreus* em dois sítios de coleta (Viruá e Maracá). A, PCA da forma da cabeça. B, variações na forma da cabeça C, Plot da forma da cabeça. D, Resultados da Anova e teste Tukey. E, PCA da forma da mandíbula direita. F, variações na forma da mandíbula. G, Plot da forma da mandíbula. H, Resultados da Anova e teste Tukey. Verde (Viruá), rosa (Maracá). Os círculos representam 96 indivíduos dissecados.

Em *Syntermes molestus* (Figura 11 A-H), a forma da cabeça variou entre UHSA e Maracá ($p < 0,001$) (Figura 11D). Na cabeça, houve regiões bastante largas antero-lateralmente para a UHSA (Figura 11B, 3 e 4) e cabeças ovais e levemente largas antero-lateralmente para Maracá (Figura 11B, 1 e 2). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 33,3% e 22,12% de variação da forma, respectivamente (Figura 11A). Não houve diferenças significativas para a mandíbula ($p = 0,560$) (Figura 11H). Porém, os dentes podem ser mais próximos (Figura 11 F3) ou mais distantes entre si (Figura 11 F2). O primeiro e segundo eixos da PCA capturaram 43,31% e 18,54% de variação da forma, respectivamente (Figura 11E).

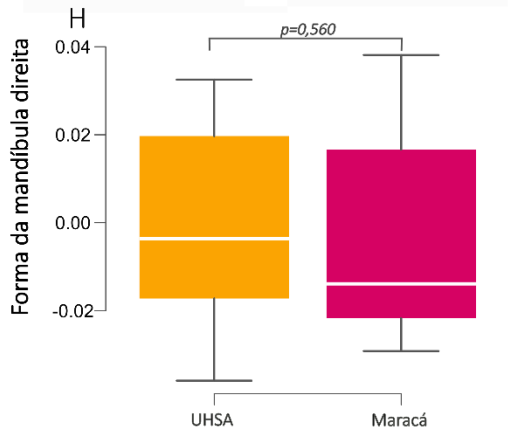
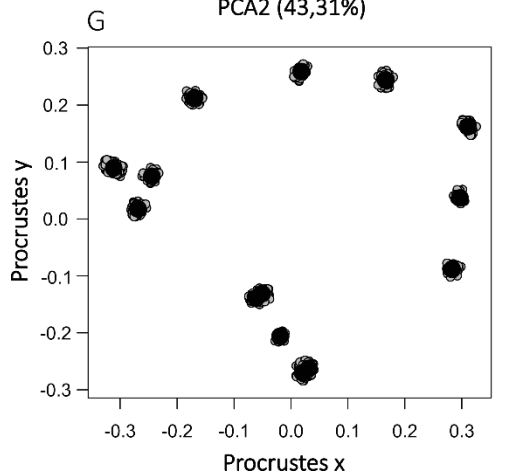
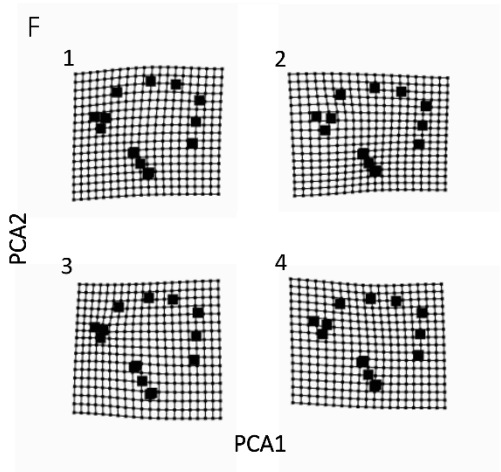
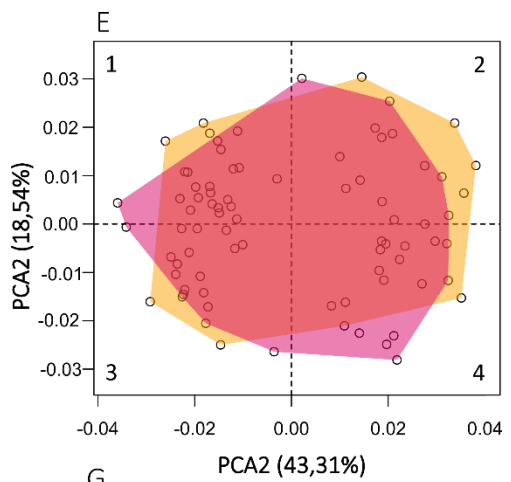
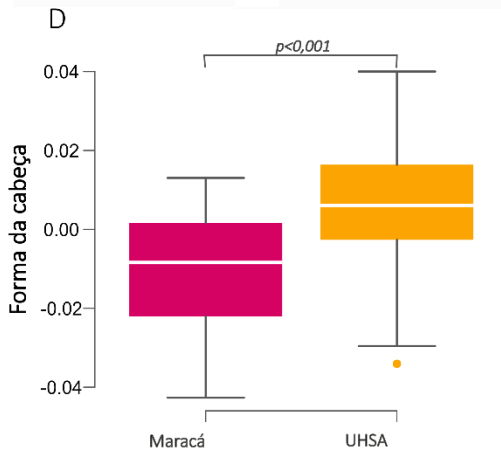
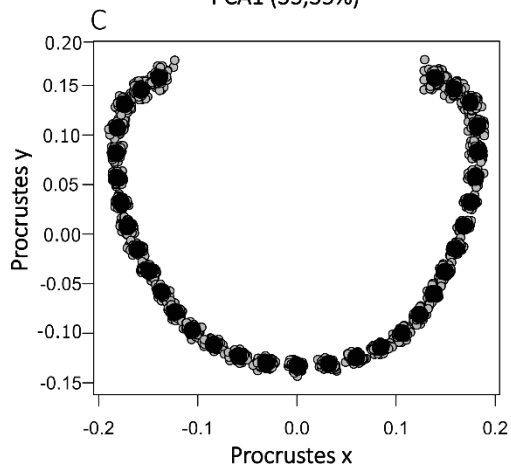
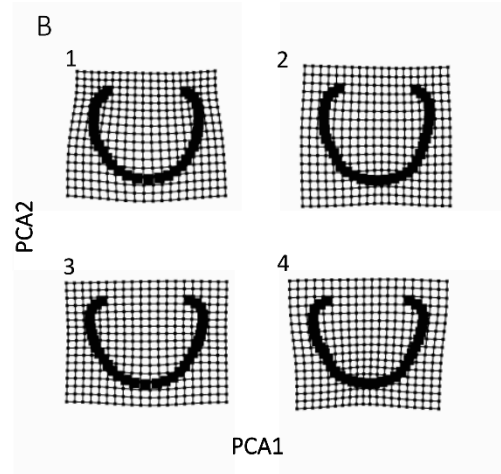
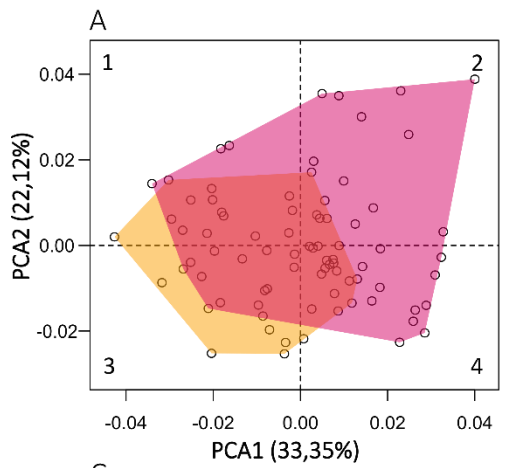


Figura 11. Forma da cabeça e mandíbula de *Syntermes molestus* em dois sítios de coleta (UHSA e Maracá). A, PCA da forma da cabeça. B, variações na forma da cabeça. C, Plot da forma da cabeça. D, Resultados da Anova e teste Tukey. E, PCA da forma da mandíbula direita. F, variações na forma da mandíbula. G, Plot da forma da mandíbula. H, Resultados da Anova e teste Tukey. Amarelo (UHSA), Rosa (Maracá). Os círculos representam 117 indivíduos dissecados.

Tabela 2. Resultados do teste de Anova e Teste de Tukey da relação intraespecífica das espécies mais frequentes de operários de cupins. Em negrito os valores significativos.

Táxon	Localidades	Traço	Valor de p
<i>Nasutitermes guayanae</i>	Ducke X Maracá	Cabeça	0,205
	Ducke X UHSA		0,013
	Ducke X Viruá		0,271
	Maracá X UHSA		<0,001
	Maracá X Viruá		<0,001
	Viruá X UHSA		0,585
	Ducke X Maracá	Mandíbula	0,605
	Ducke X UHSA		0,930
	Ducke X Viruá		0,498
	Maracá X UHSA		0,164
	Maracá X Viruá		0,021
	Viruá X UHSA		0,810
<i>Nasutitermes banksi</i>	Ducke X Viruá	Cabeça	0,998
	Ducke X UHSA		0,002
	Viruá X UHSA		0,006
	Ducke X Viruá	Mandíbula	<0,001
	Ducke X UHSA		<0,001
	Viruá X UHSA		0,259
<i>Heterotermes tenuis</i>	Ducke X Maracá	Cabeça	<0,001
	Ducke X Viruá		0,001
	Maracá X Viruá		<0,001
	Ducke X Maracá	Mandíbula	<0,001
	Ducke X Viruá		0,025
	Maracá X Viruá		<0,001
<i>Neocapritermes braziliensis</i>	Ducke X Viruá	Cabeça	0,005
	Ducke X Viruá	Mandíbula	0,004
<i>Microcerotermes arboreus</i>	Maracá X Viruá	Cabeça	<0,001
	Maracá X Viruá	Mandíbula	<0,001
<i>Syntermes molestus</i>	UHSA X Maracá	Cabeça	<0,001
	UHSA X Maracá	Mandíbula	0,561

DISCUSSÃO

Relações interespecíficas

Configurações funcionais da cabeça de 17 espécies frequentes de operários de cupins

As formas da cabeça e das mandíbulas de operários de cupins variaram bastante entre as espécies mais frequentes. Essas variações mostram que as espécies podem estar ocupando nichos diferenciados. Foram detectadas espécies com formas da cabeça e mandíbulas totalmente distintas entre si, como ocorreu com as cabeças mais largas de *S. molestus* e cabeças mais paralelas de *H. tenuis*.

As variações da forma da cabeça que registramos podem estar relacionadas a transições resultantes do desenvolvimento de cinco feixes musculares na cabeça de cupins, denominados músculos cranio-mandibulares, que estão ligados às mandíbulas por tendões (Wipfler *et al.*, 2011; Kaji *et al.*, 2016). Essa variabilidade de projeções observadas para a forma da cabeça sugere a existência de formas que intermediam novidades evolutivas, como é o caso dos cupins nasutos. Durante os estágios de desenvolvimento de operários menores para soldados nasutos, os feixes musculares são pequenos e ocupam cerca da metade da cápsula cefálica, com a outra metade sendo ocupada por hemocele, o que pode tornar a região anterior da cápsula sutilmente moldável (Kaji *et al.*, 2016, Blanke *et al.*, 2018; Weihmann *et al.*, 2019). No estágio de soldado nasuto, a pressão gerada por mandíbulas para esguichar secreções do nasu pode alterar a forma da cabeça. Tais transformações foram detalhadas para operários e soldados das espécies de cupins *Nasutitermes takasagoensis*, *Hodotermopsis sjostedti* e *Embiratermes neotenicus* (Kaji *et al.*, 2016).

Essas importantes ferramentas morfológicas que são os músculos craniais que impulsionaram a novidade evolutiva que são os cupins nasutos (Kaji *et al.*, 2016; Wikantoso *et al.*, 2021), juntamente a heterogeneidade entre os ambientes e recursos (tais como a densidade ou resistência da madeira, por exemplo), podem estar formando um grupo de espécies bastante comuns na floresta amazônica, como *Nasutitermes guayanae*, *Nasutitermes banksi*, *Embiratermes neotenicus* e *Triangularitermes triangulariceps*. Com isso, tais ferramentas morfológicas e ambientais podem ser as respostas para as configurações distintas da forma das cabeças encontradas neste estudo.

Configurações funcionais da mandíbula de 17 espécies frequentes de operários de cupins

Foram ainda detectadas mandíbulas com dentes mais próximos em *S. molestus* (Figura 11F) e mandíbulas com dentes mais distantes entre si em *N. braziliensis* (Figura 9F). As

variações da forma da mandíbula podem estar associadas evolutivamente com os hábitos alimentares das espécies de cupins, ou seja, o tipo de recurso é o responsável por moldar a forma das mandíbulas (Azevedo *et al.*, 2021). Além disso, as mandíbulas estão ligadas à cabeça por fortes músculos, fazendo com que a força desempenhada na biomecânica de mandíbulas influencie variações na forma da cápsula cefálica, conforme ocorre em Odonata, Ephemeroptera e Plecoptera (David *et al.*, 2016; Blanke *et al.*, 2018), e em cupins, como *Coptotermes* spp. (Kaji *et al.*, 2016; Wikantyooso *et al.*, 2021).

Em relação a forma das mandíbulas, mostramos que o dente apical foi uma das características que mais variou. Essa variação já era esperada por já ser observada em estudos morfométricos de separação de grupos alimentares de cupins (ver Primanda *et al.*, 2005). Utilizando apenas três pontos de referências (dente apical, primeiro + segundo marginal e placa ou proeminência molar), foi observado fortes variações na forma de dentes apicais entre as espécies medidas. Essas formas não mostraram agrupamentos óbvios, o que demonstra que há uma variação morfológica sutil das mandíbulas (Primanda *et al.*, 2005). No entanto, já foi possível discriminar espécies através do agrupamento da forma da cabeça de soldados *Coptotermes* (Wikantyooso *et al.*, 2021). Além disso, as curvaturas das mandíbulas desses soldados podem evoluir independentemente, sem se associar com as variações na forma da cabeça (Wikantyooso *et al.*, 2021).

Todos esses resultados sugerem que o ambiente pode filtrar tamanhos e formas diferentes de traços funcionais e essa variabilidade pode ser associada com os hábitos de vida das espécies. Liu *et al.* (2019), detectaram forte variação nos tamanhos de mandíbulas em operários de espécies abundantes de cupins (*Ancistrotermes dimorphus*, *Odontotermes angustignathus* e *Odontotermes formosanus*) em duas áreas com diferentes graus de perturbação na Malásia (uma floresta primária e uma plantação de borracha) (Liu *et al.*, 2019). Comparações morfométricas também foram feitas para outros invertebrados, como o tamanho de formigas (Guilherme *et al.*, 2019), a forma da mandíbula de Collembola (Romiti *et al.*, 2016) e a forma da cabeça e mandíbula de Coleoptera (Liu *et al.*, 2016). Em vertebrados, a forma das mandíbulas e crânios de mamíferos e serpentes podem ter fortes relações com o hábito de vida ou variar dentro da própria espécie (Andjelković *et al.*, 2017; Grossnickle, 2020). Assim, nós assumimos que a forma das mandíbulas está relacionada aos hábitos de vida das espécies frequentes.

Essas diferenças encontradas tanto na forma da cabeça quanto nas mandíbulas mostram que as espécies mais frequentes possuem características distintas entre si. As diferenças observadas revelam variações nem sempre visíveis aos olhos taxonômicos. Portanto, assumimos que a existência de espécies muito frequentes que compartilham do mesmo espaço funcional só é possível se forem, em média, espécies mais diferentes entre si. Mas, essas etapas determinísticas só foram alcançadas através de alterações apropriadas na mandíbula e cabeça, que foram impulsionados por um mecanismo ainda desconhecido.

Relações Intraespecíficas

Relações das seis espécies de cupins que ocorreram em mais de um sítio amostral

O estudo revelou mudanças intraespecíficas na forma da cabeça e das mandíbulas nas dentro de cada uma das seis espécies de cupins que ocorreram em mais de um sítio amostral. Essa variação na forma mostra que cada espécie responde de maneira diferente aos ambientes. Estas diferenças observadas para as formas das características funcionais sugere a existência de seleção e adaptação (Adams e Collier, 2009). A cabeça dos operários de cupins possui fortes músculos internos que se ligam as mandíbulas (Vishnoi 1956; 1962). Em soldados de *Coptotermes* spp. a variação medida na forma das cabeças é atribuída ao desenvolvimento dos músculos craniais dos soldados (Wikantoso *et al.*, 2021). Além disso, já foi observado em Odonata, Zygoptera, Ephemeroptera e Plecoptera que as diferentes forças empregadas na mastigação são resultado direto desses músculos (David *et al.*, 2016; Blanke *et al.*, 2018). Para operários de cupins, as várias tarefas realizadas com as mandíbulas e cabeças (como construção de ninho, quebra de alimento e abertura de túneis), podem estar provocando variação na forma através de diferentes pressões seletivas e principalmente a heterogeneidade entre os ambientes amostrados. A heterogeneidade entre habitats pode influenciar o tamanho de traços funcionais entre populações de cupins (Liu *et al.*, 2020), isso revela que a morfologia de espécies de cupins que possuem ampla distribuição sofre mudanças provenientes do seu meio.

No caso das mandíbulas, estas variaram principalmente na forma dos dentes, como os dentes apicais. Essa variação entre as espécies é o resultado da relação evolutiva entre os dentes e os hábitos alimentares, isso porque para os cupins, os grupos tróficos ou alimentares são bem definidos (Azevedo *et al.*, 2021; Grossnickle 2020; Primanda *et al.*, 2005; Donovan *et al.*, 2001). No entanto, as mandíbulas dos operários de espécies frequentes sofreram variações entre suas populações nos locais amostrados. A existência de variações na

granulometria do solo e umidade, podem tornar as partículas de solo muito duras ou mais maleáveis para os operários de cupins morderem (Chen *et al.*, 2017), da mesma forma que a madeira consumida pode ser mais ou menos densa. Para isto, é necessário desempenhar diferentes forças para morder, quebrar ou triturar o alimento, o que pode estar causando alterações na forma dos dentes mandibulares. Assim, diferentes ambientes podem selecionar características populacionais distintas, em populações que estão isoladas geograficamente. Os sítios de coleta utilizados neste estudo possuem florestas com cobertura de dossel e solos que variam entre si (Magnusson *et al.*, 2005). Dessa forma, esta heterogeneidade entre sítios pode ser o principal agente filtrador da forma das cabeças e mandíbulas nos operários.

CONCLUSÃO

As características morfológicas da cabeça e mandíbulas diferiram entre as espécies frequentes de cupins e entre os quatro sítios de coleta. Assim, as espécies frequentes são aquelas que possuem formas diretamente contrastantes no processo evolutivo. Nós assumimos que as formas da cabeça e das mandíbulas estão relacionadas aos hábitos de vida das espécies frequentes. Além disso, essas variações morfológicas mostram como a forma de uma mesma espécie pode mudar para expandir sua gama de recursos explorados. Se estas diferenças puderam ser mostradas para os quatro sítios naturais que investigamos, podemos supor que em outros ecossistemas, com diferentes condições bióticas (nutrição) e abióticas (ambiente), haverá uma filtragem e mudanças mais diferenciadas nas características funcionais da cabeça e mandíbulas em espécies de cupins que possuem ampla distribuição. Estes resultados mostram a importância da avaliação destas características para a compreensão da história evolutiva e comportamento das espécies de cupins.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adams D.C., Collyer M.L., 2009. A general framework for the analysis of phenotypic trajectories in evolutionary studies. *Evolution*, 63: 1143–1154
- Adams, D.C., Collyer, M.L. Kaliontzopoulou A., Balken E.K., 2021. Geomorph: Software for geometric morphometric analyses. R package version 4.0.
- Anez, N.; Valenta, D. T.; Cazorla, D.; Quicke, D. J.; Feliciangeli, M. D. 1997. Multivariate analysis to discriminate species of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae): *Lutzomyia townsendi*, *L. spinicrassa*, and *L. youngi*. *Journal of medical entomology*, 34(3), 312-316.
- Andjelković, M.; Tomović, L.; Ivanović, A. 2017. Morphological integration of the kinetic skull in *Natrix* snakes. *Journal of Zoology*, 303: 188-198. <https://doi.org/10.1111/jzo.12477>.
- Azevedo, R.A.; Dambros, C.S.; Morais, J.W. 2021. Morphological adaptations of functional traits in Termites in relation to feeding strategies. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas. 86p.
- Berthaume, M.A., J. Winchester, and K. Kupczik. 2019. Ambient occlusion and PCV (portion de ciel visible): a new dental topographic metric and proxy of morphological wear resistance. *PLoS ONE*, 14: e0215436.
- Black, H.I.J.; Okwakol, M.J.N. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of termites. *Applied Soil Ecology*, 6: 37–53.
- Blanke, A.; Pinheiro, M.; Watson, P.J.; Fagan, M.J. 2018. A Biomechanical Analysis of Prognathous and Orthognathous Insect Head Capsules: Evidence for a Many-to-one Mapping of Form to Function. *Journal of Evolutionary Biology*, 31, 665–674.
- Bookstein F.L., 1986. Size and shape spaces for landmark data in two dimensions. (With discussion and rejoinder). *Statistical Science*, 1: 181–242.

Bookstein F.L. 1991. Morphometric tools for landmark data: Geometry and Biology. Cambridge Univ. Press, New York.

Bourguignon, T., N. Lo, S. L. Cameron, J. Šobotník, Y. Hayashi, S. Shigenobu, D. Watanabe, Y. Roisin, T. Miura, and T. A. Evans. 2015. The Evolutionary History of Termites as Inferred from 66 Mitochondrial Genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 32:406–421.

Boyer, D. M. 2008. Relief index of second mandibular molars is a correlate of diet among prosimian primates and other euarchontan mammals. *Journal of Human Evolution*, 55: 1118–1137.

Cadotte, M.W., Cavender-Bares, J., Tilman, D. & Oakley, T.H. 2009. Using phylogenetic, functional and trait diversity to understand patterns of plant community productivity. *PLoS ONE*, 4: e5695.

Carrijo, T.M. 2013. Estudo da termitofauna (Insecta, Isoptera) da região do alto Rio Madeira. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 143 p.

Cerezer, F.O.; Azevedo, R.A.; Nascimento, M.A.S.; Franklin, E.; Morais, J.W.; Dambros, C.S. 2020. Latitudinal gradient of termite diversity indicates higher diversification and narrower thermal niches in the tropics. *Global Ecology and Biogeography*, 29: 1967– 1977. <https://doi.org/10.1111/geb.13167>.

Clements, F. E. 1916. Plant succession: An analysis of the development of vegetation. Carnegie Institute of Washington, Washington, DC.

CPTEC. 2022. Centro de estudos de previsão de tempo e estudos climáticos (<https://www.cptec.inpe.br/>). Acessado em 09/05/2022.

Dambros, C.S.; Morais, J.W.; Vasconcellos, A.; Souza, J.L.P.; Franklin, E.; Gotelli, N.J. 2016. Association of Ant Predators and Edaphic Conditions with Termite Diversity in an Amazonian Rain Forest. *Biotropica*, 0(0): 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10144-004-0185-9>

- Davies, R.G.; Eggleton, P.; Dibog, L.; Lawton, J.H.; Bignell, D.E.; Brauman, A.; et al. 1999. Successional response of a tropical forest termite assemblage to experimental habitat perturbation. *Journal of Applied Ecology*, 36: 946–962.
- David, S.; Funken, J.; Potthast, W.; Blanke, A. 2016. Musculoskeletal modelling under an evolutionary perspective: deciphering the role of single muscle regions in closely related insects. *Journal of the Royal Society Interface*, 13: 20160675.
- Donovan, S.E.; Eggleton, P.; Bignell, D.E. 2001 Gut content analysis and a new feeding group classification of termites. *Ecological Entomology*, 26: 356–366.
- Dryden IL, Mardia KM. 2008. Statistical shape analysis. *Chicester: Wiley*.
- Evans, A. R., G. P. Wilson, M. Fortelius, and J. Jernvall. 2007. High-level similarity of dentitions in carnivorans and rodents. *Nature*, 445: 78–81.
- Eggleton, P. 2011. An introduction to termites: biology, taxonomy and functional morphology. In *Biology of Termites: A Modern Synthesis*, Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–26.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the Comparative Method. *American Society of Naturalists*, 125:1–15.
- Gajdzik, L.; Aguilar-Medrano, R.; Frédérick, B. 2019. Diversification and functional evolution of reef fish feeding guilds. *Ecology letters*, 22(4), 572-582.
- Gleason, H. A. 1926. The individualistic concept of the plant association. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 53:7– 26.
- Gower, J.C. 1975. Generalized Procrustes analysis. *Psychometrika*, 40: 33–51.
- Griffiths, H.M.; Ashton, L.A.; Evans, T.A.; Parr, C.L.; Eggleton, P. 2019. Termites can decompose more than half of deadwood in tropical rainforest. *Current Biology*, 18;29(4): 118-119. doi: 10.1016/j.cub.2019.01.012. PMID: 30779897
- Grossnickle, D.M. 2020. Feeding ecology has a stronger evolutionary influence on functional morphology than on body mass in mammals. *Evolution*, 74: 610–628.

- Guilherme, D.R.; Souza, J.L.P.; Franklin, E.; Pequeno, P.A.C.L.; Chagas, A.C.; Baccaro, F. B. 2019. Can environmental complexity predict functional trait composition of ground-dwelling ant assemblages? A test across the Amazon Basin. *Acta Oecologica*, 99, 103434.
- Herrera, M.; Rodero, E.; Gutierrez, M. J.; Pena, F.; Rodero, J. M. 1996. Application of multifactorial discriminant analysis in the morphostructural differentiation of Andalusian caprine breeds. *Small Ruminant Research*, 22(1), 39-47.
- Hopkins, M.J.G. 2005. Flora of the Ducke Reserve, Central Amazon, Brazil. *Rodriguésia*, 86: 9–25.
- Hothorn, T.; Bretz, F.; Westfall, P. 2008. Simultaneous Inference in General Parametric Models. *Wiley Online Library*, 50: 346–363.
- Kaji, T.; Keiler, J.; Bourguignon, T.; Miura, T. 2016. Functional transformation series and the evolutionary origin of novel forms: evidence from a remarkable termite defensive organ. *Evolution and Development*, 18: 78–88.
- Karolyi, F.; Hansal T.; Krenn H.W.; Colville J.F. 2016. Comparative morphology of the mouthparts of the megadiverse South African monkey beetles (Scarabaeidae: Hopliini): feeding adaptations and guild structure. *PeerJ*, 4: e1597
- Kembel, S. W.; Cowan, P. D.; Helmus, M. R.; Cornwell, W. K.; Morlon H.; Ackerly, D. D.; Blomberg, S. P; Webb, C. O. 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Oxford University Press*, 26: 1463–1464.
- Kendall D.G., 1981. The statistics of shape. In: Barnett V. (Ed). Interpreting multivariate data. *Wiley*, New York, pp. 75–80.
- Kendall D.G., 1985. Exact distributions for shapes of random triangles in convex sets. *Advances in Applied Probability*, 17: 308–329.

Kendall DG. 1984. Shape manifolds, procrustean metrics, and complex projective spaces. *The Bulletin of the London Mathematical Society*, 16(2): 81–121.

Kottek, M.; Grieser, J.; Beck, C.; Rudolf, B.; Rubel, F. 2006. World Map of the Köppen-Geiger Climate Classification Updated. *Meteorologische Zeitschrift*, 15: 259–263.

Liu, S.; Lin, X.; Behm, J.E.; Yuan, H.; Stiblik, P.; Šobotník, J.; Gan, J.; Xia, S.; Yang, X. 2019. Comparative responses of termite functional and taxonomic diversity to land-use change. *Ecological Entomology*, 44: 762-770. <https://doi.org/10.1111/een.12755>.

Liu, C.; Guénard, B.; Blanchard, B.; Peng, Y.-Q.; Economo, E.P. 2016. Reorganization of taxonomic, functional, and phylogenetic ant biodiversity after conversion to rubber plantation. *Ecological Monographs*, 86: 215-227. <https://doi.org/10.1890/15-1464.1>.

Lawton, J.H. 1994. What do species do in ecosystems?. *Oikos*, 71: 367-374.

Magnusson, W.E.; Lima, A.P.; Luizão, R.; Luizão, F.; Costa, F.R.C.; Castilho, C.V. de; et al. 2005. RAPELD: a modification of the Gentry method for biodiversity surveys in long-term ecological research sites. *Biota Neotropica*, 5: 19–24.

Malcicka, M.; Berg, M.P.; Ellers, J. 2017. Ecomorphological adaptations in Collembola in relation to feeding strategies and microhabitat. *European Journal of Soil Biology*, 78:82–91.

Marramà, G.; Kriwet, J. 2017. Principal component and discriminant analyses as powerful tools to support taxonomic identification and their use for functional and phylogenetic signal detection of isolated fossil shark teeth. *PloS ONE*, 12(11), e0188806.

Marroig, G., and J. M. Cheverud. 2005. Size as a line of least evolutionary resistance: diet and adaptive morphological radiation in New World monkeys. *Evolution*, 59: 1128–1142.

Okwakol, M.J.N. 2000. Changes in termite (Isoptera) communities due to the clearance and cultivation of tropical forest in Uganda. *African Journal of Ecology*, 38: 1–7.

Paradis, E.; Schliep, K. 2019. An environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Oxford University Press*, 35(3):526–528.

Parés-Casanova, P.M.; Salamanca-Carreño, A.; Crosby-Granados, R.A.; Bentez-Molano, J. 2020. A Comparison of Traditional and Geometric Morphometric Techniques for the Study of Basicranial Morphology in Horses: A Case Study of the Araucanian Horse from Colombia. *Animals*, 10:118.

Primanda, A.; Eggleton P.; MacLeod N. 2005. Worker mandible shape and feeding groups in termites. 6.

R Development Core Team (2011). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>.

Revell, L.J. 2012. Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3:217–223.

Rohlf, F.J., Slice, D.E., 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology*, 39: 40–59.

Rohlf, F.J.; Marcus L.F. 1993. A revolution in morphometrics. *Trends in Ecology and Evolution*, 8 (4):129–132.

Rohlf, F.J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*, 16: 197–223.

Rohlf, F.J. 2017. TpsDig2, 2.31; *Ecology & Evolution and Anthropology*, Stony Brook University: New York, NY, USA.

Rohlf, F.J. 2019. Tps Utility Program, 1.78; *Ecology & Evolution and Anthropology*, Stony Brook University: New York, NY, USA.

Romiti, F.; Redolfi D.Z.; L.; Piras, P.; Carpaneto, G.M. 2016. Shape Variation of Mandible and Head in *Lucanus cervus* (Coleoptera: Lucanidae): A Comparison of Morphometric Approaches. *The Biological Journal of the Linnean Society*, 120, 1–16.

Santana, S. E., and E. Cheung. 2016. Go big or go fish: morphological specializations in carnivorous bats. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283: 20160615.

Slater, G. J., and A. R. Friscia. 2019. Hierarchy in adaptive radiation: a case study using the Carnivora (Mammalia). *Evolution*, 73: 524–539.

Srivastava, D.S., Cadotte, M.W., Macdonald, A.A.M., Marushia, R.G. & Mirotchnick, N. 2012. Phylogenetic diversity and the functioning of ecosystems. *Ecology Letters*, 15: 637–648.

Svanbäck, R.; Eklöv, P. 2003. Morphology dependent foraging efficiency in perch: a trade-off for ecological specialization? *Oikos*, 102(2), 273-284.

Thompson, J.; Proctor, J.; Viana, V.; Milliken, W.; Ratter, J.A.; Scott, D.A. 1992. Ecological Studies on a Lowland Evergreen Rain Forest on Maraca Island, Roraima, Brazil. I. Physical Environment, Forest Structure and Leaf Chemistry. *Journal of Ecology* 80: 689–703.

Venables, W.N., Ripley, B.D., 2002. Modern Applied Statistics with S. Fourth Edition. Springer, New York.

Weihmann, T.; Wipfler, B. 2019. The Generalized Feeding Apparatus of Cockroaches: A Model for Biting and Chewing Insects; *Springer: Cham, Switzerland*, pp. 203–262.

Winkantyoso, B.; Tseng, S.P.; Himmi, S.K.; Yusuf S.; Yoshimura, T. 2021. Morphometric Analysis of *Coptotermes* spp. soldier Caste (Blattodea: Rhinotermitidae) in Indonesia and Evidence of *Coptotermes gestroi* extreme head-capsule shapes. *Insects*, 12: 447.