

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**Composição química e variabilidade intra-específica dos constituintes voláteis da
secreção de defesa de *Constrictotermes cyphergaster*
(Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae)**

Neucírio Ricardo de Azevedo

GOIÂNIA

2006

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE DOUTORADO EM CIÊNCIAS AMBIENTAIS

**Composição química e variabilidade intra-específica dos constituintes voláteis da
secreção de defesa de *Constrictotermes cyphergaster*
(Isoptera, Termitidae, Nasutitermitinae)**

Tese apresentada ao programa de
Doutorado em Ciências Ambientais, na
área de Ecologia, na linha de pesquisa:
Evolução e Conservação da
Biodiversidade, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Doutor em
Ciências Ambientais.

Neucírio Ricardo de Azevedo

GOIÂNIA

2006

Tese defendida em sessão pública em 21/03/2006, sendo considerada aprovada pela banca examinadora constituída pelos professores:

Prof. Dr. Divino Brandão
(Orientador)

Prof. Dr. Itamar Pereira de Oliveira
(Membro)

Profa. Dra. Maria Inês Gonçalves Leles
(Membro)

Profa. Dra. Adélia Maria Lima da Silva
(Membro)

Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos
(Membro)

Este trabalho é dedicado a todos que, com seu esforço, contribuem para aumentar o conhecimento sobre os térmitas.

AGRADECIMENTOS

- Agradeço aos colegas do Curso de Doutorado em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Goiás, em especial aos colegas da 1ª turma, pela convivência e pelo esforço no sentido de auxílio mútuo, tão importante em um curso de caráter multidisciplinar como esse;
- Aos colegas do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás, Professores e Funcionários, que generosamente foram favoráveis à concessão de minha licença para a conclusão dos trabalhos experimentais;
- Aos funcionários do Parque Nacional de Brasília no Distrito Federal, Sra. Christiane Horiwitz, Engenheira Florestal e Sr. Elmo Monteiro da Silva Júnior, chefe da unidade de conservação, que gentilmente permitiram a coleta de espécimes;
- Aos funcionários do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas no estado de Goiás, pela permissão concedida para a coleta dos espécimes;
- Aos funcionários do Instituto de Ciências Farmacêuticas, especialmente ao Sr. Iram Moreira Mundim pelo auxílio na execução dos experimentos do projeto da disciplina de Oficinas em Ciências Ambientais;
- Ao colega de trabalho Wesson Guimarães pela dedicação e auxílio que dispensou ao desenvolvimento do projeto de indicadores de pH de natureza vegetal;
- Ao meu amigo Jayrson pela companhia e ajuda nas coletas realizadas sob o sol forte do cerrado;
- Ao Professores do Curso de Doutorado em Ciências Ambientais da Universidade Federal de Goiás pelo esforço em tentar, e na maioria das vezes conseguir, repassar parte de suas experiências;
- Ao Professor Dr. Divino Brandão pela atenção, paciência e tolerância no decorrer do trabalho e pela identificação dos espécimes;
- Ao Professor Dr. José Carlos Seraphin pela atenção dispensada durante as dúvidas de estatísticas;
- Ao Professor Dr. Pedro Henrique Ferri, amigo e co-orientador. Tão fundamental para o desenvolvimento desse trabalho que sem o incentivo e participação efetiva, essa Tese não existiria.
- À minha família nas pessoas de minha esposa Rosilda, minha mãe Salete, meus enteados Lorena e Edgar Borges Júnior, minhas irmãs Naira Rosana e Ana Lúcia

pela atenção, compreensão e incentivo para o prosseguimento desse trabalho. Em especial ao meu filhote Daniel, sem o qual a vida seria mais dura e difícil de suportar.

SUMÁRIO

Introdução.....	1
Objetivos.....	7
Material e métodos.....	8
LOCAIS DE COLETA.....	8
TÉRMITAS.....	10
IDENTIFICAÇÃO	10
DADOS EDÁFICO-CLIMÁTICOS	10
EXTRAÇÃO E ANÁLISE DA SECREÇÃO DE DEFESA.....	12
ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA	13
Resultados.....	14
COMPOSIÇÃO QUÍMICA E IDENTIFICAÇÃO	14
ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA.....	23
<i>Análise de Componentes Principais</i>	23
<i>Análise de Agrupamento</i>	26
<i>Análise de Discriminante</i>	27
<i>Análise de Correlação Canônica</i>	31
Discussão	33
EXTRAÇÃO E ANÁLISE DOS COMPONENTES VOLÁTEIS	33
ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA	34
Conclusão.....	38
Perspectivas.....	39
Currículo	40
Referências.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1- Soldado de termitidae (procornitermes araujoi), mostrando aparelho de defesa física e química.....</i>	<i>1</i>
<i>Figura 2- Soldado de Termitidae (Nasutitermes acajutlae), mostrando cabeça com nasus, utilizado para ejetar a secreção de defesa</i>	<i>2</i>
<i>Figura 3- Esqueletos comuns de diterpenos oxigenados encontrados na subfamília Nasutitermitinae.....</i>	<i>3</i>
<i>Figura 4- Soldados de Constrictotermes cyphergaster</i>	<i>4</i>
<i>Figura 5- Diterpeno isolado de C. cyphergaster.....</i>	<i>5</i>
<i>Figura 6- Fotos de satélite (A: geográfico; B:relevo), mostrando o local de coleta no Parque Nacional de Brasília – DF (EMBRAPA, 2005).....</i>	<i>8</i>
<i>Figura 7- Fotos de satélite (A: geográfico; B:relevo), mostrando o local de coleta no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas – GO (EMBRAPA, 2005).....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 8- Fotos de satélite (A: geográfico; B:relevo), mostrando o local de coleta na região da divisa entre o Estado de Goiás e Distrito Federal (EMBRAPA, 2005)</i>	<i>9</i>
<i>Figura 9- Organograma dos procedimentos experimentais para coleta, amostragem e análise estatística multivariada.....</i>	<i>11</i>
<i>Figura 10- Cromatogramas mostrando os picos das substâncias analisadas da secreção de defesa de C. cyphergaster.....</i>	<i>14</i>
<i>Figura 11- Relação das estruturas químicas e espectro de massas das substâncias caracterizadas na secreção de defesa de C. cyphergaster.....</i>	<i>16</i>
<i>Figura 12- Espectro de RMN ¹³C (75 MHz, C₆D₆, δ) da secreção de defesa de C. cyphergaster.....</i>	<i>21</i>

<i>Figura 13- Gráfico representando o plano fatorial da ACP de C. cyphergaster coletados em três populações.....</i>	<i>25</i>
<i>Figura 14- Dendograma de classificação hierárquica dos indivíduos (coletas).....</i>	<i>26</i>
<i>Figura 15- Gráfico das duas funções discriminantes canônicas dos locais de coleta, por estação e ano.....</i>	<i>30</i>

ÍNDICE DE TABELAS

<i>Tabela 1- Composição porcentual média de monoterpenos encontrados em quatro espécies do gênero Nasutitermes.....</i>	<i>3</i>
<i>Tabela 2- Composições percentuais médias (\pm desvio-padrão), de substâncias identificadas na secreção de defesa de C. cyphergaster de acordo com ano, estação e local de coleta.....</i>	<i>15</i>
<i>Tabela 3- Índice Kovats para as substâncias voláteis presentes na secreção de defesa de C. cyphergaster</i>	<i>20</i>
<i>Tabela 4- Deslocamento químico das substâncias identificadas</i>	<i>22</i>
<i>Tabela 5- Matriz de correlação das substâncias voláteis presentes na secreção de defesa de C. cyphergaster</i>	<i>23</i>
<i>Tabela 6- Autovalores e autovetores associados aos dois primeiros componentes da ACP das substâncias voláteis da secreção de defesa de C. cyphergaster</i>	<i>24</i>
<i>Tabela 7- Escores das amostras utilizadas na ACP</i>	<i>24</i>
<i>Tabela 8- Percentagens médias e desvios-padrões das substâncias discriminantes em seus grupos e no conjunto global.....</i>	<i>27</i>
<i>Tabela 9- Sumário da Análise de Discriminante Canônica dos constituintes voláteis de C. cyphergaster por estação de coleta.....</i>	<i>28</i>
<i>Tabela 10- Escores das amostras obtidas pela análise de discriminante</i>	<i>29</i>
<i>Tabela 11- Fatores edáficos (matriz de solos) dos locais de coleta.....</i>	<i>31</i>
<i>Tabela 12- Fatores climáticos (umidade, precipitação e temperatura médias) dos locais de coleta.....</i>	<i>31</i>

<i>Tabela 13- Sumário da Análise de Correlação Canônica dos constituintes voláteis discriminantes da secreção de defesa de C. cyphergaster e os fatores ambientais.....</i>	<i>32</i>
---	-----------

ABREVIATURAS

PNB – Parque Nacional de Brasília

DF – Distrito Federal

PESCAN – Parque Estadual da Serra de Caldas Novas

GO – Goiás

DGDF – Divisa Goiás – Distrito Federal

ACP – Análise de Componentes Principais

SAS – Software de Análise Estatística

SPAD.N – Sistema portátil para análise de dados numéricos

RMN -¹³C – Ressonância magnética nuclear de carbono 13

TIC - cromatograma total de íons

IR - Índice de retenção

NIST - Instituto Nacional de padrões e tecnologia (Estados Unidos)

NHI - Instituto Nacional de Saúde (Estados Unidos)

EPA - Agencia de Proteção ambiental (Estados Unidos)

CG – EM – Cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas

RESUMO

A determinação dos constituintes químicos voláteis da secreção de defesa de *Constrictotermes cyphergaster* foi realizada através de Cromatografia Gasosa acoplada a espectrômetro de massas (CG-EM). A confirmação da identidade foi realizada através de espectrometria de Carbono 13. A variabilidade sazonal e interpopulacional foi investigada através do uso de Análise de Componentes Principais e Análise de Agrupamento, as quais permitiram a classificação das amostras em 3 grupos distintos, relacionados aos seus locais de coletas, caracterizados pelos componentes α -pineno, γ -cadineno e 3-hexanol. A Análise de Discriminante utilizando as substâncias características como variáveis de predição foi capaz de alocar corretamente as amostras a seus grupos originais, obtidos pela Análise de Agrupamento.

A influência de fatores ambientais (edáfico-climáticos) foi avaliada através da Análise de Correlação Canônica e mostrou uma influência significativa dos fatores climáticos sobre a composição química da secreção de defesa. α -Pineno e γ -cadineno estão relacionados às amostras coletadas em períodos mais secos, enquanto o 3-hexanol é fortemente relacionado às amostras dos períodos mais úmidos.

ABSTRACT

Seasonal variation of volatile constituents from soldier defensive secretions of three population of the termite *Constrictotermes cyphergaster* collected from Brazilian Cerrado were investigated by GC-MS. The results were submitted to Principal Component and Cluster Analysis which allowed three groups of defensive secretions to be distinguished with respect to sampling site and major constituents, α -pinene, γ -cadinene and 3-hexanol. The Discriminant Analysis showed that using these constituents as predict variables, it was possible to distinguish the samples according with their cluster, previous obtained by Cluster Analysis.

Canonical Correlation Analysis between the environmental data set and the populations revealed a significant influence of climatic factors on chemical composition of defensive secretions. α -Pinene and γ -cadinene were related to samples collected in dry season, and 3-hexanol was related to samples collected in humid season.

INTRODUÇÃO

Os térmitas, ou cupins como são conhecidos no Brasil, são insetos eusociais que pertencem à ordem *Isoptera*, e apresentam quase três mil espécies descritas, que estão distribuídas em sete famílias: Kalotermitidae, Mastotermitidae, Hodotermitidae, Termopsidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae (SHELLMAN-REEVE, 1997).

A defesa da colônia, na maioria das espécies, fica a cargo de uma casta especializada, denominada soldados, os quais realizam a defesa da mesma através da ação de mecanismos físicos e/ou químicos. As famílias Termitidae e Rhinotermitidae apresentam gêneros com espécies em que os soldados utilizam defesa química, a qual pode se apresentar de maneira isolada ou em conjunto com a defesa física (Figura 1) (PRESTWICH, 1984). São três os tipos de defesa utilizados pelos soldados desses gêneros: a) lesão do inimigo com adição de uma secreção irritante oriunda de uma glândula frontal, combinando a ação das mandíbulas com a substância química (gênero *Armitermes* e *Macrotermes*, família Termitidae); b) dispersão, através de pêlos labiais, de grande quantidade de substância química de defesa na cutícula do inimigo sem, entretanto, haver a ruptura dessa cutícula (gênero *Rhinotermes*, família Rhinotermitidae); c) ejeção de uma secreção viscosa irritante sobre o inimigo, sem haver o contato físico (gênero *Constrictotermes*, família Termitidae). É importante enfatizar que os tipos de defesa encontram-se associadas a um determinado gênero, ou seja, cada gênero faz uso apenas de um ou outro procedimento (PRESTWICH, 1982).



E. Cancelo

Figura 1- Soldado de Termitidae (*Procornitermes araujoï*), mostrando aparelho de defesa física e química.

A família Termitidae é subdividida em cinco subfamílias: Macrotermitinae, Apicotermitinae, Amitermitinae, Nasutitermitinae e Termitinae. Essa família é excepcionalmente diversa, porque possui mais gêneros e espécies do que todas as outras famílias de térmitas juntas (WILSON, 1971). De acordo com Myles (1999), existem em torno de 236 gêneros e 1958 espécies descritas nessa família, o que representa aproximadamente 84% dos gêneros e 71% das espécies descritas na ordem *Isoptera*.

A subfamília Nasutitermitinae é a maior e mais especializada da família Termitidae (KRISHNA, 1970) e apresenta gêneros que possuem apenas defesa química, sendo que os soldados desses gêneros possuem uma morfologia da cabeça bastante peculiar. Não possuem mandíbulas, mas sim um alongado “rostrum”, denominado *nasus*, que é utilizado para ejetar a secreção de defesa (Figura 2).



Figura 2- Soldado de Termitidae (*Nasutitermes acajutlae*), mostrando cabeça com Nasus, utilizado para ejetar a secreção de defesa.

Essa secreção se trata de uma solução viscosa constituída principalmente de diterpenos oxigenados, monoterpênicos e sesquiterpenos, que possuem uma ação tóxica, repelente ou de imobilização mecânica dos predadores (PRESTWICH *et al.*, 1981).

Os diterpenos oxigenados, em quase todas as espécies estudadas, possuem um esqueleto tricíclico trinervitano ou tetracíclico do tipo kempano (Figura 3) (PRESTWICH *et al.*, 1981). A habilidade dos térmitas de sintetizar essa classe de diterpenos é única entre os insetos e, até o momento, foram encontrados em apenas dez gêneros da subfamília Nasutitermitinae (TROWELL *et al.*, 2004). Sua função na secreção de defesa é a de aumentar a viscosidade, funcionando como uma cola, ao

mesmo tempo que reduz a perda de monoterpenos por evaporação (PRESTWICH, 1979; ROISIN *et al.*, 1988; EVERAERTS *et al.*, 1988).

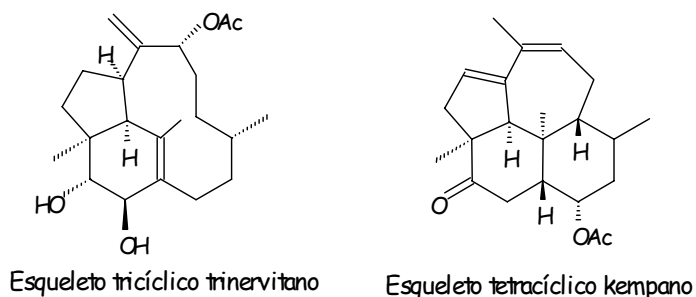


Figura 3- Esqueletos comuns de diterpenos oxigenados encontrados na subfamília Nasutitermitinae.

Os monoterpenos comumente encontrados na secreção de defesa são α e β -pineno, limoneno, terpinoleno, α -felandreno, canfeno, mirceno entre outros (Tabela 1) (PRESTWICH *et al.*, 1985). Esses monoterpenos exercem várias funções nessa secreção, pois funcionam como solvente para os diterpenos e como agentes tóxicos para diversas espécies de outros insetos predadores e competidores dos térmitas (EVERAERTS *et al.*, 1988). Além disso, são utilizados por algumas espécies de térmitas (*Nasutitermes rippertii* and *N. costalis*) como feromônio de alarme (VRKOC *et al.*, 1978) e como agente de identificação (GOH *et al.*, 1982).

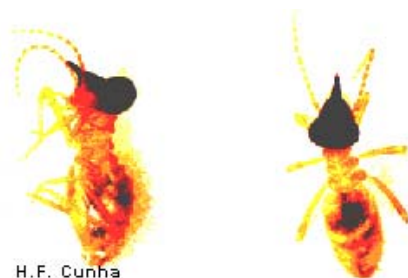
Tabela 1- Composição percentual média de monoterpenos encontrados em quatro espécies do gênero *Nasutitermes*.

Monoterpeno	Espécies			
	<i>N. columbicus</i>	<i>N. corniger</i>	<i>N. ephratae</i>	<i>N. nigriceps</i>
α -Pineno	5,34	54,27	60,43	69,40
Canfeno	0,02	0,73	0,84	0,45
β -Pineno	0,32	27,26	18,71	27,05
Mirceno	0,09	0,89	3,94	0,45
Limoneno	42,20	10,77	4,62	1,22
γ -Terpineno	0,00	0,04	0,17	0,02
Terpinoleno	48,54	0,89	0,88	0,22
α -Felandreno	1,59	0,94	0,53	0,00

Adaptado de Prestwich *et al.*, 1985.

Dentre os monoterpenos, o α -pineno é o que se encontra presente na maior parte das espécies, em geral em maior quantidade que outros monoterpenos, na família Termitidae. Em um estudo realizado com térmitas dessa família, envolvendo 52 espécies, 27 tiveram α -pineno como componente principal, enquanto que no gênero *Nasutitermes*, que pertence à família Termitidae, de 31 espécies analisadas, 16 apresentam α -pineno como componente majoritário (ROISIN *et al.*, 1988). Essa preferência por α -pineno pode estar correlacionada com a sua elevada toxicidade frente a predadores e outros insetos, tais como: formigas (*Formica rufa rufa*, *Monomorium pharaonis*) e besouros (*Dysdercus cingulatus*). Além de sua atividade fungistática e anti-séptica dentro do ninho de algumas espécies de térmitas (*Nasutitermes costalis* e *N. nigriceps*) (ROSENGAUS *et al.*, 2000).

O gênero *Constrictotermes*, pertencente à subfamília Nasutitermitinae, é formado por cinco espécies descritas: *C. latinotus*, *C. guantanamensis*, *C. cavifrons*, *C. cyphergaster* e *C. rupestris*. Essas espécies encontram-se assim localizadas: *C. latinotus* e *C. guantanamensis* não aparecem no Brasil, sendo originárias do Equador e de Cuba; *C. cavifrons* ocorre nas florestas do norte da América do Sul. *C. cyphergaster* Silvestri 1902 (Figura 4) manifesta-se em regiões de cerrado no Brasil Central (Mato Grosso, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e Distrito Federal) (ARAÚJO, 1977), e em regiões da Caatinga no Nordeste Brasileiro. Também é encontrado no Paraguai e na Bolívia (GODINHO *et al.*, 1989). *C. rupestris* ocorre no Brasil Central, entretanto constrói seu ninho sobre rochas (CONSTANTINO & COSTA-LEONARDO, 1997), ao contrário de *C. cyphergaster* que faz seus ninhos em árvores.



H.F. Cunha

Figura 4- Soldados de *Constrictotermes cyphergaster*.

A ecologia de *C. cyphergaster* foi estudada com relação a estratégia de defesa (COLES, 1980; MILL, 1982), distribuição espacial e relação com plantas hospedeiras (GODINHO *et al.*, 1989; SILVA, 2000), hábitos alimentares (MATHEWS, 1977; FONTES, 1980; CONSTANTINO & COSTA-LEONARDO, 1997), estrutura da colônia (CUNHA, 2000) e termitófilos (CUNHA & BRANDÃO, 2000).

Com relação à secreção de defesa de *C. cyphergaster*, um diterpeno do grupo trinervitano foi identificado como 3 α ,9 β ,15 α -triacetoxy-7,16-secotrinervita-7,11-dieno (Figura 5) (BAKER & ORGAN, 1984).

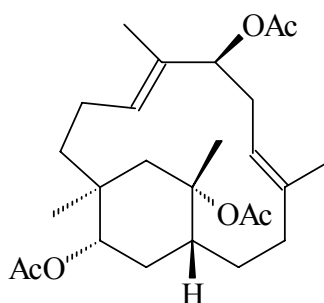


Figura 5- Diterpeno isolado de *C. cyphergaster*

Após o isolamento e a caracterização desse diterpeno, nenhum outro trabalho foi realizado para caracterizar os componentes voláteis (monoterpenos, sesquiterpenos e outras substâncias químicas de baixo peso molecular), presentes na secreção de defesa de *C. cyphergaster*. A determinação dos componentes voláteis presentes na secreção de defesa, pode ser de grande valia para auxiliar uma melhor compreensão da ecologia desse térmita, uma vez que *C. cyphergaster* é uma espécie importante nas áreas onde ocorre, já que suas populações são muito abundantes e seus ninhos funcionam como refúgio a diversas outras espécies de insetos, além de servir como hospedeiro a uma espécie de térmita do gênero *Inquilinitermes* (CUNHA & BRANDÃO, 2000).

Cabe ressaltar que o perfil químico dos componentes voláteis tem sido utilizado como um critério bastante útil na taxonomia de térmitas, tanto para caracterizar espécies quanto para caracterizar populações da mesma espécie (REINHARD *et al.*, 2002).

Assim como ocorre em plantas (AZEVEDO *et al.*, 2001), a análise da composição e variabilidade química da secreção de defesa dessa espécie, correlacionada a fatores edáfico-climáticos, permitirá uma avaliação de como esses fatores podem influenciar a sua composição química em diferentes populações.

Adicionalmente, a análise e determinação dos componentes químicos presentes na secreção de defesa de *C. cyphergaster*, virá se somar a determinações semelhantes realizadas em outras espécies, e desse modo contribuir para uma melhor compreensão do processo de evolução do sistema de defesa química dos térmitas na subfamília Nasutitermitinae (PRESTWICH, 1982).

OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são a identificação dos componentes voláteis da secreção de defesa de *Constrictotermes cyphergaster*, utilizando as técnicas de CG-EM e RMN ^{13}C , com a finalidade de avaliar a variabilidade química interpopulacional desses componentes voláteis, utilizando suas concentrações percentuais relativas, obtidas em períodos secos (julho) e úmidos (janeiro) em dois anos sucessivos (2002 e 2003), através do uso de técnicas de estatística multivariada. Além disso se almeja determinar componentes voláteis típicos de *C. cyphergaster*, que possam funcionar como caracteres de diferenciação sistemática em relação a outros gêneros de térmitas que habitem a mesma área que *C. cyphergaster*.

MATERIAL E MÉTODOS

LOCAIS DE COLETA

O estudo foi realizado com duas populações de *C. cyphergaster* localizadas em áreas de proteção ambiental: Parque Nacional de Brasília (PNB, Distrito Federal, Brasil), (Figura 6), e Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN, Goiás, Brasil), (Figura 7); e com uma terceira população localizada em área de intensa ação antrópica, na divisa do Estado de Goiás com o Distrito Federal (DGDF), às margens da rodovia BR-060 (Figura 8).

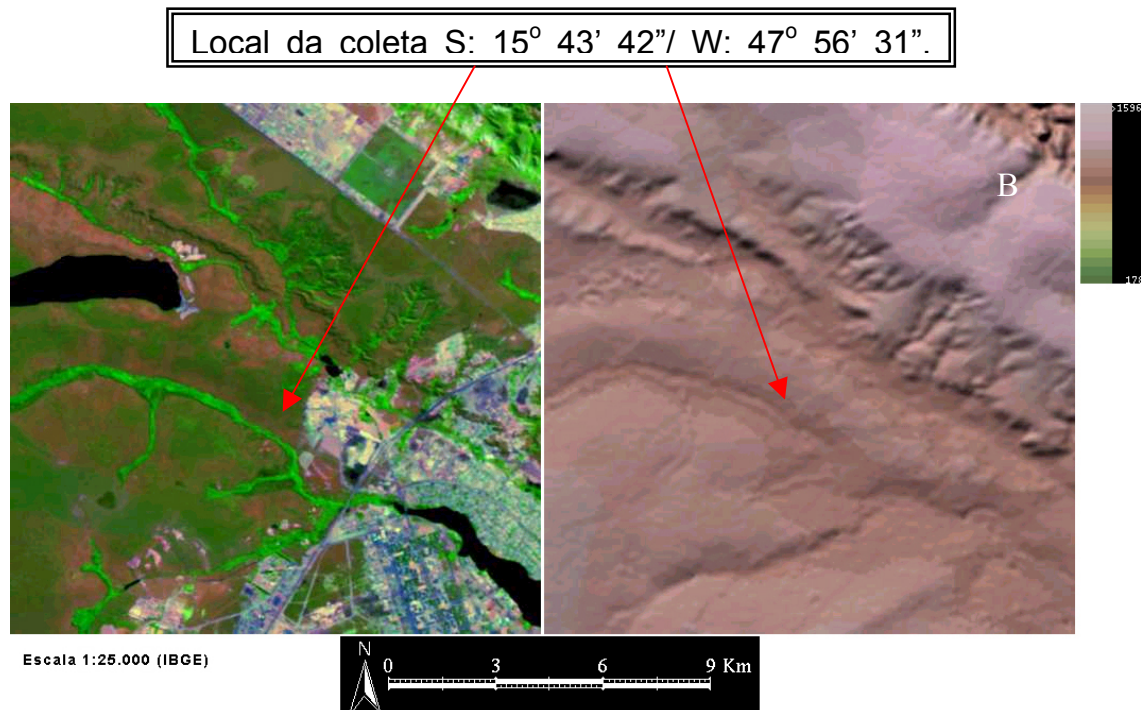


Figura 6- Fotos de satélite (A: geográfico; B: relevo), mostrando o local de coleta no Parque Nacional de Brasília – DF (EMBRAPA, 2005).

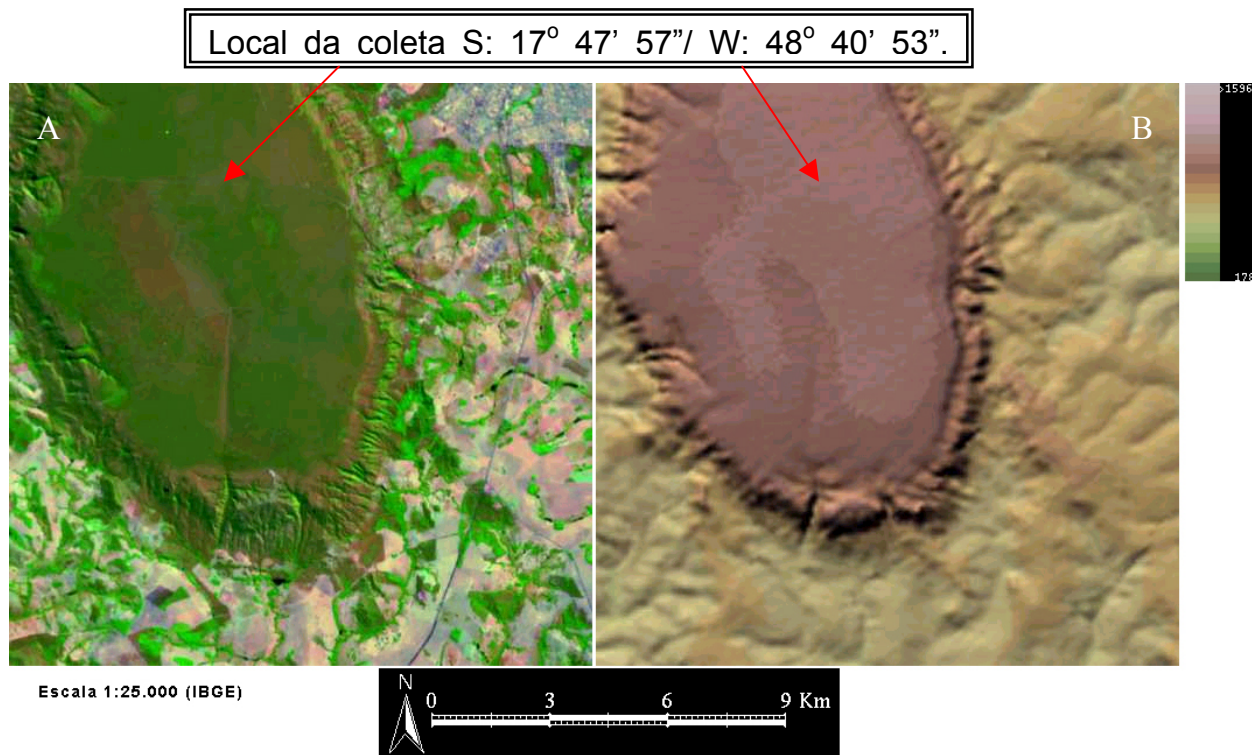


Figura 7- Fotos de satélite (A: geográfico; B: relevo), mostrando o local de coleta no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas – GO (EMBRAPA, 2005).

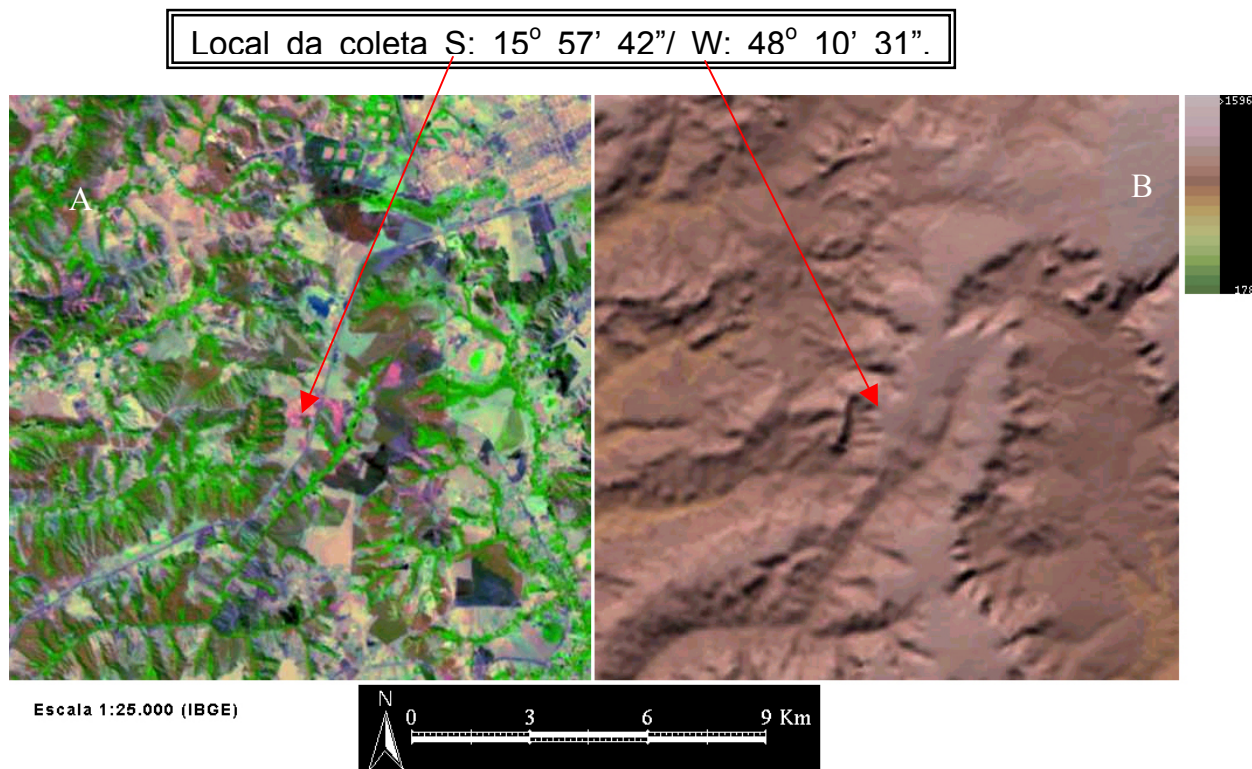


Figura 8- Fotos de satélite (A: geográfico; B: relevo), mostrando o local de coleta na região da divisa entre o Estado de Goiás e Distrito Federal (EMBRAPA, 2005).

TÉRMITAS

Em cada população foram selecionados a esmo três ninhos dentro de um raio de 50 metros. As coletas de cupins (aproximadamente 50 indivíduos por ninho) foram realizadas em duplicata, ou seja, de cada um dos três ninhos realizou-se a coleta de duas amostras de 50 indivíduos, nas estações seca (Julho) e úmida (Janeiro) durante dois anos sucessivos (2002 e 2003). Os cupins foram coletados em recipientes a baixa temperatura (-15 °C), e mantidos sob refrigeração (-18 °C) até a análise química (Figura 9).

IDENTIFICAÇÃO

A identificação da espécie foi realizada através da comparação com o material da coleção termitológica do Laboratório de Isoptera do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás-ICB/UFG, Goiás, Brasil. Após a análise química, amostras dos térmitas de todas as colônias foram selados e preservadas em álcool etílico.

DADOS EDÁFICO-CLIMÁTICOS

Ao redor das árvores em que estavam os ninhos dos quais os térmitas foram obtidos, foram coletadas amostras de solo para análise e obtenção dos dados edáficos. As amostras foram obtidas a uma profundidade de 20 cm em todas as localidades. O pH do solo foi determinado em uma solução 1:1 solo/água. Ca, Mg e Al foram extraídos com KCl 1M, e P com solução de Mehlich. Fe, Zn, matéria orgânica, capacidade de troca catiônica (CTC), acidez potencial (H + Al) e textura do solo foram determinadas aplicando a metodologia usual (SILVA, 1999). As análises foram realizadas pelo Laboratório de Análise de Solo e Foliar (LASF), da Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás. Os dados climáticos médios (temperatura, umidade e precipitação), dos meses de coleta foram obtidos junto ao Instituto Nacional de Meteorologia (10º Distrito de Meteorologia, Goiânia, Goiás, Brasil).

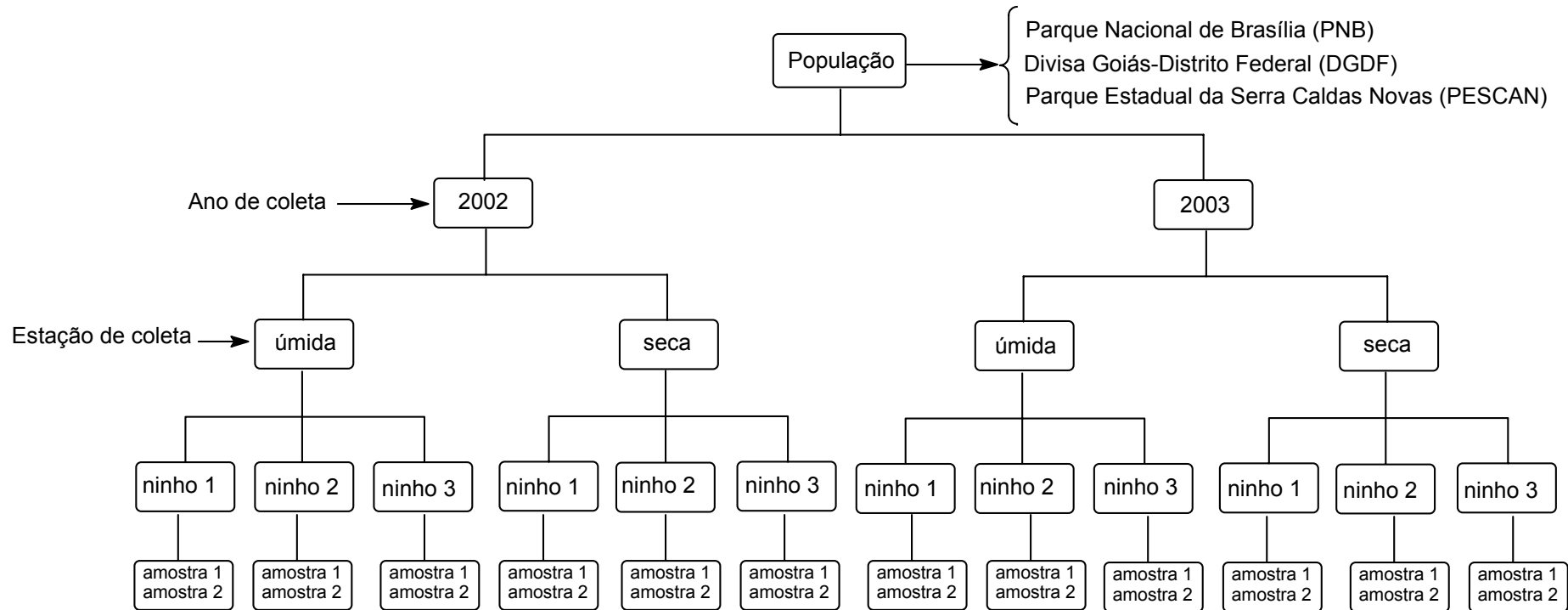


Figura 9- Organograma dos procedimentos experimentais para coleta, amostragem e análise estatística multivariada. A matriz de componentes voláteis para a realização da Análise de Componentes Principais foi construída utilizando-se a média das duas amostras de cada ninho (em percentagem relativa). As demais análises estatísticas multivariadas foram realizadas utilizando-se uma matriz construída com a média de todas as amostras por estação de coleta.

EXTRAÇÃO E ANÁLISE DA SECREÇÃO DE DEFESA

As extrações da secreção de defesa foram realizadas utilizando-se dez soldados de *C. cyphergaster* imersos em 0,5 mL de n-hexano (grau ultra-resíduo, BAKER, EUA) e submetidos a ultra-som (BRANSONIC, EUA) durante 15 segundos a temperatura ambiente. A utilização de n-hexano deveu-se ao fato de que as substâncias presentes na secreção defensiva apresentarem ótima solubilidade no mesmo. As análises químicas foram realizadas em um aparelho de cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro quadrupolar de massas (CG-EM), Shimadzu QP5050A (Kyoto, Japão), nas seguintes condições operacionais: coluna capilar de sílica fundida, modelo CBP-5 (30 m de comprimento \times 0,25 mm de diâmetro interno \times 0,25 μ m de espessura de um filme de 5% de fenilmetilpolisiloxano) (Shimadzu, Japão), com vazão de 1 mL.min⁻¹ de Hélio como gás de arraste; aquecimento com temperatura programada (60°C com um gradiente de 3°C.min⁻¹ até 240°C e, em seguida, com um gradiente de 10°C.min⁻¹ até 270°C, mantendo-se uma isoterma de 7 min, com um tempo total de corrida de 70 min). A energia de ionização do detector foi de 70 eV, sendo o volume de injeção da amostra de 0,5 μ l e uma razão de injeção de 1:20. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas em 220°C e 240°C, respectivamente. A análise foi conduzida no modo varredura, a uma velocidade de 1,0 varredura.s⁻¹, com um intervalo de massas de 40-400 *m/z*. A análise quantitativa foi obtida pela integração do cromatograma total de íons (TIC) e expressa como valores percentuais médios de duas replicatas. A identificação dos constituintes foi realizada por comparação, automática e manual, dos espectros de massas com os das bibliotecas NIST/EPA/NHI (1998), por comparação dos espectros de massas e Índices de Retenção (IR) com os da literatura (ADAMS, 1995; 2001) e co-injeção com padrões. Os Índices de Retenção foram calculados através da co-injeção com uma mistura de hidrocarbonetos, C₈-C₃₂ (Sigma, EUA), e com aplicação da equação de Dool e Kratz (DOOL & KRATZ, 1963). Os constituintes majoritários também foram identificados por ressonância magnética nuclear de carbono (RMN-¹³C), registrado em um espectrômetro Varian Gemini operando a 75 MHz e usando benzeno deuterado como referência interna (128 ppm). A identificação foi feita pela

comparação dos sinais do espectro de RMN ^{13}C do extrato da secreção de defesa, com os da literatura (KUBECZKA & FORMÁČEK, 2002).

ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Os dados da matriz dos componentes voláteis foram submetidos a Análise por Componentes Principais (PCA) para se verificar a inter-relação entre as populações e seus constituintes químicos, usando o pacote estatístico *Système Portable d'Analyse des Données Numériques* do Centre International de Statistique et d'Informatique Appliquées (LEBART *et al.*, 1994). A Análise por Agrupamento (Cluster) foi aplicada para o estudo da similaridade entre os indivíduos (populações) com base na distribuição dos constituintes da secreção de defesa química. A técnica do Vizinho Mais Próximo (Nearest Neighbour Complete Linkage), pelo algoritmo de Benzécri (BENZÉCRI, 1980), foi utilizada como índice de similaridade, enquanto o agrupamento hierárquico foi efetuado de acordo com o método de minimização da variância descrito por Ward (WARD, 1963). A Análise de Discriminante foi realizada utilizando-se o pacote estatístico *Systat* versão 10.0 (Systat Software Inc., 2000), com as amostras coletadas durante as estações úmidas e secas nos diferentes anos de coleta. A estimativa de predição do modelo foi obtida pela técnica de classificação Jackknife, que se baseia na alocação de cada amostra ao seu grupo mais próximo, sem entretanto utilizar essa amostra para determinação do centróide do grupo (TUKEY, 1958).

As correlações entre os constituintes voláteis da secreção de defesa e as variáveis edáfico-climáticas foram obtidas através da Análise de Correlação Canônica, implementado no pacote estatístico SAS. As estimativas de predição entre os conjuntos de variáveis foram obtidas pela Análise de Redundância Canônica utilizando os coeficientes normalizados. Valores de $P < 0,05$ foram considerados significativos.

RESULTADOS

COMPOSIÇÃO QUÍMICA E IDENTIFICAÇÃO

A composição dos constituintes voláteis da secreção de defesa de *C. cyphergaster* de cada população (PNB, DGDF e PESCAN), de acordo com o ano (2002 e 2003) e estação climática (seca e úmida) está exposta na Tabela 2, onde cada célula da tabela é a média das substâncias nas 6 amostragens realizadas em cada estação (ver Figura 9). 17 substâncias foram identificadas, sendo que as mesmas podem ser agrupadas em três classes distintas: monoterpenos (α -pineno, β -pineno, etc), sesquiterpenos (γ -cadineno, δ -cadineno, etc), álcoois e cetonas de baixo peso molecular.

Os componentes majoritários das três populações foram α -pineno ($70,08 \pm 11,19\%$), γ -cadineno ($5,03 \pm 1,53\%$), 3-hexanol ($4,20 \pm 2,92\%$) e 6-metil-2-heptanol ($4,87 \pm 3,6\%$).

O cromatograma típico da secreção de defesa está apresentado na Figura 10.

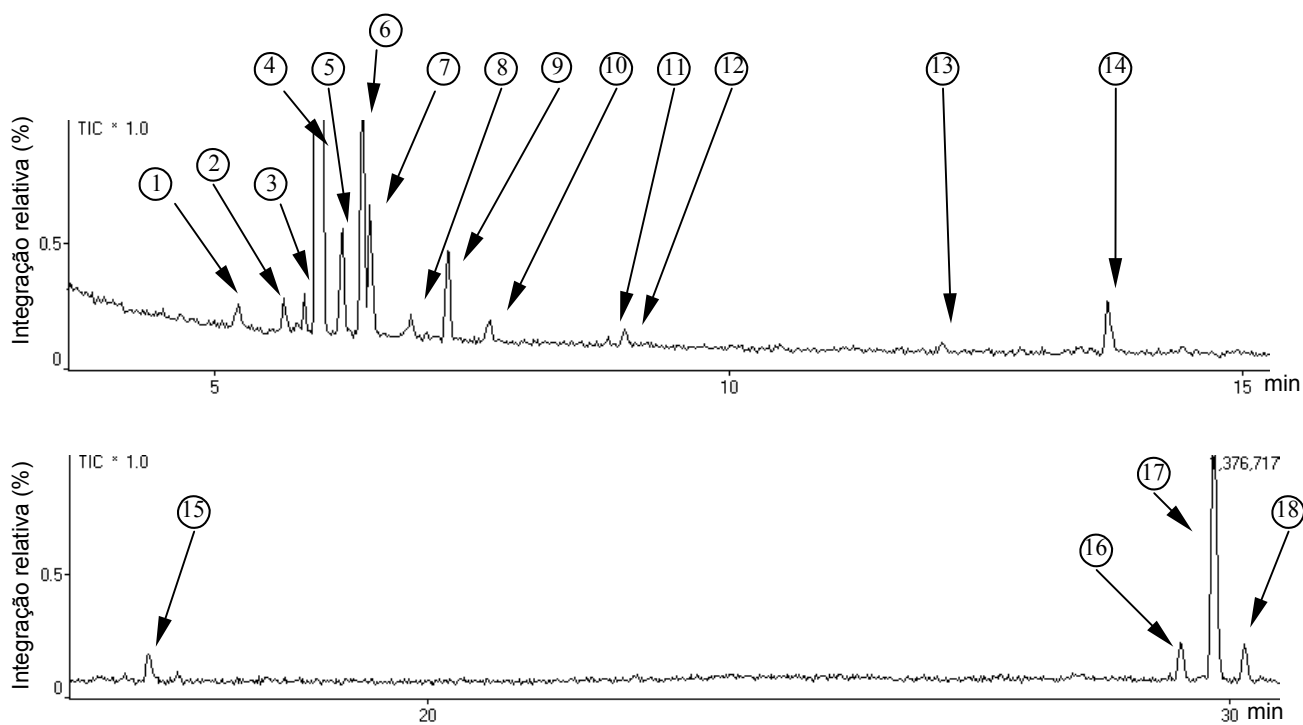


Figura 10- Cromatograma mostrando os picos das substâncias analisadas da secreção de defesa de *C. cyphergaster*.

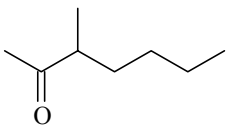
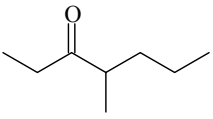
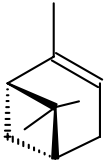
Tabela 2- Composições percentuais médias (\pm desvio-padrão), de substâncias identificadas na secreção de defesa de *C. cyphergaster* de acordo com ano, estação e local de coleta.

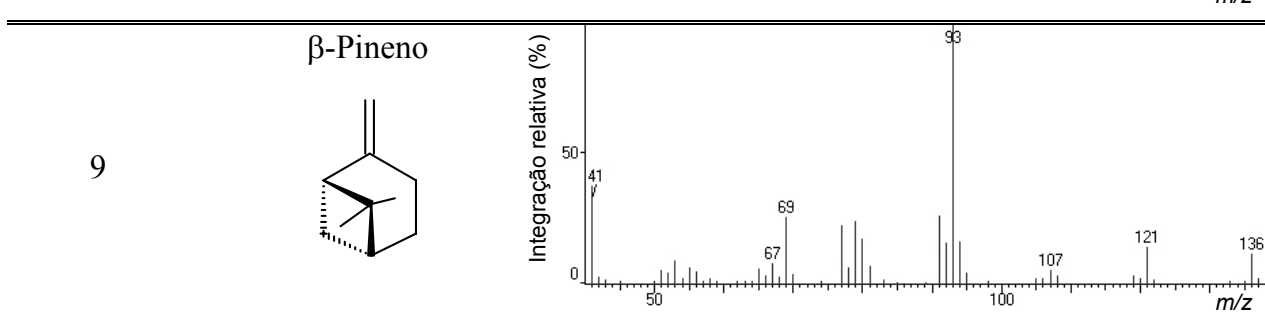
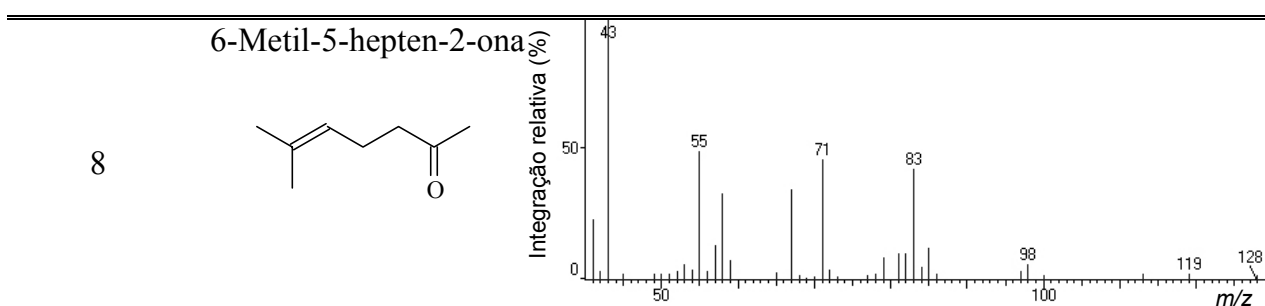
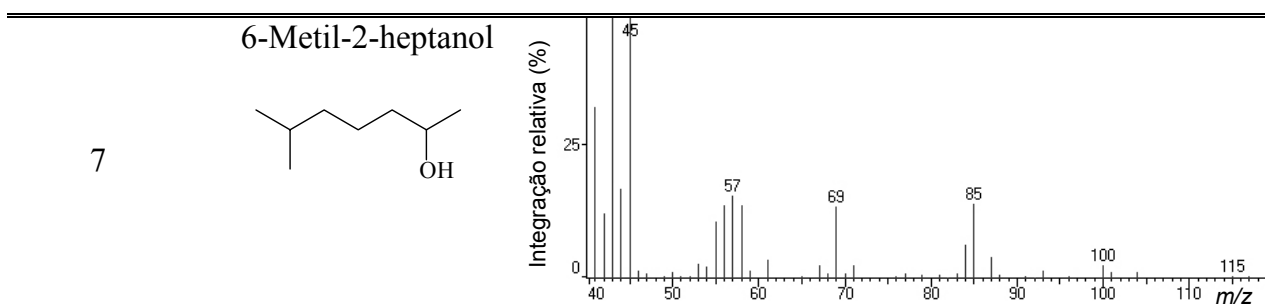
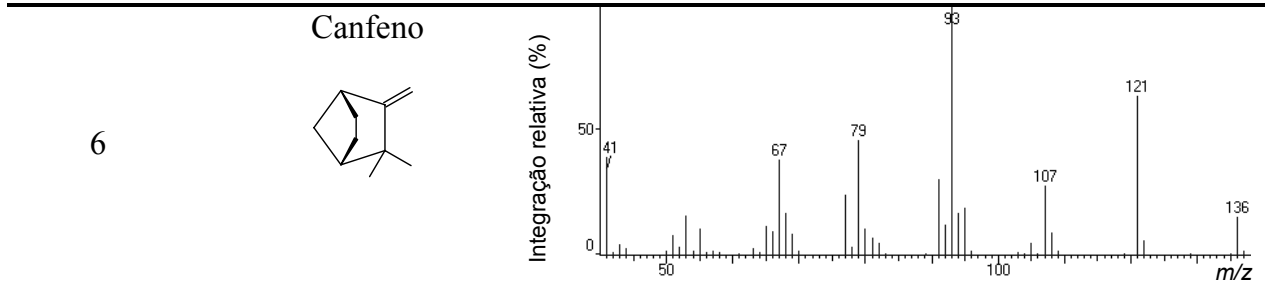
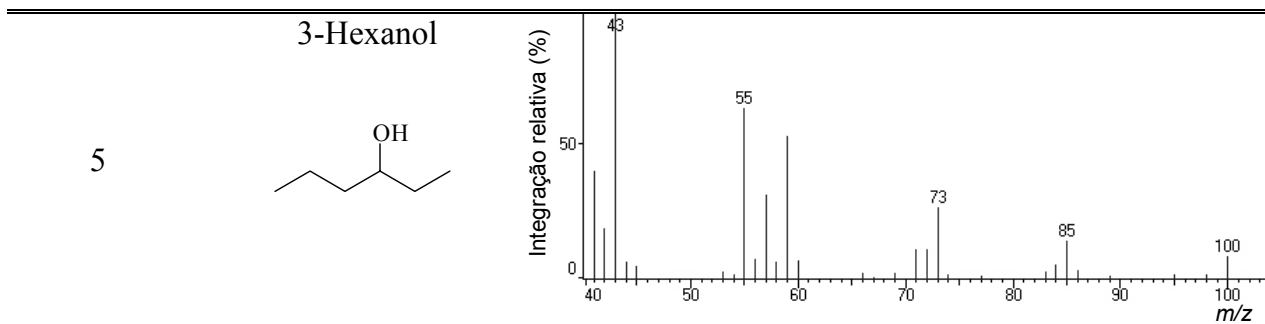
Local	Parque Nacional de Brasília (PNB)				Divisa Goiás – Distrito Federal (DGDF)				Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN)			
	2002		2003		2002		2003		2002		2003	
Ano	Úmida	Seca	Úmida	Seca	Úmida	Seca	Úmida	Seca	Úmida	Seca	Úmida	Seca
Estação												
No. Substância												
1 Não identificado	1,98 \pm 1,18	1,59 \pm 0,69	0,89 \pm 0,34	0,39 \pm 0,08	0,91 \pm 0,48	1,04 \pm 0,92	0,73 \pm 0,12	0,60 \pm 0,26	1,29 \pm 0,70	1,49 \pm 0,41	2,62 \pm 0,38	0,30 \pm 0,17
2 3-Metil-2-heptanona [@]	1,79 \pm 0,70	1,03 \pm 0,43	0,96 \pm 0,53	0,40 \pm 0,07	0,81 \pm 0,28	1,08 \pm 1,06	0,84 \pm 0,24	0,43 \pm 0,14	1,63 \pm 0,74	1,45 \pm 0,54	2,34 \pm 0,53	0,36 \pm 0,10
3 4-Metil-3-heptanona [@]	0,88 \pm 0,33	0,58 \pm 0,43	0,13 \pm 0,06	0,21 \pm 0,04	0,58 \pm 0,29	0,32 \pm 0,15	0,16 \pm 0,13	0,33 \pm 0,05	0,80 \pm 0,44	0,48 \pm 0,30	0,44 \pm 0,15	0,39 \pm 0,22
4 α -Pinenos ⁺	60,8 \pm 11,5	65,6 \pm 6,9	74,5 \pm 7,9	78,5 \pm 1,5	74,4 \pm 5,1	67,7 \pm 17,1	73,5 \pm 7,3	82,6 \pm 3,9	66,4 \pm 11,5	62,7 \pm 3,6	51,6 \pm 6,6	82,1 \pm 3,0
5 3-Hexanol [@]	7,31 \pm 3,44	4,64 \pm 1,70	3,73 \pm 1,30	1,37 \pm 0,41	3,63 \pm 1,44	4,04 \pm 3,62	2,98 \pm 0,47	1,23 \pm 0,73	5,96 \pm 3,62	5,98 \pm 2,38	8,41 \pm 1,93	1,07 \pm 0,38
6 Canfeno ⁺	1,78 \pm 1,80	1,98 \pm 1,96	2,72 \pm 2,11	4,58 \pm 0,42	2,50 \pm 1,48	3,15 \pm 0,99	3,05 \pm 0,83	3,60 \pm 1,03	2,22 \pm 1,80	3,76 \pm 0,53	2,02 \pm 1,60	3,63 \pm 2,05
7 6-Metil-2-heptanol [@]	8,20 \pm 4,30	5,35 \pm 1,83	4,47 \pm 1,84	1,26 \pm 0,41	4,30 \pm 1,81	4,63 \pm 4,52	3,62 \pm 0,58	1,19 \pm 0,82	6,79 \pm 4,48	7,01 \pm 3,24	10,56 \pm 1,8	1,06 \pm 0,49
8 6-Metil-5-hepten-2-ona [@]	2,00 \pm 0,79	1,02 \pm 0,41	1,01 \pm 0,41	0,41 \pm 0,10	0,98 \pm 0,39	0,99 \pm 0,89	0,69 \pm 0,12	0,42 \pm 0,23	1,70 \pm 0,88	1,98 \pm 0,78	2,48 \pm 0,60	0,38 \pm 0,20
9 β -Pinenos ⁺	1,81 \pm 0,73	1,55 \pm 0,97	1,87 \pm 1,14	2,58 \pm 0,19	1,10 \pm 0,50	1,71 \pm 0,71	1,95 \pm 0,50	1,26 \pm 0,29	1,35 \pm 0,72	2,08 \pm 0,78	1,28 \pm 0,99	1,38 \pm 0,61
10 2,6-Dimetil-2-heptanol [@]	1,00 \pm 0,41	0,83 \pm 0,20	0,73 \pm 0,51	0,61 \pm 0,13	0,58 \pm 0,30	0,74 \pm 0,73	0,49 \pm 0,23	0,68 \pm 0,12	0,91 \pm 0,27	1,25 \pm 0,46	1,72 \pm 0,31	0,72 \pm 0,15
11 <i>p</i> -Cimeno ⁺	0,29 \pm 0,03	0,24 \pm 0,26	0,15 \pm 0,09	0,03 \pm 0,03	0,17 \pm 0,14	0,16 \pm 0,13	0,17 \pm 0,17	0,11 \pm 0,07	0,40 \pm 0,33	0,22 \pm 0,20	0,52 \pm 0,02	0,10 \pm 0,12
12 Limoneno ⁺	0,68 \pm 0,24	0,43 \pm 0,07	0,52 \pm 0,23	0,27 \pm 0,10	0,39 \pm 0,25	0,35 \pm 0,20	0,44 \pm 0,20	0,24 \pm 0,08	0,75 \pm 0,16	0,24 \pm 0,19	1,02 \pm 0,38	0,38 \pm 0,21
13 Alcool fenil-etílico [@]	0,63 \pm 0,19	0,22 \pm 0,09	0,37 \pm 0,21	0,51 \pm 0,23	0,09 \pm 0,09	0,13 \pm 0,14	0,73 \pm 0,30	0,58 \pm 0,24	0,14 \pm 0,14	0,26 \pm 0,17	1,22 \pm 0,28	0,52 \pm 0,44
14 2-Fenol-(1Z)-propenil [@]	0,26 \pm 0,09	0,18 \pm 0,07	0,12 \pm 0,10	0,12 \pm 0,07	0,11 \pm 0,12	0,36 \pm 0,32	0,33 \pm 0,16	0,09 \pm 0,04	0,24 \pm 0,20	0,36 \pm 0,38	0,22 \pm 0,33	0,07 \pm 0,06
15 Verbenona [#]	0,50 \pm 0,52	0,13 \pm 0,11	0,05 \pm 0,02	0,25 \pm 0,22	0,13 \pm 0,08	0,52 \pm 0,27	0,20 \pm 0,18	0,07 \pm 0,03	0,61 \pm 0,52	0,51 \pm 0,52	0,36 \pm 0,39	0,07 \pm 0,06
16 Germacreno A [*]	0,80 \pm 0,52	1,50 \pm 0,62	0,81 \pm 0,17	0,80 \pm 0,20	0,68 \pm 0,11	0,98 \pm 0,35	0,78 \pm 0,20	0,61 \pm 0,26	0,66 \pm 0,13	0,92 \pm 0,51	0,84 \pm 0,09	0,71 \pm 0,08
17 γ -Cadineno [*]	4,46 \pm 0,45	8,44 \pm 2,70	4,78 \pm 0,47	5,25 \pm 0,46	4,27 \pm 0,04	5,80 \pm 0,73	4,27 \pm 0,56	4,61 \pm 0,76	4,09 \pm 0,69	5,22 \pm 2,25	4,14 \pm 1,28	4,98 \pm 0,89
18 δ -Cadineno [*]	1,24 \pm 1,00	1,27 \pm 0,42	0,94 \pm 0,43	0,87 \pm 0,16	0,65 \pm 0,14	0,98 \pm 0,43	0,86 \pm 0,33	0,85 \pm 0,14	0,77 \pm 0,05	0,76 \pm 0,61	1,02 \pm 0,32	0,85 \pm 0,09
Hidrocarbonetos monoterpênicos	65,0 \pm 13,2	69,6 \pm 5,24	79,6 \pm 6,66	85,9 \pm 1,9	78,4 \pm 6,4	72,9 \pm 16,6	79,0 \pm 6,8	87,8 \pm 2,75	70,7 \pm 13,6	68,8 \pm 4,0	56,0 \pm 7,85	87,5 \pm 1,89
Monoterpenos oxigenados	0,50 \pm 0,52	0,13 \pm 0,11	0,05 \pm 0,02	0,25 \pm 0,22	0,13 \pm 0,08	0,52 \pm 0,27	0,20 \pm 0,18	0,07 \pm 0,03	0,61 \pm 0,52	0,51 \pm 0,52	0,36 \pm 0,39	0,07 \pm 0,06
Hidrocarbonetos sesquiterpênicos	6,5 \pm 1,92	11,2 \pm 3,3	6,5 \pm 1,00	6,9 \pm 0,76	5,6 \pm 0,29	7,8 \pm 1,43	5,9 \pm 0,78	6,0 \pm 0,87	5,5 \pm 0,5	6,9 \pm 3,2	6,0 \pm 1,2	6,5 \pm 1,0
Outros	22,3 \pm 9,49	14,1 \pm 5,11	11,6 \pm 4,51	4,9 \pm 0,45	11,2 \pm 4,6	12,4 \pm 10,6	10,0 \pm 2,0	5,0 \pm 2,2	18,5 \pm 10,4	19,0 \pm 6,4	27,9 \pm 5,0	4,7 \pm 1,0
Total identificado (%)	96,38	96,60	98,75	98,4	96,3	94,7	95,86	99,57	96,7	96,65	92,9	99,1

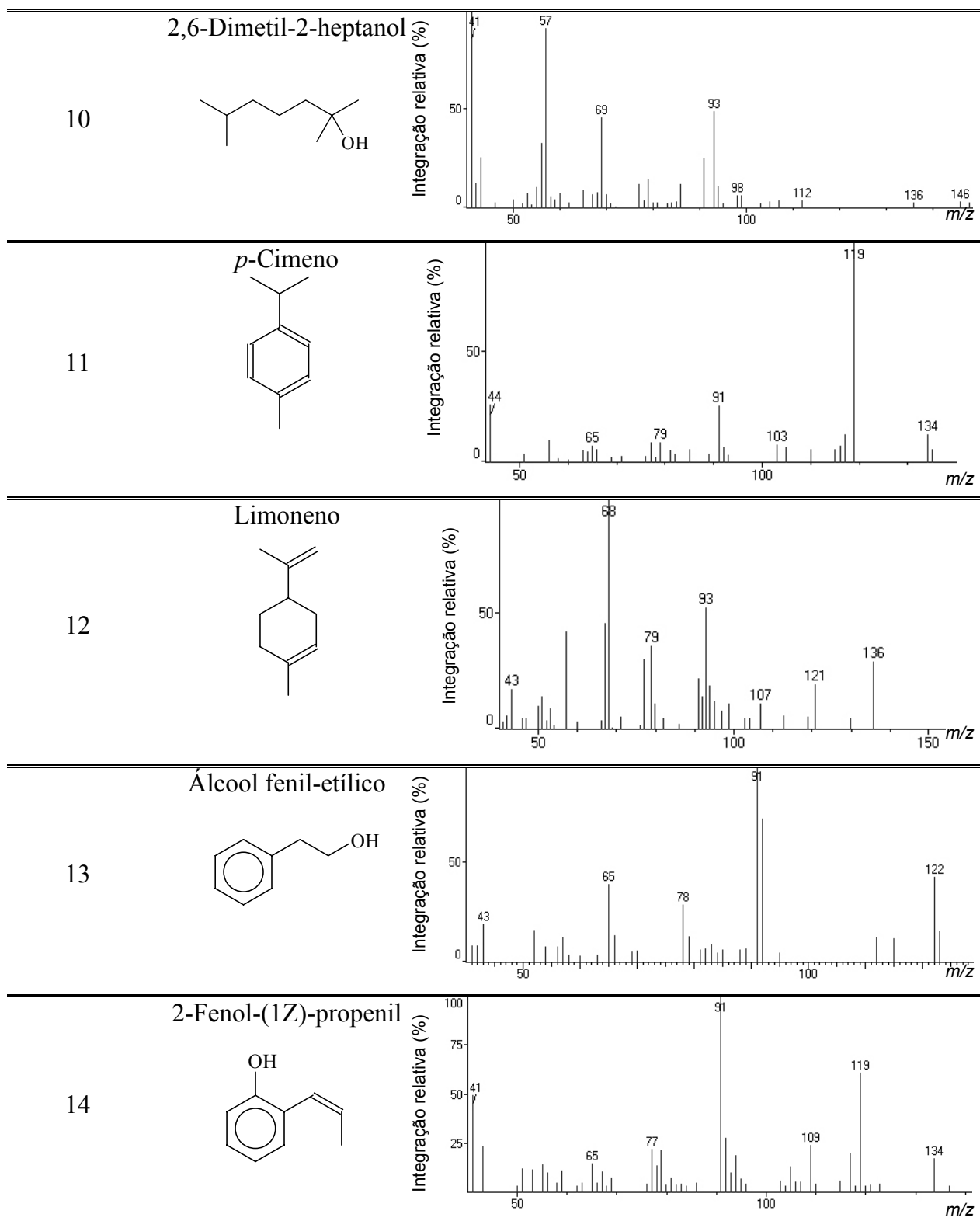
* sesquiterpenos; ⁺ monoterpênicos, [#] monoterpênicos oxigenados; [@] outros.

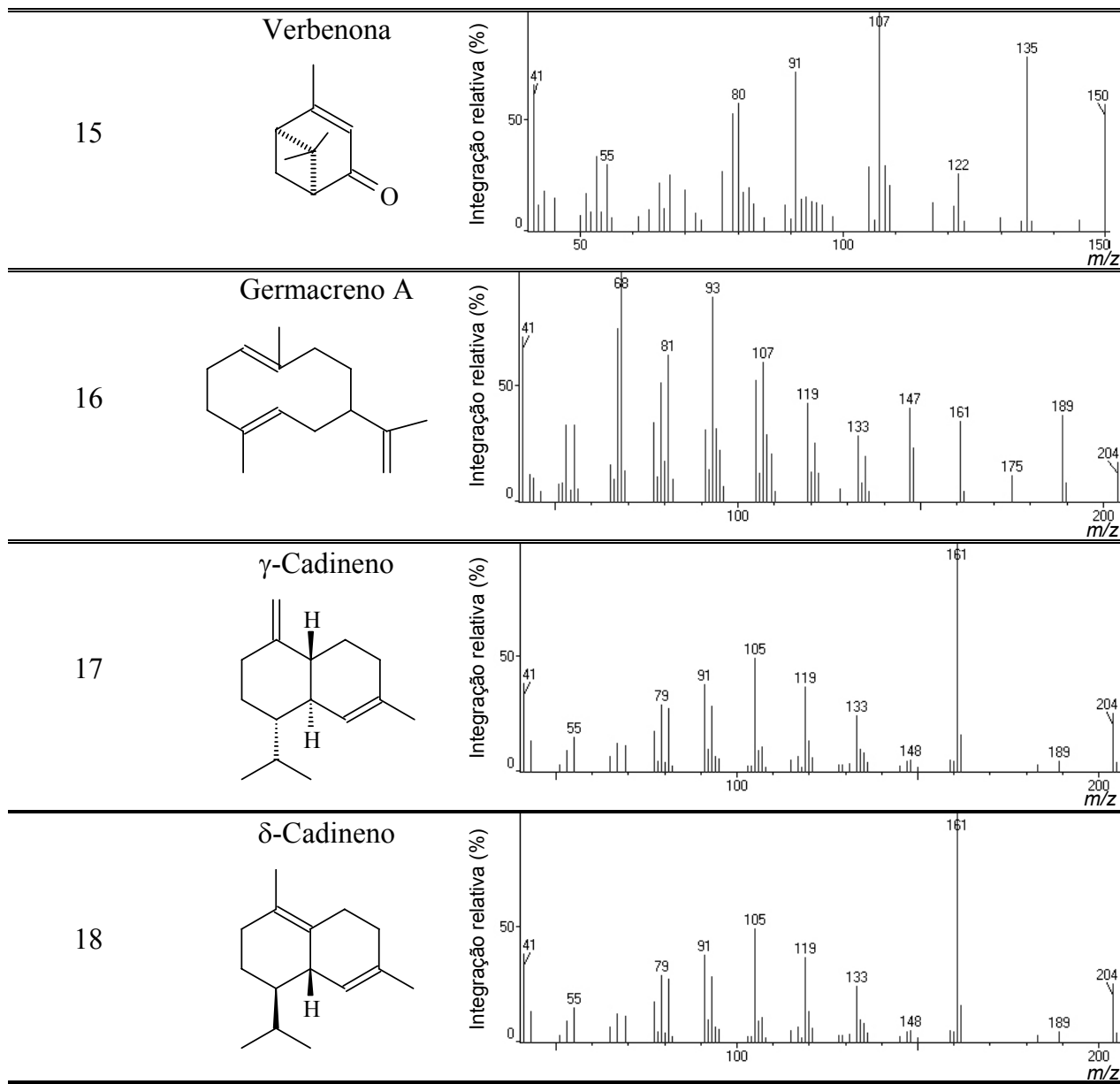
Na Figura 11 encontra-se a relação entre os números dos picos, o nome e a estrutura das substâncias e seu respectivo espectro de massas.

Figura 11- Relação das estruturas químicas e espectro de massas das substâncias caracterizadas na secreção de defesa de *C. cyphergaster*, identificadas pelo nome e de acordo com a numeração na figura 10.

Número do pico	Nome da substância e estrutura	Espectro de massas
1	não identificado	<p>Mass spectrum for peak 1. The x-axis is m/z (0 to 150+) and the y-axis is relative integration (%). The base peak is at m/z 43. Other significant peaks are at m/z 59, 85, 110, 120, 137, and 182.</p>
2	3-Metil-2-heptanona 	<p>Mass spectrum for peak 2. The x-axis is m/z (0 to 150+) and the y-axis is relative integration (%). The base peak is at m/z 43. Other significant peaks are at m/z 55, 73, 85, 112, and 125.</p>
3	4-Metil-3-heptanona 	<p>Mass spectrum for peak 3. The x-axis is m/z (0 to 150+) and the y-axis is relative integration (%). The base peak is at m/z 57. Other significant peaks are at m/z 43, 71, 86, 99, and 128.</p>
4	α -Pino 	<p>Mass spectrum for peak 4. The x-axis is m/z (0 to 150+) and the y-axis is relative integration (%). The base peak is at m/z 93. Other significant peaks are at m/z 41, 67, 77, 105, 121, and 136.</p>







Os índices de Kovats, calculados (DOOL & KRATZ, 1963), e tabelados (ADAMS, 1995; 2001), para as substâncias estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3- Índice Kovats para as substâncias voláteis presentes na secreção de defesa de *C. cyphergaster*.

Número	TR ^a	IK ^b	IK ^c	Substância
1	5,258	902,74	-	Não identificado
2	5,698	917,97	924	3-Metil-2-heptanona
3	5,897	924,86	939	4-Metil-3-heptanona
4	6,052	930,23	939	α -Pineno
5	6,267	937,67	-	3-Hexanol
6	6,462	944,43	954	Canfeno
7	6,535	946,95	965	6-Metil-2-heptanol
8	6,927	960,53	986	6-Metil-5-hepten-2-ona
9	7,291	973,13	979	β -Pineno
10	7,691	986,98	992	2,6-Dimetil-2-heptanol
11	8,829	1020,13	1025	<i>p</i> -Cimeno
12	9,011	1024,93	1029	Limoneno
13	12,200	1108,02	1107	Álcool fenil-etílico
14	13,682	1142,25	1151	2-Fenol-(1 <i>Z</i>)-propenil
15	16,506	1207,24	1205	Verbenona
16	29,424	1500,30	1509	Germacreno A
17	29,840	1510,68	1514	γ -Cadineno
18	30,223	1520,23	1523	δ -Cadineno

^aTempo de Retenção (min).

^bÍndice de Kovats, Dool & Kratz, 1963.

^cÍndice de Kovats (ADAMS, 2001).

O espectro de RMN ¹³C obtido a partir da secreção de defesa confirmou a identidade dos componentes majoritários conforme pode ser visto na Figura 12.

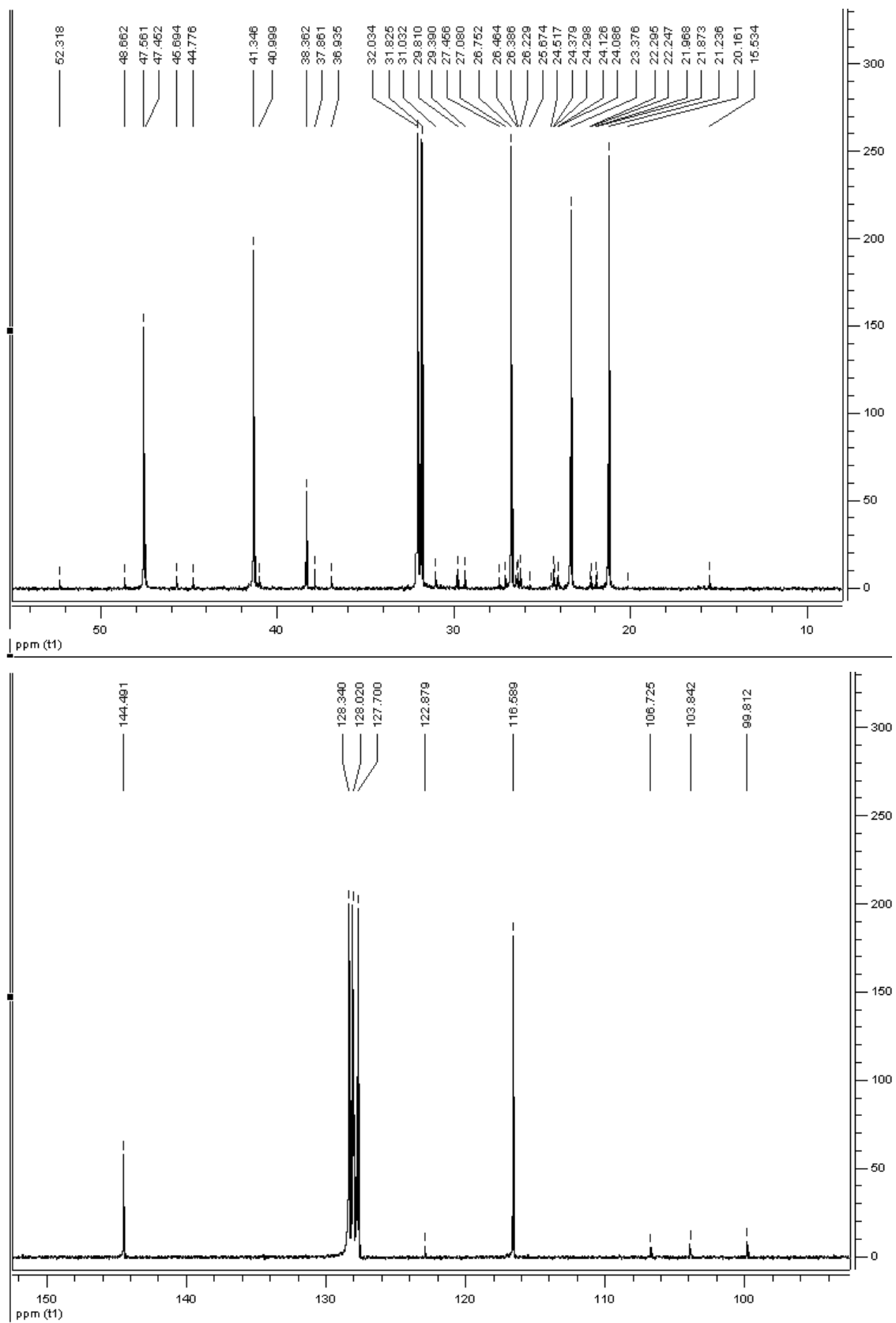


Figura 12- Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, C_6D_6 , δ) da secreção de defesa de *C. cyphergaster*.

A Tabela 4 relaciona os deslocamentos químicos das substâncias majoritárias presentes no espectro de RMN-¹³C e seus nomes respectivos (KUBECZKA & FORMÁČEK, 2002).

Em todas as amostras analisadas, as substâncias listadas na Tabela 2, sempre foram encontradas, mesmo que em baixas concentrações (<0,1%).

Tabela 4- Deslocamento químico das substâncias identificadas na secreção de defesa de *C. cyphergaster*.

Pico	ppm	Substância	Pico	ppm	Substância
1	144,491	α -Pineno	14	31.824	α -Pineno
2	116,588	α -Pineno	15	31.032	Limoneno
3	106,724	β -Pineno	16	29.389	6-Metil-5-hepten-2-ona
4	99,812	Canfeno	17	27.080	δ -Cadineno
5	52,318	β -Pineno	18	26.751	α -Pineno
6	48,662	Canfeno	19	26.386	β -Pineno
7	47,561	α -Pineno	20	25.674	6-Metil-5-hepten-2-ona
8	47,451	Canfeno	21	24.517	Germacreno A
9	45,693	δ -Cadineno	22	24.297	<i>p</i> -Cimeno
10	41,346	Limoneno	23	24.125	Canfeno
11	40,999	β -Pineno	24	23.375	Verbenona
12	38,362	α -Pineno	25	21.873	δ -Cadineno
13	37,861	Germacreno A			

ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Análise de Componentes Principais

A análise de Componentes Principais (ACP), utilizando-se a matriz de correlação (Tabela 5), mostrou que os dois primeiros CP's retiveram 74,6% da variância total dos dados originais (57,3% do primeiro CP e 17,3% do segundo CP). Na análise foram descartadas as variáveis 3, 9, 11, 13 e 14 (Tabela 2), devido às suas baixas contribuições à variância acumulada.

Tabela 5- Matriz de correlação das substâncias voláteis presentes na secreção de defesa de *C. cyphergaster*.

Substâncias	1	2	4	5	6	7	8	10	12	15	16	17	18
1	1,00												
2	0,89	1,00											
4	-0,93	-0,94	1,00										
5	0,92	0,97	-0,95	1,00									
6	-0,37	-0,40	0,33	-0,48	1,00								
7	0,92	0,96	-0,95	0,99	-0,51	1,00							
8	0,88	0,95	-0,90	0,95	-0,41	0,94	1,00						
10	0,78	0,80	-0,83	0,78	-0,27	0,81	0,79	1,00					
12	0,55	0,65	-0,59	0,58	-0,25	0,57	0,57	0,52	1,00				
15	0,55	0,56	-0,60	0,56	-0,28	0,54	0,51	0,31	0,21	1,00			
16	-0,15	0,06	-0,24	0,11	-0,20	0,12	0,05	0,20	-0,08	0,13	1,00		
17	0,02	-0,20	-0,04	-0,14	0,09	-0,15	-0,20	0,00	-0,14	0,03	0,79	1,00	
18	0,25	0,22	-0,30	0,23	-0,36	0,21	0,23	0,26	0,16	0,22	0,63	0,37	1,00

1: não identificado; 2: 3-Metil-2-heptanona; 4: α -Pinoeno; 5: 3-Hexanol; 6: Canfeno; 7: 6-Metil-2-heptanol; 8: 6-Metil-5-hepten-2-ona; 10: 2,6-Dimetil-2-heptanol; 12: Limoneno; 15: Verbenona; 16: Germacreno A; 17: γ -Cadineno; 18: δ -Cadineno

Os autovalores e os coeficientes dos autovetores dos dois primeiros componentes principais, associados às variáveis estão listados na Tabela 6.

Tabela 6- Autovalores e autovetores associados aos dois primeiros componentes da ACP das substâncias voláteis da secreção de defesa de *C. cyphergaster*.

Variáveis		Coeficiente dos autovetores associados às variáveis.													
CP	Auto valor	1	2	4	5	6	7	8	10	12	15	16	17	18	
1	7,441	-0,94	-0,97	0,97	-0,98	0,48	-0,98	-0,95	-0,84	-0,64	-0,60	-0,18	0,07	0,33	
2	2,258	0,01	0,14	0,06	0,09	0,15	0,09	0,14	-0,03	0,19	-0,09	-0,94	-0,87	-0,71	

CP = componente principal

No primeiro CP observa-se que os autovetores apresentam três tendências distintas. Os autovetores associados às variáveis 4 (α -Pineno) e 6 (Canfeno), localizam-se na região extrema positiva desse CP, enquanto que os autovetores associados às variáveis 16, 17 e 18; (sesquiterpenos, respectivamente Germacreno A, γ -Cadineno e δ -Cadineno), localizam-se próximos à região central desse primeiro CP. Já os demais autovetores localizam-se à esquerda da região central. Assim verifica-se que no primeiro CP ocorre a separação do conjunto de variáveis em três grupos distintos, ou seja, os monoterpenos (variáveis 4 e 6), os sesquiterpenos e as demais substâncias da matriz de componentes voláteis (Tabela 6). No segundo CP a separação se dá entre os sesquiterpenos no extremo negativo do mesmo e os demais autovetores, que localizam-se na região central desse CP, formando assim dois grupos distintos. Os escores das amostras obtidas através da ACP estão listadas na Tabela 7. O gráfico obtido através da ACP é mostrado na Figura 13 (Estão plotados apenas os autovetores das substâncias discriminantes).

Tabela 7- Escores das amostras utilizadas na análise de componentes principais.

Amostra	CP 1	CP 2	Amostra	CP 1	CP 2
DGDF ÚMIDA 2002	1,40	1,23	PNB ÚMIDA 2003	0,93	-0,04
DGDF SECA 2002	0,24	-0,88	PNB SECA 2003	3,73	-0,01
DGDF ÚMIDA 2003	1,66	0,54	PESCAN ÚMIDA 2002	-2,43	1,89
DGDF SECA 2003	3,53	0,67	PESCAN SECA 2002	-1,47	0,40
PNB ÚMIDA 2002	-3,71	-0,18	PESCAN ÚMIDA 2003	-6,53	0,86
PNB SECA 2002	-0,90	-4,79	PESCAN SECA 2003	3,56	0,31

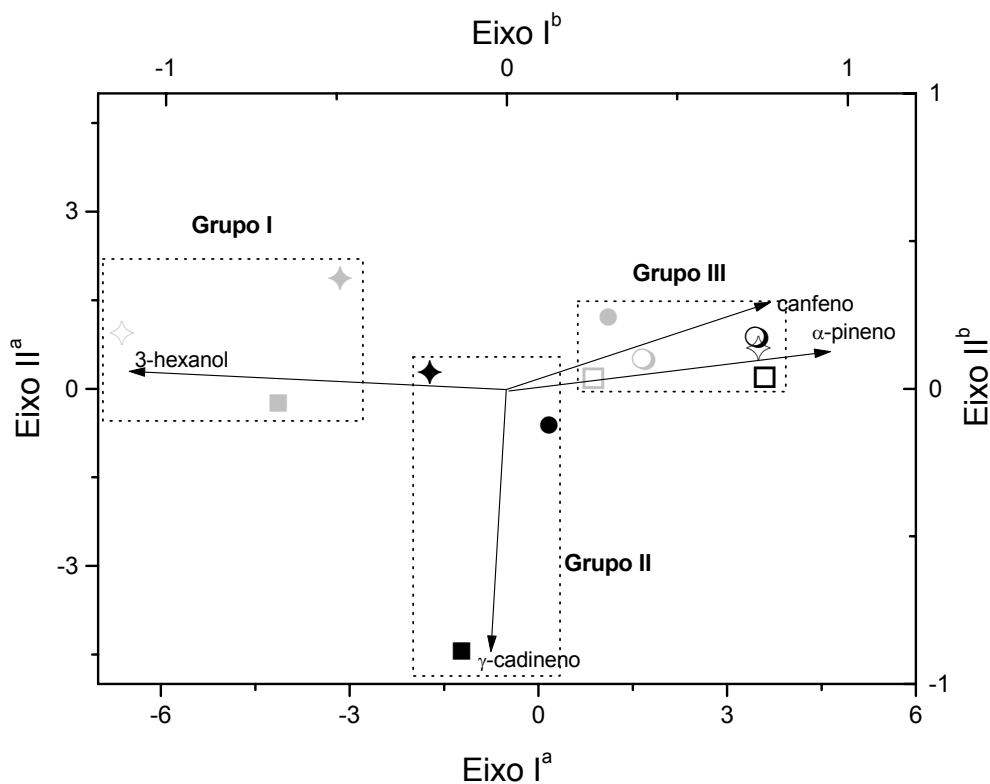


Figura 13- Gráfico representando o plano fatorial da ACP de *C. cyphergaster* coletados em três populações: (●) Divisa GO – DF; (■) Parque Nacional de Brasília; (◆) Parque Estadual da Serra de Caldas Novas. ^a Escores das amostras por estação (cinza: estação úmida; preto: estação seca) e ano (símbolo cheio: 2002; símbolo vazado: 2003); ^b Escores das substâncias discriminantes, representadas como vetores a partir da origem. O eixo I^a representa 57,3% da variância total, enquanto o eixo II^a representa 17,3% da variância total.

Análise de Agrupamento

A Análise de Agrupamento foi realizada de modo a verificar os grupos que se formam naturalmente, utilizando-se a distância Euclidiana e o método de minimização da variância (WARD, 1963). A técnica classificou as amostras (coletas) em três grupos, organizados da seguinte maneira: O grupo I é caracterizado por elevados teores de 3-hexanol ($7,23\% \pm 1,00\%$) ($P < 0,01$). Esse grupo é representado pelas seguintes amostras: PNB na estação úmida de 2002 e PESCAN na estação úmida de 2002 e 2003. O grupo II é caracterizado pelos sesquiterpenos da secreção de defesa, com o γ -cadineno como majoritário ($6,49 \pm 1,4\%$) ($P < 0,01$). Esse grupo compreende as seguintes populações: DGDF, PNB e PESCAN todos na estação seca de 2002. O grupo III foi caracterizado pela elevada quantidade de α -pineno ($77,65\% \pm 3,72\%$) ($P < 0,01$) e canfeno ($3,35\% \pm 0,69\%$) ($P < 0,01$). Esse grupo engloba as seguintes populações: PNB nas estações seca e úmida de 2003; DGDF nas estações seca e úmida de 2003 e na estação úmida de 2002; PESCAN na estação seca de 2003 (Figura 14).

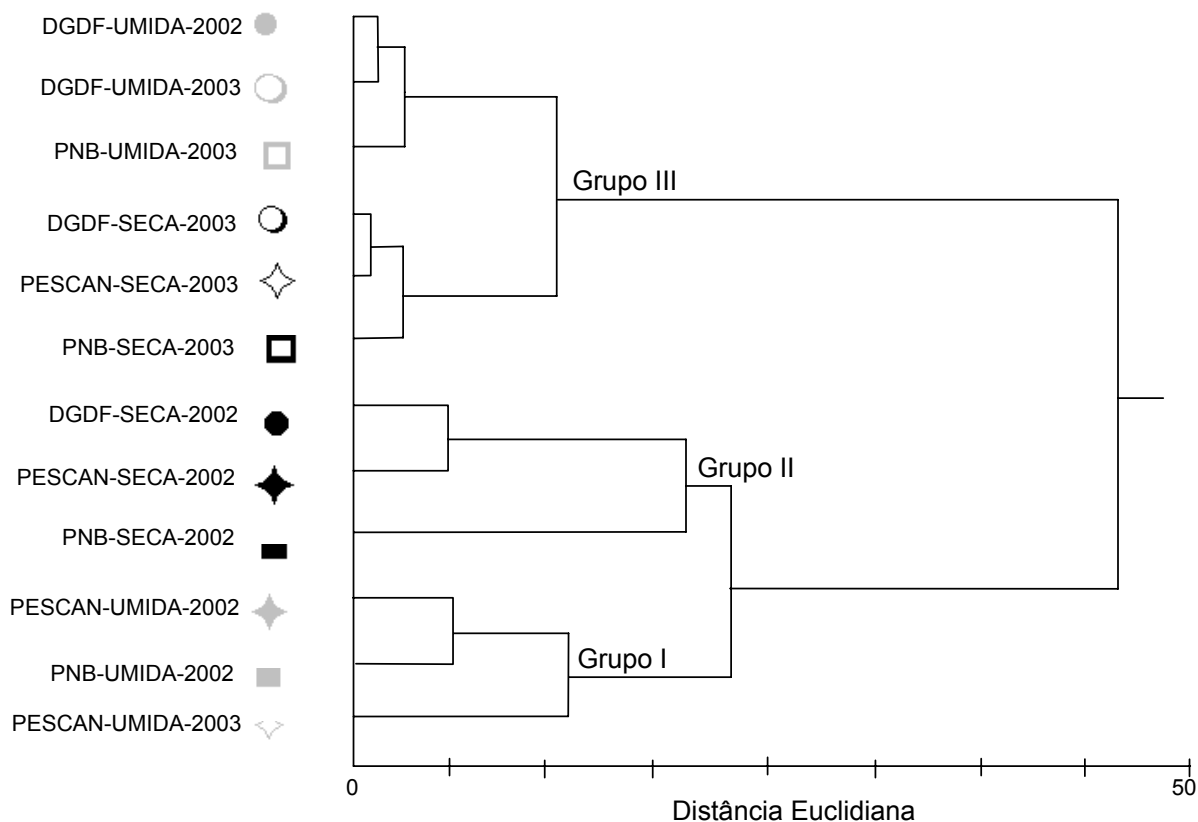


Figura 14- Dendrograma de classificação hierárquica dos indivíduos (coletas).

A percentagem média das substâncias discriminantes com relação a seus grupos característicos e com relação ao conjunto global estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8- Percentagens médias e desvios-padrões das substâncias discriminantes em seus grupos e no conjunto global.

Substância discriminante	Grupo característico (%)	Conjunto global (%)
α -Pinoeno	77,65 \pm 3,72	70,08 \pm 8,87
γ -Cadineno	6,49 \pm 1,4	5,03 \pm 1,14
3-Hexanol	7,23 \pm 1,00	4,20 \pm 2,28

Análise de Discriminante

A Análise de Discriminante, utilizando a mesma matriz de dados da Análise de Componentes Principais e da Análise de Agrupamento, foi realizada com o objetivo de verificar se as variáveis características dos grupos apontados pela ACP e pela Análise de Agrupamento conseguiam alocar corretamente os indivíduos nos seus respectivos grupos. Como parâmetros de classificação foram utilizadas as amostras que formam os grupos obtidos pela Análise de Agrupamento (as estações de coleta, por ano e por local). Os resultados, mostraram que as variáveis características de cada grupo conseguem classificar corretamente 92% das populações, com somente uma amostra mal classificada. A primeira função discriminante reteve 75,4% da variabilidade total e separa as amostras em função do conteúdo de α -Pinoeno. A Segunda função discriminante reteve 24,6% da variância e separou as amostras com base em seu conteúdo de sesquiterpenos. A amostra oriunda da população do PESCAN na estação seca de 2002 foi mal classificada como pertencente ao grupo I. Essa classificação equivocada foi dependente do elevado conteúdo de 3-hexanol (substância característica do grupo I), com relação às outras amostras do grupo II. Quando se utilizou o método Jackknife, para validação da capacidade discriminante das funções, obteve-se 83% de alocação correta, com apenas 2 amostras mal classificadas (Tabela 9).

Tabela 9- Sumário da Análise de Discriminante dos constituintes voláteis de *C. cyphergaster* por estação de coleta.

Função discriminante canonica	Autovalor	Variância (%)	Correlação canônica	Lambda de Wilks	F	G.L.	P
F1	4,443	75,4	0,903	0,075	6,187	6; 14	0,002
F2	1,450	24,6	0,769	0,409	5,785	2; 8	0,028
Coeficiente normalizado	Descritores						
	α -pineno		3-hexanol			γ -cadineno	
	F1	0,219	-0,830			-0,408	
F2	0,752		0,855			-0,815	
Matriz de classificação							
Grupo	I	II	III	Classificação correta (%)			
I	3	0	0	100			
II	1	2	0	67			
III	0	0	6	100			
Total	4	2	6	92			
Matriz de classificação (Jackknife)							
Grupo	I	II	III	Classificação correta (%)			
I	2	1	0	67			
II	1	2	0	67			
III	0	0	6	100			
Total	3	3	6	83			

Número de amostras: 12; G.L. = Graus de liberdade.

Os escores das amostras com os centróides dos grupos estão listados na Tabela 10.

Tabela 10- Escores das amostras obtidas pela análise de discriminante.

Amostra	F1	F2
PNB-ÚMIDA-2002	-2,333	1,314
PESCAN-ÚMIDA-2002	-0,954	1,58
PESCAN-ÚMICA-2003	-3,358	0,973
PNB-SECA-2002	-2,122	-3,597
DGDF-SECA-2002	-0,368	-1,211
PESCAN-SECA-2002	-1,678	-0,06
PNB-ÚMIDA-2003	0,645	0,593
PNB-SECA-2003	2,249	-0,914
DGDF-ÚMIDA-2002	0,953	0,991
DGDF-ÚMIDA-2003	1,371	0,392
DGDF-SECA-2003	2,842	0,243
PESCAN-SECA-2003	2,751	-0,304
Centróide do Grupo I	-2,215	1,289
Centróide do Grupo II	-1,389	-1,623
Centróide do Grupo III	1,802	0,167

O gráfico das duas funções discriminantes dos locais de coleta, por estação e ano está apresentado na figura 15.

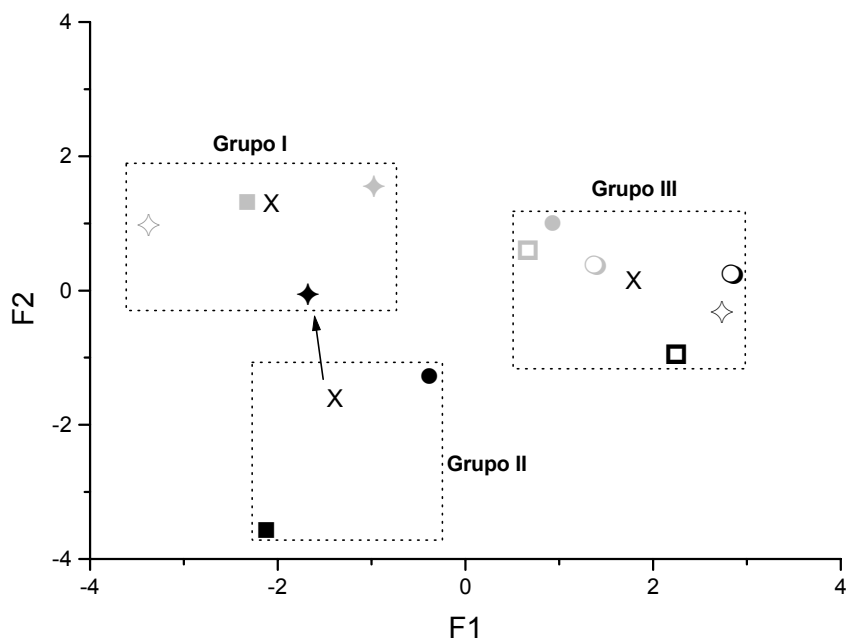


Figura 15- Gráfico das duas funções discriminantes canônicas dos locais de coleta, por estação e ano: (●) Divisa GO – DF; (■) Parque Nacional de Brasília; (◆) Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (cinza: estação úmida, preto: estação seca; símbolo cheio: 2002, símbolo vazio: 2003). Variáveis de predição: α -pineno, γ -cadineno e 3-hexanol. O centro do grupo encontra-se representado pelo símbolo X. A variável mal classificada está destacada pela seta.

Análise de Correlação Canônica

A Análise de Correlação Canônica foi realizada utilizando-se a matriz de dados ambientais (dados edáfico-climáticos; Tabelas 11 e 12), e a matriz dos constituintes voláteis de *C. cyphergaster*.

Tabela 11- Fatores edáficos (matriz de solos) dos locais de coleta.

Componente	Local		
	PNB	DGDF	PESCAN
Argila (%)	57,0	49,0	54,0
Silte (%)	21,0	21,0	21,0
Areia (%)	22,0	21,0	26,0
Cobre (mg/dm ³)	0,3	0,4	0,3
Ferro (mg/dm ³)	5,0	16,0	11,7
Manganês (mg/dm ³)	53,9	1,2	6,3
Zinco (mg/dm ³)	23,5	0,9	2,8
Potássio (mg/dm ³)	38,0	61,0	43,0
Cálcio (cmolc/dm ³)	0,2	0,3	0,2
Magnésio (cmolc/dm ³)	0,1	0,2	0,1

PNB: Parque Nacional de Brasília; DGDF: Divisa de Goiás – Distrito Federal e PESCAN: Parque Estadual da Serra de Caldas.

Tabela 12- Fatores climáticos (umidade, precipitação e temperatura médias das estações de coleta) dos locais de amostragem.

Local	PNB		DGDF				PESCAN					
	Ano		2002		2003		2002		2003			
Estação	úmida	seca	úmida	seca	úmida	seca	úmida	seca	úmida	seca		
Umidade (%)	66	55	79	53	66	55	79	53	73	58	81	54
Precipitação (mm)	133,3	16,5	229,4	0	133,3	16,5	229,4	0	228,8	0	424,5	0
Temperatura (°C)	22,3	20,1	21,8	19,0	22,3	20,1	21,8	19,0	24,0	20,6	23,7	20,2

PNB: Parque Nacional de Brasília; DGDF: Divisa de Goiás – Distrito Federal e PESCAN: Parque Estadual da Serra de Caldas.

Os resultados obtidos sugerem que a temperatura, umidade e precipitação exercem uma influência significativa sobre a composição da secreção de defesa de *C. cyphergaster*. A variável dependente discriminante do grupo I, 3-Hexanol, na primeira variável canônica dependente, apresenta uma correlação diretamente proporcional às variáveis climáticas independentes (umidade, temperatura e precipitação), na primeira variável canônica independente, enquanto que as variáveis dependentes, discriminantes dos grupos II e III, γ -cadineno e α -pineno, respectivamente, na primeira variável canônica dependente, possuem uma correlação inversamente proporcional às variáveis climáticas independentes. A primeira correlação explica 92,1% da variância acumulada (Tabela 13).

Tabela 13- Sumário da Análise de Correlação Canônica dos constituintes voláteis discriminantes da secreção de defesa de *C. cyphergaster* e os fatores ambientais.

Componente volátil discriminante (conjunto 01)	Variável canônica (V1)	Fatores ambientais (conjunto 02)	Variável canônica (W1)
α -pineno	0,5205	Umidade (%)	-0,8957
3-hexanol	-0,5924	Temperatura (°C)	-0,9663
γ -Cadineno	0,4465	Precipitação (mm)	-0,9669
		Fe (mg/dm ³)	-0,1001
		Zn (mg/dm ³)	0,2041
		Ca (mg/dm ³)	0,1283
Autovalor			0,8486
Correlação canônica			0,9212
Lambda de Wilks			0,0148
<i>Chi</i> -quadrado de Bartlett			107,3240
Graus de liberdade			72
<i>P</i>			0,004
Variância acumulada (%):			
dos constituintes voláteis discriminantes			28,62
da relação entre os constituintes voláteis discriminantes e as componentes ambientais			38,74

DISCUSSÃO

EXTRAÇÃO E ANÁLISE DOS COMPONENTES VOLÁTEIS

Os procedimentos adotados na obtenção dos extratos iniciaram-se com a otimização dos processos de extração e análise. A extração dos componentes voláteis presentes nos soldados de *C. cyphergaster* foi inicialmente realizada com a imersão do corpo do térmita em hexano durante 30 minutos. Esse tempo foi sendo reduzido, e os cromatogramas obtidos, avaliados quanto a qualidade da extração. A partir de 1 minuto passou-se a utilizar sonicação durante o processo de extração. Por fim, chegou-se a conclusão de que bastavam 15 segundos de imersão em n-hexano, exposto a sonicação. Assim, o tempo de extração foi padronizado em 15 segundos, com sonicação, a temperatura ambiente, seguido da injeção no CG-EM. O uso do corpo inteiro dos espécimes ou apenas da cabeça, onde concentra-se a secreção de defesa, foi avaliado através de um experimento prévio. O experimento baseou-se no uso apenas da cabeça recém removida de 10 soldados ou de 10 indivíduos inteiros, de acordo com a metodologia de extração discutida anteriormente. O resultado obtido mostrou que não houve diferença entre as metodologias, utilizando-se assim o térmita inteiro.

Os componentes voláteis foram encontrados em todos os extratos das coletas realizadas, mesmo que em baixas concentrações (< 0,1%). Esse resultado sugere uma base genética para a sua biossíntese, independente da dieta dos térmitas e localização das populações. O resultado observado está de acordo com o verificado anteriormente (PRESTWICH, 1982), a respeito do gênero *Nasutitermes*, no qual ficou comprovado experimentalmente, através do uso de reagentes marcados com carbono-14, que a biossíntese das substâncias presentes na secreção de defesa é endógena.

Dos componentes identificados na secreção de defesa de *C. cyphergaster*, α -pineno foi a substância encontrada em maior quantidade. A observação de que esse monoterpeno ocorria em grande quantidade nessa espécie já havia sido determinado

(BAKER & ORGAN, 1984). A preferência por esse monoterpeno é observada em outros gêneros da família Termitidae (ROSENGAUS *et al.*, 2000).

Os sesquiterpenos não são tão freqüentes nas secreções de defesa de térmitas quanto os monoterpenos. Na subfamília Nasutitermitinae, apenas quatro gêneros tem sesquiterpenos descritos em suas secreções de defesa (*Curvitermes strictinasus*, *Syntermes brevimalatus*, *S. dirus*, *S. molestus*, e *S. peruanus*, *Nasutitermes infuscatus*, *N. octopilis* e as espécies do gênero *Subulitermes*) (PRESTWICH, 1984). Outras famílias e subfamílias possuem sesquiterpenos em suas secreções de defesa, tais como as espécies do gênero *Reticulitermes* (Isoptera, Rhinotermitidae). As espécies desse gênero possuem uma gama bastante variada de sesquiterpenos em sua secreção de defesa, sendo os mais comuns γ -cadineno, germacreno A, germacreno B, γ -himachaleno e β -bisaboleno. Desses sesquiterpenos o mais comum é o γ -cadineno, que em algumas espécies do gênero *Reticulitermes*, representa mais que 90% do total de terpenos da secreção de defesa. Nesse gênero, os padrões fenotípicos da secreção de defesa vem sendo utilizado em conjunto com os padrões de hidrocarbonetos cuticulares, para auxiliar a taxonomia de espécies e populações (NELSON *et al.*, 2001).

Em *C. cyphergaster*, o sesquiterpeno γ -cadineno ocorre em concentrações mais elevadas do que alguns monoterpenos da secreção de defesa (Tabela 2).

A presença de γ -cadineno, em quantidade apreciável ($5,03 \pm 1,14$) na secreção de defesa de *C. cyphergaster*, pode ser utilizada como um bom auxiliar na caracterização química da espécie.

ANÁLISE ESTATÍSTICA MULTIVARIADA

Os resultados obtidos a partir da ACP e da Análise de Agrupamento mostraram que as amostras (coletas), podem ser classificadas em 3 grupos. Esses grupos são caracterizados principalmente por 3 substâncias. O grupo I é caracterizado por 3-hexanol e compreende, principalmente, amostras oriundas do PESCAN. A amostra oriunda do PNB na estação úmida de 2002, que foi alocada nesse grupo pela Análise de Agrupamento, é a que possui o maior conteúdo de 3-

hexanol ($7,31 \pm 3,44\%$) entre todas as amostras das populações do Distrito Federal, sendo esse valor médio muito próximo à média do grupo ($7,23 \pm 1,00$). O grupo II é composto por três amostras, sendo duas das populações localizadas no Distrito Federal (PNB e DGDF), caracterizado principalmente por γ -cadineno. A amostra do PESCAN que a Análise de Agrupamento associou a esse grupo é a que apresenta a maior quantidade de γ -cadineno ($5,22 \pm 2,25\%$), e possui 3-hexanol ($5,98 \pm 2,38\%$), em quantidade apreciavelmente menor do que as amostras que formam o grupo I. As demais amostras formam o grupo III que é constituído quase integralmente por amostras das populações do Distrito Federal, e é caracterizado, principalmente, por um elevado teor de α -pineno ($77,65 \pm 3,72$), um monoterpene. Apenas uma amostra pertencente a esse grupo não é oriunda das populações do Distrito Federal. É a obtida do PESCAN na estação seca de 2003. Essa amostra, ao contrário das outras da população do PESCAN, é a que apresenta o menor conteúdo de 3-hexanol entre todas as avaliadas ($1,07 \pm 0,38\%$) e a que possui o maior conteúdo de α -pineno ($82,1 \pm 3,0\%$), entre as amostras da população do PESCAN.

Esse resultado permite afirmar que as duas populações que se localizam no Distrito Federal, bem próximas geograficamente, possuem um perfil químico mais homogêneo entre si do que com a população localizada a dois graus de latitude ao sul (PESCAN), já no Estado de Goiás, independente da estação e do ano.

Os motivos para esse comportamento podem estar relacionados a fatores edáfico-climáticos dos ambientes avaliados. De modo a avaliar a relação entre esses fatores foi realizada a Análise de Correlação Canônica. Através dessa análise verificou-se que tanto a variável discriminante do grupo III (α -pineno), quanto a variável discriminante do grupo II (γ -cadineno), correlacionam-se negativamente com as variáveis climáticas analisadas (temperatura, umidade e precipitação). Em outras palavras, quanto maiores os índices climáticos avaliados, menores as concentrações das substâncias discriminantes desses dois grupos. Já o contrário ocorre com a substância discriminante do grupo I (3-hexanol), isto é, quanto maiores os índices das variáveis climáticas avaliadas, maiores as concentrações dessas substâncias. Esses resultados auxiliam a compreender melhor a formação dos grupos. Os locais em que se situam as populações do Distrito Federal (PNB e

DGDF) apresentaram menores índices de umidade, precipitação e temperatura que o local da população de Goiás (PESCAN).

Os resultados da Análise de Correlação Canônica permitiram inclusive explicar a presença de amostras da população do PESCAN nos grupos formados por amostras das populações do Distrito Federal e vice-versa. A coleta realizada no PESCAN, na seca de 2003, foi classificada como pertencente ao grupo III pela Análise de Agrupamento. Esse período teve variáveis climáticas muito semelhantes às das populações do Distrito Federal, aumentando dessa maneira a concentração de α -pineno, substância discriminante desse grupo, o que auxilia a explicar esta alocação.

Essas análises levam a conclusão de que as populações que estão localizadas no Distrito Federal estão produzindo uma quantidade proporcionalmente mais elevada de monoterpenos, que a população localizada mais ao sul, em Goiás. Como os fatores edáficos avaliados não apresentaram correlação significativa com as variáveis discriminantes dos grupos, pode-se inferir que a medida que o clima torna-se mais seco, com menores índices de precipitação, umidade e temperatura, dentro do espaço geográfico desse estudo, ocorre uma alteração na concentração das substâncias presentes na secreção de defesa de *C. cyphergaster*, no sentido de aumentar a quantidade de monoterpenos, os quais tem uma ação ativa no processo de defesa de espécies da subfamília Nasutitermitinae, seja como feromônio de alarme, solvente dos diterpenos utilizados na defesa ou como agente tóxico contra os predadores (VRKOC, *et al.*, 1978).

Adicionalmente convém ressaltar que esses resultados contrastam com aqueles descritos na literatura (PRESTWICH *et al.*, 1985), cuja conclusão foi de que os fatores ambientais não influenciam a composição química da secreção de defesa de *Nasutitermes corniger* (Nasutitermitinae).

De posse dos resultados obtidos com relação ao perfil químico das três populações de *Constrictotermes cyphergaster*, propomos que as populações localizadas no Distrito Federal (PNB e DGDF) compõem um ecótipo desse térmita enquanto que a população localizada no Estado de Goiás representa um outro ecótipo. Cabe lembrar aqui a definição de ecótipo: Trata-se de uma população localmente adaptada de uma espécie amplamente distribuída; essas populações

mostram pequenas mudanças de morfologia e/ou fisiologia, as quais são relacionadas ao habitat e são geneticamente induzidas. Entretanto elas ainda são reproduzíveis entre si (ALLABY, 1998). Resultados semelhantes a esse são conhecidos em plantas (BARAZANI *et al.*, 1999; 2002).

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos através da análise estatística multivariada mostram que pressões ambientais, em especial os fatores climáticos, influenciam na composição dos constituintes voláteis da secreção de defesa química de *C. cyphergaster*.

Levando em consideração esses resultados, as populações de *C. cyphergaster* do Distrito Federal (PNB e DGDF), podem ser consideradas um ecótipo distinto das populações oriundas do PESCAN.

O uso dos perfis químicos da secreção de defesa, principalmente o conjunto de componentes voláteis, que aparentemente são espécies-específico (ROISIN, *et al.*, 1988), após o estabelecimento da variabilidade a que as espécies estão sujeitas devido a pressões ambientais, pode ser útil como auxiliar quimiotaxonômico (EVERAERTS *et al.*, 1988), na caracterização e identificação de espécies já estabelecidas, ou novas espécies, desde que os dados sejam submetidos ao tratamento estatístico adequado.

PERSPECTIVAS

Criação da linha de pesquisa: “Composição e variabilidade química das secreções defensivas de térmitas presentes no Cerrado Goiano”, dando continuidade ao presente trabalho. Determinação da relação enantiomérica (quando houver), das substâncias presentes na secreção defensiva dos térmitas.

Elaboração de projetos de pesquisa envolvendo as diversas espécies de térmitas do cerrado e a orientação de alunos de iniciação científica e mestrado vinculados a esses projetos.

Participação em congressos e publicação de artigos em revistas especializadas, dos resultados obtidos.

Continuar com o tratamento estatístico dos dados, de modo a criar uma matriz de dados confiável para trabalhos de quimiotaxonomia de térmitas.

CURRÍCULO

1 DADOS PESSOAIS

Nome: Neucírio Ricardo de Azevedo

Nascimento: 25/03/1968, Curitiba/PR - Brasil

CPF: 45607311104

Endereço profissional: Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química, Instituto de Química.

Campus Samambaia

Itatiaia

74001970 Goiania, GO - Brasil - Caixa Postal: 131

Telefone: 35211008 Ramal: 202 Fax: 35211197

E-mail: neucirio@quimica.ufg.br

URL da home page: <http://>

Endereço residencial: Rua Caraíbas Qd. 128 Lt 32

Setor Santa Genoveva

74672500 Goiania, GO - Brasil

Telefone: (62) 39412703

E-mail: neucirio@quimica.ufg.br

2 FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2002 - 2006 Doutorado em Ciências Ambientais.

Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiás, Brasil.

Título: Composição química e variabilidade intra-específica dos constituintes voláteis da

secreção de defesa de *Constrictotermes cyphergaster*. Ano de obtenção: 2006.

Orientador: Divino Brandão.

1998 - 2000 Mestrado em Química.

Universidade de Brasília, UNB, Distrito Federal, Brasil.

Título: Estudos das Potencialidades de NbCl₅ como ácido de Lewis em reações de adição de

alil-estranas a aldeídos.. Ano de obtenção: 2000.

Orientador: Carlos Kleber Zago de Andrade.

Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES,

Brasil.

1988 - 1991 Graduação em Farmácia.

Universidade Federal de Goiás, UFG, Goiás, Brasil.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Allured, Illinois, 456 p. 1995.
- ADAMS, R.P. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured, Illinois, 468 p. 2001.
- ALLABY, M. Oxford Dictionary of Ecology, Second ed. Oxford University Press, New York, USA. 1998.
- ARAÚJO, R.L. Catálogo de Isoptera do Novo Mundo. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 92 p. 1977.
- AZEVEDO, N.R., CAMPOS, I.F.P., FERREIRA, H.D., PORTES, T.A., SANTOS, S.C., SERAPHIN, J.C., PAULA, J.R. e FERRI, P.H. Chemical variability in the essential oil of *Hyptis suaveolens*. *Phytochemistry*, **57**: pp. 733-736. 2001.
- BAKER, R., ORGAN, A.J. Isolation of a novel triacetoxyscotrinervitane from the termite *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae). *Tetrahedron Letters*, **25**: pp. 579-580. 1984.
- BAKER, R., WALMSLEY, S. Soldier defense secretions of the South American termites *Cortaritermes silvestri*, *Nasutitermes sp* N.D and *Nasutitermes kemneri*. *Tetrahedron*, **38**: pp. 1899-1910. 1982.
- BARAZANI, O., COHEN, Y., FAIT, A., DIMINSHTEIN, S., DUDAI, N., RAVID, U., PUTIEVSKY, E. e FRIEDMAN, J. Chemotypic differentiation in indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* in Israel. *Bioch. Syst. Ecol.*, **30**: pp. 721-731. 2002.

BARAZANI, O., FAIT, A., COHEN, Y., DIMINSHTTEIN, S., RAVID, U., PUTIEVSKY, E., LEWINSOHN, E., FRIEDMAN, J. Chemical variation among indigenous populations of *Foeniculum vulgare* var. *vulgare* in Israel. *Planta Med.*, **65**: pp. 486-489. 1999.

BENZÉCRI, J.P. L'Analyse des Données: la Taxinomie. Tome 1, Dunod, Paris. 1980.

COLES, H.R., Defensive strategies in the ecology of neotropical termites. Southampton, University of Southampton, 243 p. (Thesis, PhD). 1980.

CONSTANTINO, R. & A.M. COSTA-LEONARDO. A new species of *Constrictotermes* from Central Brazil with Notes on the Mandibular Glands of workers (Isoptera: Termitidae: Nasutitermitinae), *Sociobiology*, **30(2)**: pp. 213-223. 1997.

CUNHA, H.F. & BRANDÃO, D. Invertebrates associated with the Neotropical Termite *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera: Termitidae, Nasutitermitinae). *Sociobiology*, **37**: pp. 593-599. 2000.

CUNHA, H.F. Estudo de colônias de *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae: Nasutitermitinae) no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas – GO. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Goiás. 52 p. 2000.

DOOL, V.D.H., KRATZ, P.D.J.A. Generalization of the Retention Index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. *J. Chromatog.*, **11**: pp. 463-471. 1963.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - **Monitoramento por satélite – Projeto Brasil em Relevo**. Disponível em: <http://www.relevobr.cnpm.embrapa.br/go/index.htm>. Acesso em 15/07/2005.

EVERAERTS, C., PASTEELS, J.M., ROISIN, Y., BONNARD, O., BRAEKMAN, J.C. e DALOZE, D. Morphological and Chemical Criteria in the taxonomy of *Nasutitermes* from Papua New Guinea (Isoptera:Termitidae). *Sociobiology*, **14**: pp. 193 – 206. 1988.

FONTES, E.M.G. Estudos ecológicos sobre o térmita arbóreo *Constrictotermes cyphergaster* em áreas de Cerrado. *Dissertação de Mestrado*, Universidade de Brasília, Brasília, 65 p. 1980.

GODINHO, A.L., LINS, L.V., GONTIJO, T.A., DOMINGOS, D.J. Aspectos da Ecologia de *Constrictotermes cyphergaster* (Termitidae, Nasutitermitinae) em Cerrado, Sete Lagos, MG. *Revta. Bras. Ent.*, **49**: pp. 703-708. 1989.

GOH, S.H., TONG, S.L., THO, Y.P. *Mikrochim. Acta*, **1**: pp. 219. 1982.

KRISHNA, K. Taxonomy, philogeny and distribution of termites, p. 127-152. *In*: K. Krishna & F.M. Weesner (eds.). *Biology of Termites*, **vol. 2**. Academic Press, NY. 1970.

KUBECZKA, K.-H., FORMÁČEK, V. Essential Oils Analysis by Capillary Gas Chromatography and Carbon-13 NMR Spectroscopy. 2nd ed., John Wiley & Sons, NY, 461 p. 2002.

LEBART, L., MORINEAU, A., LAMBERT, T., PLEUVRET, P. SAPD.N version 2.5. Saint Mandé, France. 1994.

MATHEWS, A.G.A. Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 267p. 1977.

MILL, A. Faunal studies on termites (Isoptera) and observations on their ants predations (Hymenoptera: Formicidae) in the Amazon Basin. *Revta. Bras. Ent.*

26(3): pp. 253 – 260. 1982.

MYLES, T.G. Phylogeny and Taxonomy of the Isoptera. XIII Intl. Congress Intl. Unios Goes the Study Social of Insectes. Adelaide, Australia. 1999.

NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. PC version of the NIST/EPA/NIH Mass Spectral Database. U.S. Department of Commerce, Gaithersburg, MD. 1998.

NELSON, L.J., COOL, L.G., FORSCHLER, B.T. and HAVERTY, M.I. Correspondence of soldier defense secretions mixtures with cuticular hydrocarbon phenotypes for chemotaxonomy of the termite genus *Reticulitermes* in North America. *J. Chem. Ecol.*, **27(7)**: pp. 1449 – 1479. 2001.
pp. 1921-1930. 1982.

PRESTWICH, G.D. Chemical Defense and self-defense. *Tetrahedron*, **38(13)**: 1982.

PRESTWICH, G.D. Defense mechanisms of termites. *Annual Review of Entomology*, **29**: pp. 201-232. 1984.

PRESTWICH, G.D. Interspecific variation in the defense secretions of *Nasutitermes* soldiers. *Bioch. Syst. Ecol.*, **7**: pp. 211-221. 1979.

PRESTWICH, G.D., GUSCH, T.J., BENTLEY, B.L., THORNE, B.L. Chemical variation in defensive secretions of four species of *Nasutitermes*. *Bioch. Syst. Ecol.*, **13**: pp. 329-336. 1985.

PRESTWICH, G.D., JONES, R.W., COLLINS, M.S. Terpene biosynthesis by nasute termite soldiers (Isoptera: Nasutitermitinae). *Insect Biochem.*, **11(3)**: pp. 331-336. 1981.

- REINHARD, J. and CLÉMENT, J.L. Alarm Reaction of European *Reticulitermes* Termites to Soldier Head Capsule Volatiles (Isoptera, Rhinotermitidae). *J. Insect Behav.* **15(1)**: pp. 95 – 107. 2002.
- ROISIN, Y., BONNARD, O., EVERAERTS, C. and PASTEELS, J.M. The monoterpenoid fraction of the defensive secretion in Nasutitermitinae from Papua New Guinea. *Bioch. Syst. Ecol.*, **16(4)**: pp. 437-444. 1988.
- ROSENGAUS, R.B., LEFEBVRE, M.L. and TRANIELLO, J.F.A. Inhibition of fungal spore germination by Nasutitermes: evidence for a possible antiseptic role of soldier defensive secretions. *J. Chem. Ecol.*, **26**: pp. 21 – 39. 2000.
- SHELLMAN-REEVE, J.S. The spectrum of eusociality in termites, p. 52-93, In: J.C. Choe & B.J. Crespi (eds.). *The Evolution of Social Behaviour in Insects and Arachnids*. Cambridge University Press, England. 1997.
- SILVA, L.O. Levantamento florístico e associação de ninhos de *Constrictotermes cyphergaster* (Isoptera, Termitidae) com espécies vegetais hospedeiras no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas – GO. *Dissertação de Mestrado*, Universidade Federal de Goiás. 54 p. 2000.
- SILVA, S.C. Manual de Análises Químicas de Solos, Plantas e Fertilizantes. 1ª ed., Embrapa, Brasília. 1999.
- SYSTAT SOFTWARE Inc. (SSI), Richmond, California, USA. 2000.
- TROWELL S.C., ZHAO, C., RICKARDS, R.W. Antibiotics from Australian terrestrial invertebrates. Part 1: Antibacterial trinervitadienes from the termite *Nasutitermes triodiae*. *Tetrahedron*, **60**: pp. 10753-10759. 2004.
- TUKEY, J. Bias and confidence in not quite large samples, *Ann. Math. Statist.*, **29**: pp. 614. 1958.

URBAN ENTOMOLOGY PROGRAM CENTRE FOR URBAN AND COMMUNITY STUDIES. University of Toronto. Toronto, Ontario, Canada. <<http://www.utoronto.ca/forest/termite/termite.htm>>. Acesso em 22/08/2005.

VRKOC, J., KRECEK, J. and HRDY, I. Monoterpenic alarm pheromones in two *Nasutitermes* species. *Acta Ent. Bohemoslov.*, **75**: pp. 1-8. 1978

WARD, J.H. Hierarchical grouping to optimize an objective function. *J. Am. Stat. Assoc.*, **58**: pp. 238–24. 1963

WILSON, E.O. *The Insect Societies*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, 548p. 1971.

WOLD, A. and ERIKSSON, L. Statistical validation of QSAR results. *In*: Waterbeemd, H. (Ed.), *Chemometric Methods in Molecular Design*, vol. 2. VCH, Weinheim, Germany, pp. 309-318. 1995.