



Identificación de protistas simbiotes en el tracto digestivo de termitas (Blattodea: Kalotermitidae) responsables de la degradación de los compuestos celulósicos.

Sofía del Mar Algamis Virasoro

**Universidad Nacional del Nordeste  
Facultad de Ciencias Exactas, Naturales y Agrimensura**



# **TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN**

***Identificación de protistas simbiotes en el tracto digestivo de termitas (Blattodea: Kalotermitidae) responsables de la degradación de compuestos celulósicos.***

**Licenciatura en Ciencias Biológicas**

**Autor: Sofía del Mar Algamis Virasoro**

**Director: Clara Etcheverry**

**Co-directora: Juan Manuel Coronel**

**Laboratorio de Biología de los Invertebrados y Protistas (FaCENA)**

**2022**

# AGRADECIMIENTOS

Al momento de agradecer tantos años de dedicación y esfuerzo la palabra “gracias” se queda corta aun así no puedo dejar de decírselo a aquellas personas que me acompañaron en este camino de aprendizajes y resiliencias.

Gracias a mi directora y codirector, personas que fueron de suma importancia en la realización de este trabajo, que a pesar de sus ocupaciones siempre estaban para responder a mis consultas y guiarme en el proceso.

Gracias a los chicos del laboratorio, Flor, Guille e Iva por su compañía, consejos y contención en esos momentos en el que uno sólo necesita un empujoncito para seguir.

Gracias a mi familia, a mi mamá que sin su esfuerzo de toda la vida no hubiera llegado a este momento, por su apoyo incondicional hacia mí y hacia la profesión que elegí, por enseñarme que rendirse nunca es una opción.

Gracias a los compañeros que me dio la universidad y que hoy muy felizmente puedo llamar amigos, Cami, Guada, Joaquín, Tomi y Mauri. Gracias a ellos entendí que los logros individuales pueden convertirse en logros compartidos si estas rodeado de las personas correctas. Y especialmente a Cami y Guada, personas extraordinarias con las cuales a lo largo de estos años forme una conexión única y genuina que voy a llevar por siempre conmigo.

Gracias a mis amigas por la paciencia, Anto y Kathi por apoyarme y alentarme siempre que lo necesitaba. Por nunca dejar de creer en mí.

Desde el fondo de mi corazón muchas gracias por acompañarme en este camino.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	6
<b>OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES</b> .....	7
Objetivo general .....	7
Objetivos particulares .....	7
<b>HIPÓTESIS DEL TRABAJO Y PREDICCIONES</b> .....	7
Predicción 1 .....	7
Predicción 2 .....	7
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	8
<b>RESULTADOS</b> .....	10
<b>DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN</b> .....	23
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	27

# ÍNDICE DE TABLAS

**TABLA 1.** Matriz de presencia y ausencia de géneros y morfotipos de endosimbiontes en los ejemplares de *Cryptotermes* y *Rugitermes* analizados.....11

**TABLA 2.** Frecuencia de los de géneros y morfotipos de endosimbiontes en los ejemplares de *Cryptotermes* y *Rugitermes* analizados.....12

# ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ejemplares de soldados.....	9
<b>Figura 2.</b> <i>Calonympha</i> en el tracto digestivo de <i>Cryptotermes</i> .....	9
<b>Figura 3.</b> Morfotipo 1 en el tracto digestivo de <i>Cryptotermes</i> .....	10
<b>Figura 4.</b> Morfotipo 2 en el tracto digestivo de <i>Cryptotermes</i> .....	10
<b>Figura 5.</b> <i>Calonympha</i> en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	11
<b>Figura 6.</b> <i>Trichonympha</i> en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	11
<b>Figura 7.</b> Morfotipo 1 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	12
<b>Figura 8.</b> Morfotipo 2 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	12
<b>Figura 9.</b> Morfotipo 3 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	13
<b>Figura 10.</b> Morfotipo 4 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	13
<b>Figura 11.</b> Morfotipo 5 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	14
<b>Figura 12.</b> Morfotipo 6 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	14
<b>Figura 13.</b> Morfotipo 7 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	15
<b>Figura 14.</b> Morfotipo 8 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	15
<b>Figura 15.</b> Morfotipo 9 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	16
<b>Figura 16.</b> Morfotipo 10 en el tracto digestivo de <i>Rugitermes</i> .....	16
<b>Figura 17.</b> Riqueza específica de endosimbiontes observadas y estimadas para las especies de <i>Rugitermes</i> colectadas en la localidad de Mercedes (Corrientes) .....	20
<b>Figura 18.</b> Riqueza específica de endosimbiontes observadas y estimadas para las especies de <i>Cryptotermes</i> pertenecientes al bioterio del Laboratorio de Biología de los Invertebrados .....	20
<b>Figura 19.</b> Comparación de especies de endosimbiontes estimadas para <i>Cryptotermes</i> y <i>Rugitermes</i> .....	21
<b>Figura 20.</b> Análisis de agrupamiento con método de Ward's e índice euclidiano obtenido de los protozoos encontrados en las termitas analizadas.....	22
<b>Figura 21.</b> Escalamiento multidimensional no métrico de ambos géneros de Kalotermitidae.....	22

# RESUMEN

Las termitas provocan cambios de considerable magnitud en el suelo por las actividades de alimentación y nidificación, entre los cuales se encuentran aumento en la retención de agua; mantenimiento y mejora de la porosidad del suelo; colaboran con la fragmentación y mezcla de la materia orgánica con el suelo mineral y producen alteraciones físicas en el perfil y en la textura del suelo, entre otros. La biota intestinal de las obreras es responsable de los procesos de degradación de restos vegetales en los que participan las termitas. El conocimiento de este aspecto de la biología de las termitas es de gran importancia ya que diversas investigaciones han mostrado que algunos de los componentes de esta biota serían potencialmente útiles para la obtención de biocombustibles. Sin embargo, es un aspecto que hasta el momento se desconoce para la termitofauna argentina. Entre los integrantes de esta biota intestinal se encuentran protistas de diferentes grupos taxonómicos y una importante diversidad de procariontes. Los protistas son abundantes, particularmente en las llamadas “termitas inferiores” que incluyen a familias como Kalotermitidae, Stolotermitidae y Hodotermitidae, entre otras.

El presente plan de trabajo tiene como objetivo analizar la diversidad de protistas que integran la biota intestinal de diferentes géneros de la familia Kalotermitidae del nordeste argentino, procedentes de ambientes naturales y urbanos. Para esto, se determinó la diversidad alfa a través de la riqueza (S) y el estimador no paramétrico Jackknife 1 para cada género de termita. Las similitudes entre las comunidades de protistas se midieron con los índices de Jaccard y del Coeficiente de similitud de Sørensen y la posible influencia de factores ambientales se analizó a través de técnicas de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) y análisis de agrupamiento mediante el método de Ward's con un índice de similitud euclidiano. La información disponible sobre esta temática para nuestro país es sumamente escasa, aspecto que destaca aún más la importancia científica que tendrá la realización de este estudio.

# INTRODUCCIÓN

Las termitas provocan cambios de considerable magnitud en el suelo por las actividades de alimentación y nidificación, y por tal motivo reciben el nombre de “ingenieros de ecosistemas” (Store y Eggleton, 1992; Brussaard *et al.* 1997; Lawton *et al.* 1998). Entre los efectos que provocan se pueden citar, aumento en la retención de agua; mantenimiento y mejora de la porosidad del suelo; colaboran con la fragmentación y mezcla de la materia orgánica con el suelo mineral que producen alteraciones físicas en el perfil y en la textura del suelo. Asimismo, originan modificaciones en la vegetación por consumo directo de la misma o indirectamente en su crecimiento, por las variaciones que ocasionan a las propiedades del suelo (Alves *et al.* 2011).

En relación a la biota intestinal, los trabajos de Bignel (2000) y Breznak (2000) han recopilado gran parte de la información disponible hasta esa fecha sobre la composición endosimbiótica de especies de termitas pertenecientes a diferentes grupos tróficos. Scharf y Tartar (2008) ponen de manifiesto que los procesos de degradación del material lignocelulósico que ocurre en el interior del tubo digestivo es un proceso sinérgico donde intervienen complejos enzimáticos aportados tanto por las células de la termita como por los diferentes integrantes de la biota intestinal. Por otra parte, Albuquerque Lima *et al.* (2014) determinan que hay diferencias en los componentes de esa biota entre las diferentes castas que integran la colonia de termitas, y Tarayre *et al.* (2015) demuestran que los cambios en la dieta de *Reticulitermes flavipes* Kollar provocan cambios en las comunidades de microbios intestinales. En termitas neotropicales Lucena *et al.* (2011) demuestran que hay variaciones en la actividad hidrolítica de enzimas extraídas de diferentes especies de termitas pertenecientes a diferentes grupos tróficos. De acuerdo con Ozbayram *et al.* (2019) la eficiencia de digestión de biomasa vegetal en termitas es superior a la observada en el ganado vacuno, y mucho mayor a la obtenida en biodigestores artificiales, de ahí el interés por estudiar la biota intestinal de las termitas.

En relación a protistas simbioses su presencia es constante en las llamadas “termitas inferiores” que incluyen a Kalotermitidae, Stolotermitidae y Hodotermitidae entre otras, con un claro predominio de flagelados de los grupos Oxymonadida, Trichomonadida e Hypermastigida (Zhou *et al.* 2019) aunque también se encuentran ciliados, amebozoos y apicomplexos (Van Voerden *et al.* 2020).

En relación a la termitofauna Argentina fueron citadas las familias Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Stolotermitidae y Termitidae, alcanzando alrededor de 100 especies descritas para nuestro país (Torales y Fontes 2008; Torales *et al.* 2008; Godoy *et al.* 2015). Sin embargo, los estudios sobre esta temática son sumamente escasos. Para Argentina las únicas publicaciones existentes corresponden a Guerrero *et al.* (2015) y Romero Victorica *et al.* (2020) que analizan la diversidad de bacterias y de actividad enzimática de dos especies de termitas *Cortaritermes fulviceps* Silvestri y *Nasutitermes aquilinus* Holmgren encontrando importantes diferencias entre ambas, y Etcheverry *et al.* (2018) mencionan el hallazgo, por primera vez, de los géneros de flagelados *Calonympha* y *Trichonympha* en *Rugitermes rugosus* Hagen.



# OBJETIVOS GENERALES Y PARTICULARES

## Objetivo general

- Analizar la diversidad de protistas que integran la biota intestinal de diferentes géneros de la familia Kalotermitidae en distintos ambientes del nordeste argentino.

## Objetivos particulares

- Identificar los géneros de protistas presentes en el intestino de termitas de nuestra región.
- Comparar la diversidad de protistas entre termitas de diferentes géneros.

# HIPÓTESIS DEL TRABAJO Y PREDICCIONES

La biota intestinal de las termitas depende de muchos factores, entre ellos la ubicación taxonómica de la especie hospedadora, el ambiente en el que viven y el sustrato del cual se alimentan.

- **Predicción 1:** Al comparar la composición de las comunidades de protistas simbiotes entre géneros de Kalotermitidae se encontrarán diferencias entre ellos.
- **Predicción 2:** En termitas plagas de ambientes urbanos que se alimentan de madera industrializada, la diversidad de protistas simbiotes será menor que en las que proceden de ambientes naturales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Para localizar las colonias de Kalotermitidos se revisó el interior de trozos de madera seca, ya que es el sitio donde se alimentan y viven este grupo de termitas, aunque ocasionalmente pueden encontrarse en madera viva (Eggleton *et al.* 2000). El muestreo se realizó en la localidad de Mariano I. Loza (29°22'39"S 58°11'38"O) del Departamento Mercedes (Corrientes, Argentina), obteniéndose un total de 3 muestras. El protocolo estandarizado que se aplicó para este muestreo de termitas fue el de Jones y Eggleton (2000), el cual consistió en una transecta de 100 metros de largo por 2 de ancho dividida en 20 secciones consecutivas de 2x5 metros cada una, aplicándose un esfuerzo de colecta de una hora hombre por sección. En cada sección se examinaron troncos y ramas de árboles hasta una altura de 2 m, las muestras aquí colectadas fueron llevadas a laboratorio. Por su parte, las muestras provenientes de ambientes urbanos fueron obtenidas del bioterio del Laboratorio de Biología de los Invertebrados y Protistas, cuyas las maderas en donde se encontraban las termitas provenían de construcciones (machimbre) con signos de ataques de insectos xilófagos. Una vez obtenidas las colonias, estas fueron mantenidas vivas en el interior de contenedores plásticos o frascos de vidrio de boca ancha, de tamaño apropiado (aproximadamente un litro), y alimentadas con la misma madera en las que fueron encontradas. Las termitas fueron identificadas a nivel de género con claves disponibles tales como las de Bacchus (1986), Constantino (2002) y Scheffrhan (2019).

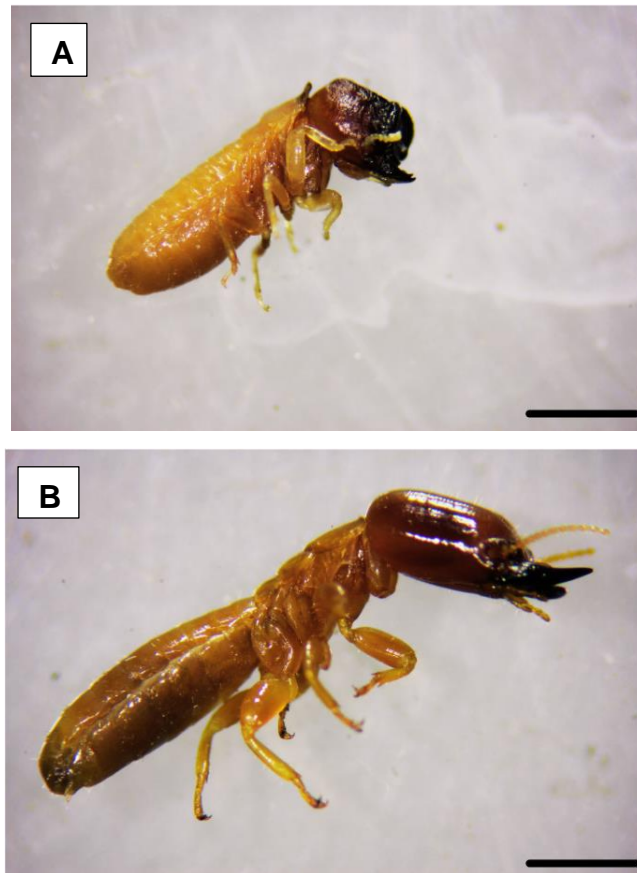
Para la observación de los protozoos simbioses se procedió a la disección del tubo digestivo de ninfas y pseudoergates, con un aproximado de 20 individuos analizados de cada muestra. La disección de los intestinos se realizó con la ayuda de pinzas y agujas de disección bajo lupa binocular. Una vez separado el tubo digestivo se procedió a macerarlo sobre un portaobjeto con una gota de solución isotónica. Los restos del intestino fueron retirados dejando solo el contenido, diluido con la solución isotónica, para su observación y fotografiado en microscopio óptico. La identificación de los géneros de protozoos presentes se realizó con las descripciones de bibliografía específica como las de Brugerolle y Lee (2001 a y b), Brugerolle y Bordereau (2004) & Radek *et al.* (2019) entre otros. Los protozoos que no pudieron ser identificados fueron asignados como Morfotipos. Para los análisis se consideraron la matriz de presencia y ausencia de cada género o Morfotipo de protozoo encontrado en cada ejemplar de termita analizado. La abundancia se consideró como la frecuencia de cada protozoo en el total de individuos revisados.

Con el programa EstimateS (Colwell *et al.* 2014) se obtuvo la riqueza específica (S) para cada morfotipo de endosimbionte y el estimador de diversidad de protozoos Jackknife 1 (Moreno 2001) en ambos géneros de termitas. Las diferencias en riqueza entre géneros de termitas se alcanzaron mediante el análisis de la varianza no paramétrico de Kruskal Wallis utilizando el software Past 4.03 (Hammer *et al.* 2001). Las similitudes entre las comunidades de protistas se midieron con los índices de Jaccard, siendo el intervalo de valores para este índice de 0 cuando no hay especies compartidas entre ambos sitios, hasta 1 cuando los dos sitios tienen la misma composición de especies, y del Coeficiente de similitud de Sørensen, el cual relaciona el número de especies en común con la media aritmética de las especies en ambos géneros y cuyos valores varían entre 0 y 1, en donde 0 no

presentan ninguna especie en común y 1 en donde presentan el total de las especies en común. La posible influencia de factores ambientales se analizó a través de técnicas de escalamiento multidimensional no métrico (NMDS) y análisis de agrupamiento con el método de Ward's y un índice de similitud euclidiano.

## RESULTADOS

Las termitas procedentes de ambientes urbanos pudieron identificarse como pertenecientes al género *Cryptotermes* (Fig. 1, A) mientras que las provenientes de ambientes naturales al género *Rugitermes* (Fig. 1, B).



**Fig. 1.** Ejemplares de soldados. **(A)** *Cryptotermes*; **(B)** *Rugitermes*. Escala: 1 mm.

Al analizar la biota intestinal de los diferentes individuos de Kalotermitidos se registró un total de 12 morfotipos de endosimbiontes (Tabla 1). La totalidad de estos morfotipos fueron hallados en *Rugitermes*, mientras que en *Cryptotermes* sólo se encontraron 3 de los 12 morfotipos. Asimismo, los endosimbiontes registrados con más frecuencia para los individuos de *Rugitermes* y para los de *Cryptotermes* han sido *Calonympha* y el Morfotipo 1 (Tabla 2). Si bien en el presente trabajo no se cuantifica la abundancia de cada protista, pudo observarse una marcada dominancia de *Calonympha* y *Trichonympha* en ambos géneros de termitas mientras que los restantes morfotipos presentaban una abundancia notoriamente menor.

**TABLA 1.** Matriz de presencia y ausencia de géneros y morfotipos de endosimbiontes en los ejemplares de *Cryptotermes* y *Rugitermes* analizados.

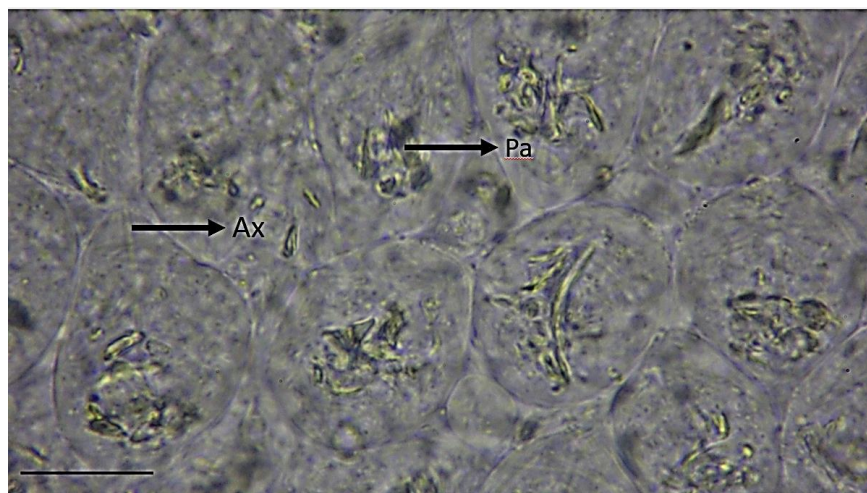
Termitas	Morfotipos										Riqueza		
	<i>Calonympha</i>	<i>Trichonympha</i>	1	2	3	4	5	6	7	8		9	10
<i>Cryptotermes 1</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Cryptotermes 2</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Cryptotermes 3</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Cryptotermes 4</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>3</b>
<i>Cryptotermes 5</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>3</b>
<i>Cryptotermes 6</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<i>Cryptotermes 7</i>	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	<b>1</b>
<i>Rugitermes 1</i>	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	<b>4</b>
<i>Rugitermes 2</i>	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	<b>4</b>
<i>Rugitermes 3</i>	1	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	<b>5</b>
<i>Rugitermes 4</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	<b>6</b>
<i>Rugitermes 5</i>	1	0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	0	<b>6</b>

**TABLA 2.** Frecuencia de Morfotipos en Kalotermitidae.

	<i>Cryptotermes</i>	<i>Rugitermes</i>	Total
<i>Calonympha</i>	3	5	8
<i>Trichonympha</i>	0	3	3
Morfotipo 1	3	4	7
Morfotipo 2	2	3	5
Morfotipo 3	0	1	1
Morfotipo 4	0	2	2
Morfotipo 5	0	2	2
Morfotipo 6	0	2	2
Morfotipo 7	0	1	1
Morfotipo 8	0	2	2
Morfotipo 9	0	1	1
Morfotipo 10	0	1	1
<b>TOTAL</b>	3	12	

A continuación, se detalla la descripción de cada género de endosimbionte hallado en el tracto digestivo comenzando así por *Cryptotermes* en el cual se ha identificado al género *Calonympha* (Fig. 2) y otros dos protistas nombrados aquí como Morfotipo 1 (Fig. 3) y Morfotipo 2 (Fig. 4). Por consiguiente, se encuentran las descripciones de los morfotipos registrados para el género *Rugitermes*.

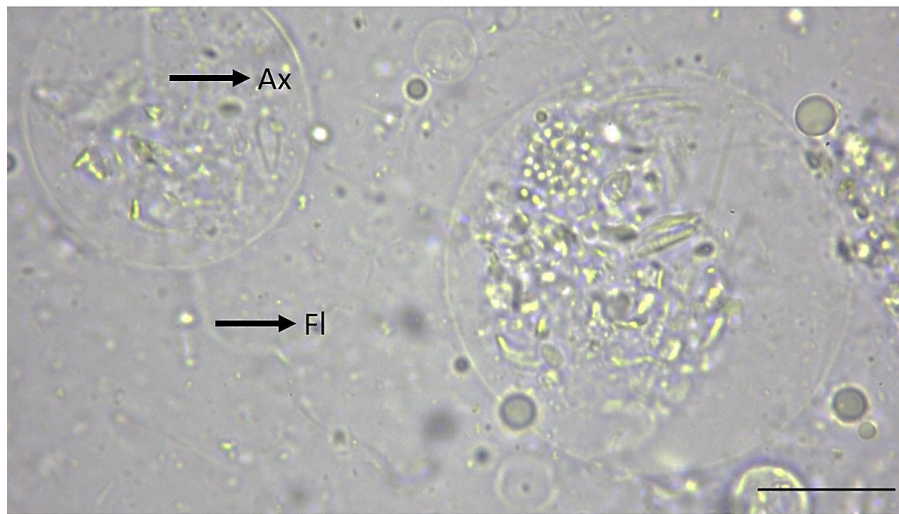
- ***Calonympha*.** Flagelado multinucleado cuyos flagelos se encuentran dirigidos hacia la región anterior y los axostilos se pueden identificar en la región central formando un haz, los cuales se dirigen hasta la parte posterior del individuo.



**Fig. 2.** *Calonympha* en el tracto digestivo de *Cryptotermes*. (Ax: axostilo; Pa: partículas de alimento). Escala: 100  $\mu$ m.

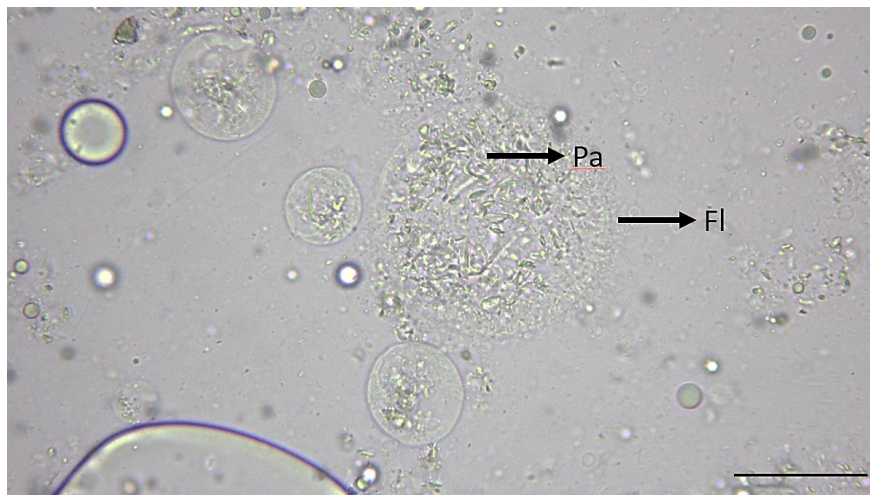
- **Morfotipo 1.** Presencia de un axostilo en la parte central del organismo, atravesando desde la región anterior hasta la posterior de la célula. Por otro lado, es notable la presencia de al

menos un flagelo de longitud considerable, el cual es más largo que la longitud total del protista.



**Fig. 3.** Morfotipo 1 en el tracto digestivo de *Cryptotermes*. (Ax: axostilo; Fl: flagelo). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .

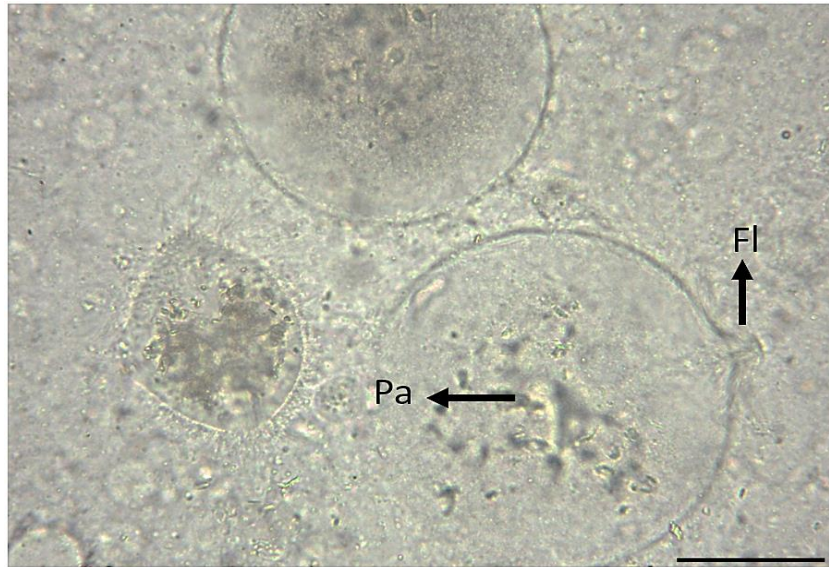
- **Morfotipo 2.** Presenta una forma redondeada bien definida, de mayor tamaño en relación a los otros individuos diferenciados en la muestra y sobre la mayor parte de su superficie se extienden numerosos flagelos. En el interior del microorganismo se pueden diferenciar pequeñas partículas que podrían deberse a restos de alimentos.



**Fig. 4.** Morfotipo 2 en el tracto digestivo de *Cryptotermes*. (Pa: partículas de alimento; Fl: flagelo). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .

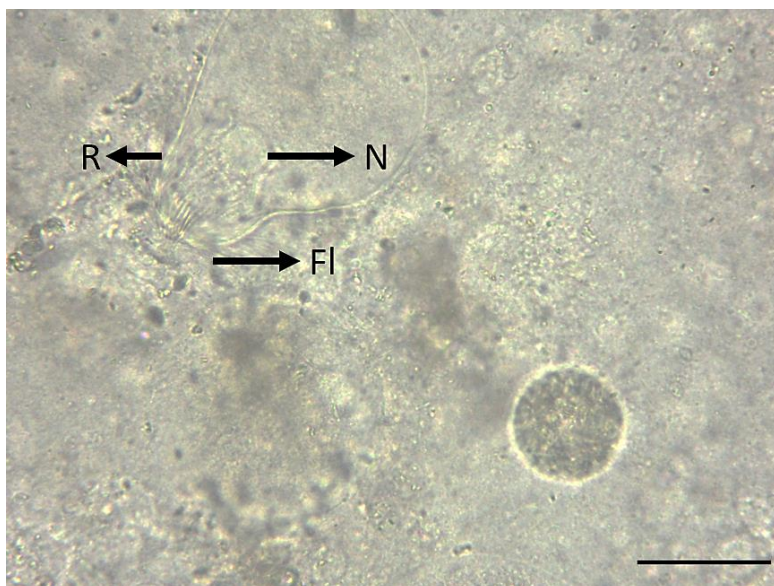
En el género *Rugitermes* no sólo se identificó a *Calonympha* (Fig. 5) sino que también a *Trichonympha* (Fig. 6) además de otros 10 Morfotipos (Fig. 7 - 15).

- **Calonympha.** En el caso de estos endosimbiontes los axostilos no son tan evidentes como en *Cryptotermes*, sin embargo, al estar más dispersos se logra observar con claridad la parte anterior más aguzada que porta los flagelos, y la sección posterior redondeada.



**Fig. 5.** *Calonympha* en tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelos; Pa: partículas alimenticias).  
Escala: 100  $\mu$ m.

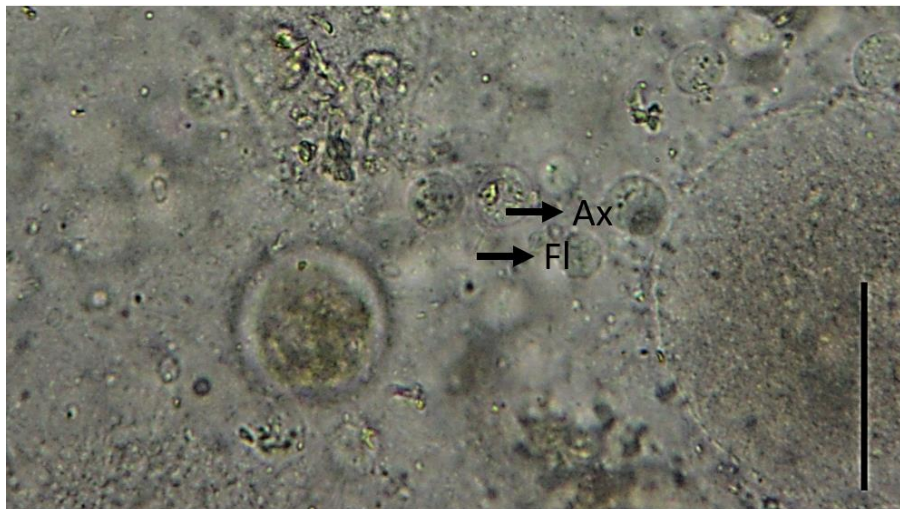
- **Trichonympha.** Presenta un rostro alargado a diferencia de *Calonympha*, con un evidente núcleo ubicado en el centro anterior del su cuerpo redondeado. Alrededor del rostro se insertan sus numerosos flagelos.



**Fig. 6.** *Trichonympha* en tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelos; R: rostrum; N: núcleo). Escala: 100  $\mu$ m.

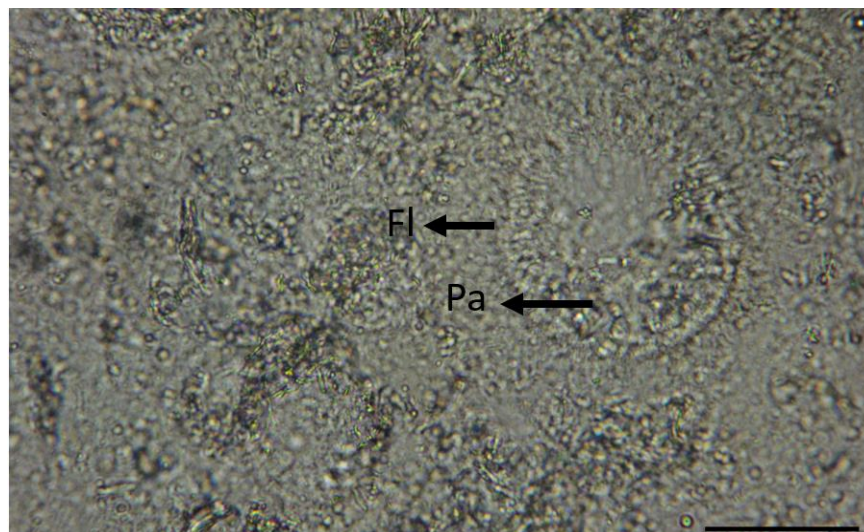
- **Morfotipo 1.** Axostilo central, atravesando desde la región anterior hasta la posterior. Al menos un flagelo de longitud considerable (más largo que la longitud total del protista).





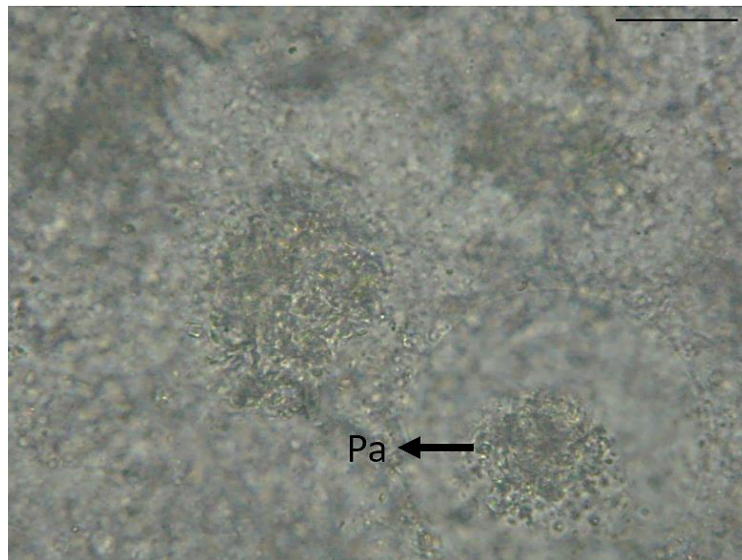
**Fig. 7.** Morfotipo 1 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Ax: axostilo; Fl: flagelo). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .

- **Morfotipo 2.** Forma redondeada bien definida, de tamaño considerable en relación a los otros individuos diferenciados en la muestra y sobre su superficie se extienden numerosos flagelos. En el interior del microorganismo se pueden diferenciar gran cantidad de pequeñas partículas alimenticias.



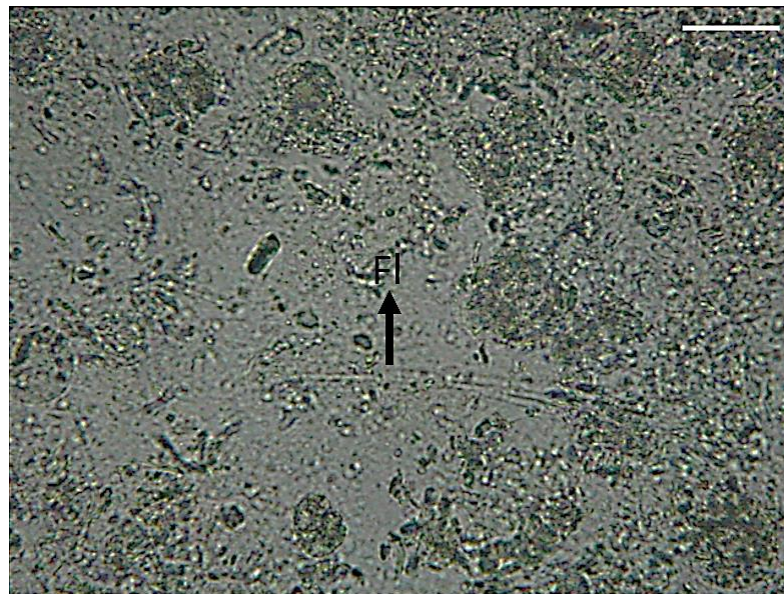
**Fig. 8.** Morfotipo 2 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelo). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .

- **Morfotipo 3.** Forma redondeada bien definida diferenciándose del Morfotipo 2 por un mayor tamaño en comparación a este y por la presencia de partículas de alimentos ubicadas únicamente en el centro del protista.



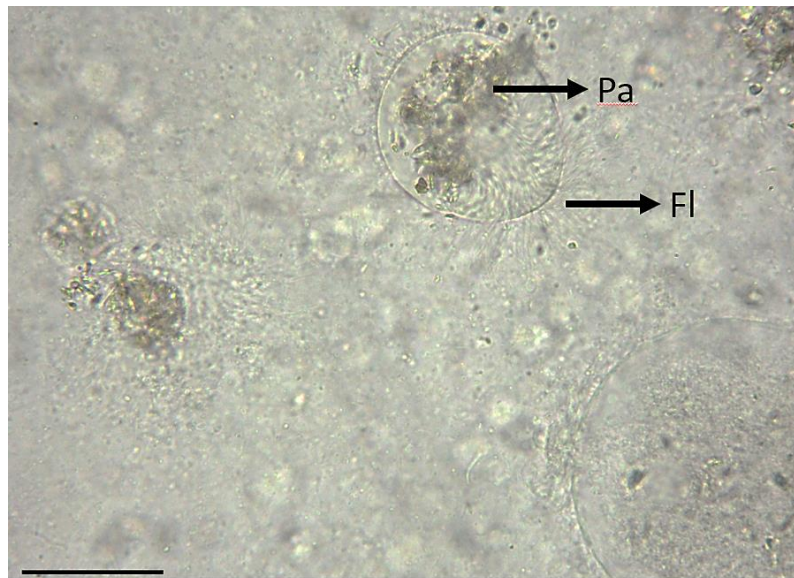
**Fig. 9.** Morfotipo 3 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Pa: partículas de alimento). Escala: 100  $\mu\text{m}$ .

- **Morfotipo 4.** Largo flagelo, de mayor longitud que el total del protista con una forma aún indefinida.



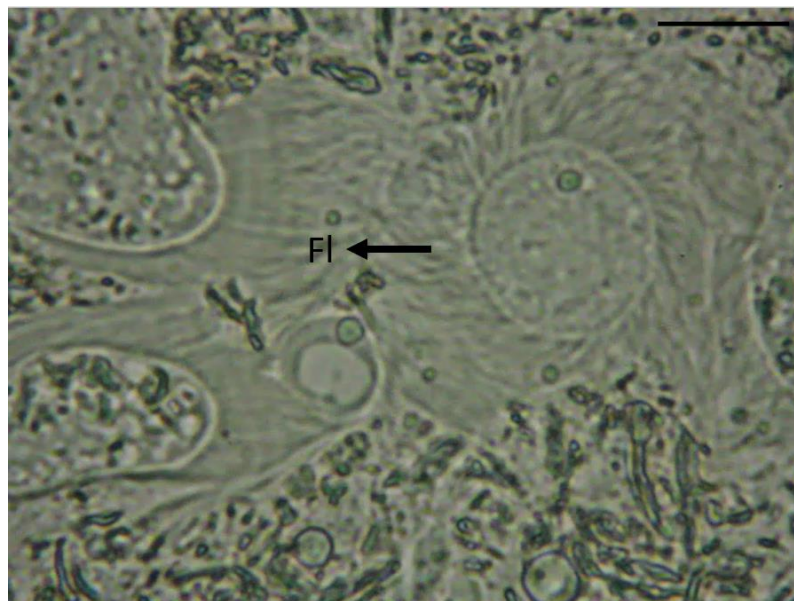
**Fig. 10.** Morfotipo 4 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelo). Escala: 30  $\mu\text{m}$ .

- **Morfotipo 5.** Forma asimétrica con un extremo anterior más aguzado en el cual se ubican numerosos flagelos de mayor longitud comparados con los que se encuentran en la parte posterior de su cuerpo, en el interior partículas alimento en digestión.



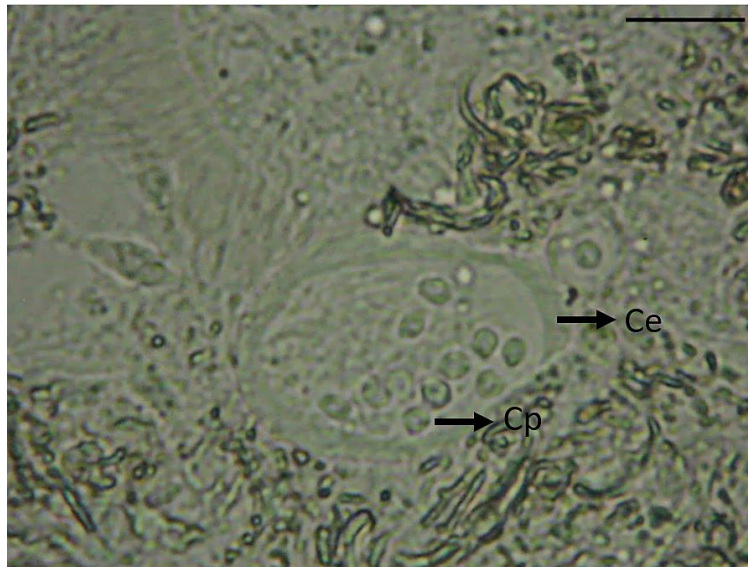
**Fig. 11.** Morfotipo 5 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Pa: partículas de alimento; Fl: flagelo). Escala: 100  $\mu$ m.

- **Morfotipo 6.** Forma redondeada bien definida con organelas locomotoras en toda su superficie, difiriendo con el Morfotipo 2 por la proporción entre la longitud de sus flagelos y el tamaño total del protista (mayor que en el caso del segundo morfotipo).



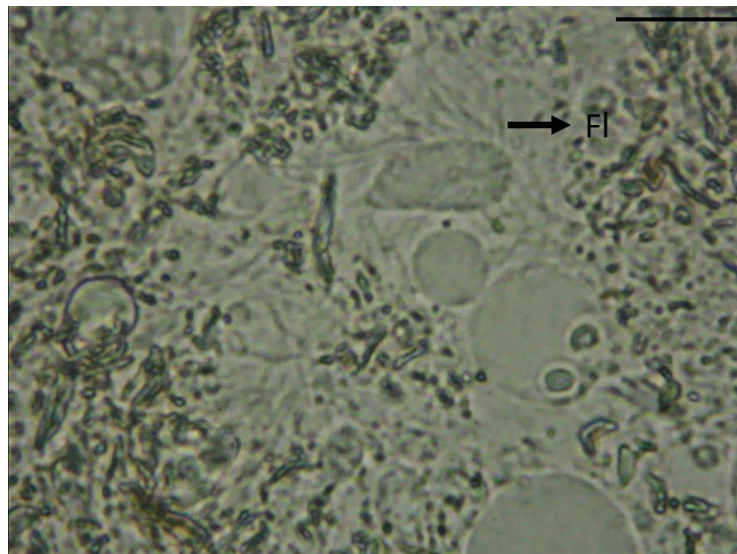
**Fig. 12.** Morfotipo 6 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelo). Escala: 30  $\mu$ m.

- **Morfotipo 7.** Forma ovalada con una capa externa bien definida y en su interior posee pequeños corpúsculos redondeados.



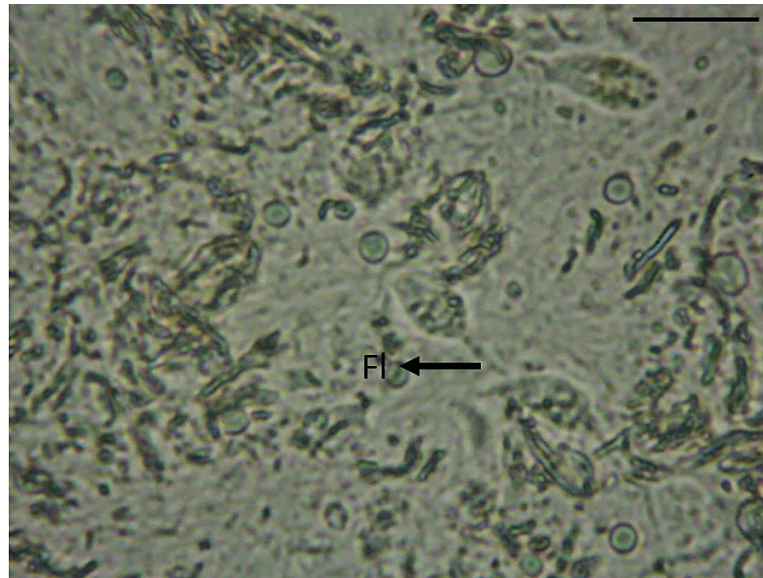
**Fig. 13.** Morfotipo 7 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Cp: corpúsculos; Ce: capa externa). Escala: 30  $\mu$ m.

- **Morfotipo 8.** Forma de gota, con una parte anterior redondeada y una posterior agudizada bien definida mientras que en toda su superficie existen largos flagelos.



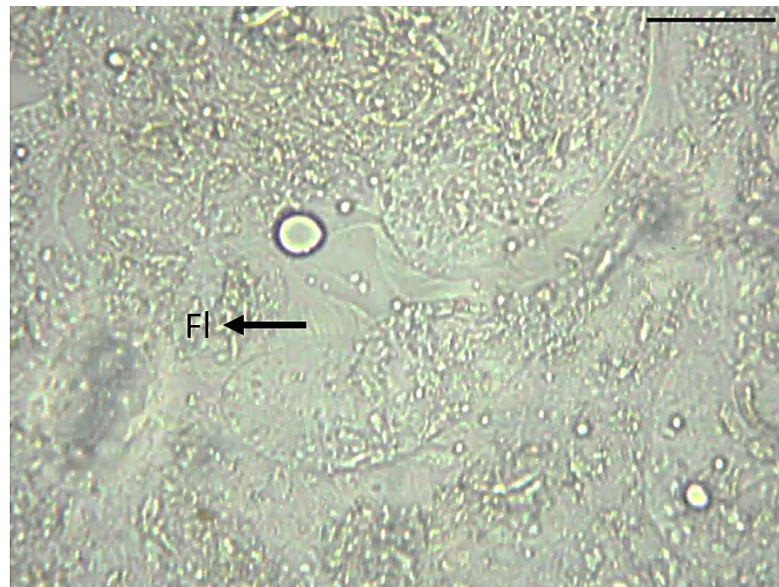
**Fig. 14.** Morfotipo 8 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelo). Escala: 30  $\mu$ m.

- **Morfotipo 9.** Ambos extremos aguzados, en uno de estos presenta un largo flagelo diferenciándose del Morfotipo 4 por la proporción en cuanto al tamaño de su cuerpo.



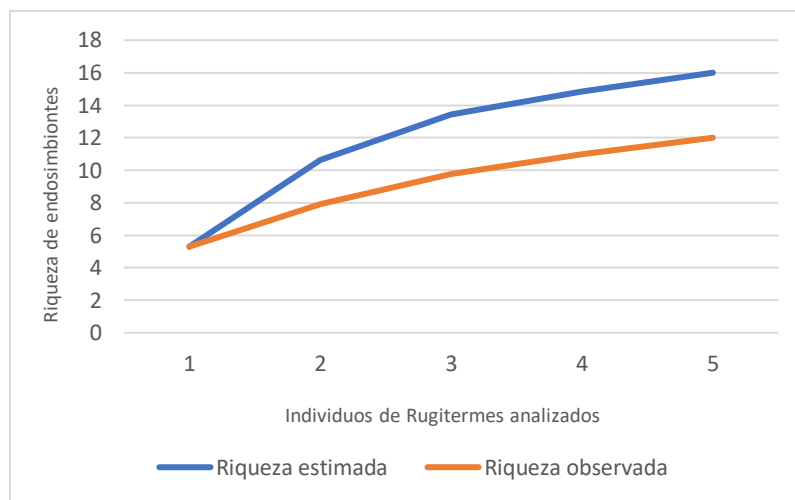
**Fig. 15.** Morfotipo 9 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelo). Escala: 30  $\mu$ m.

- **Morfotipo 10.** Sin forma definida, más bien irregular. En toda su superficie se observan largos y abundantes flagelos.

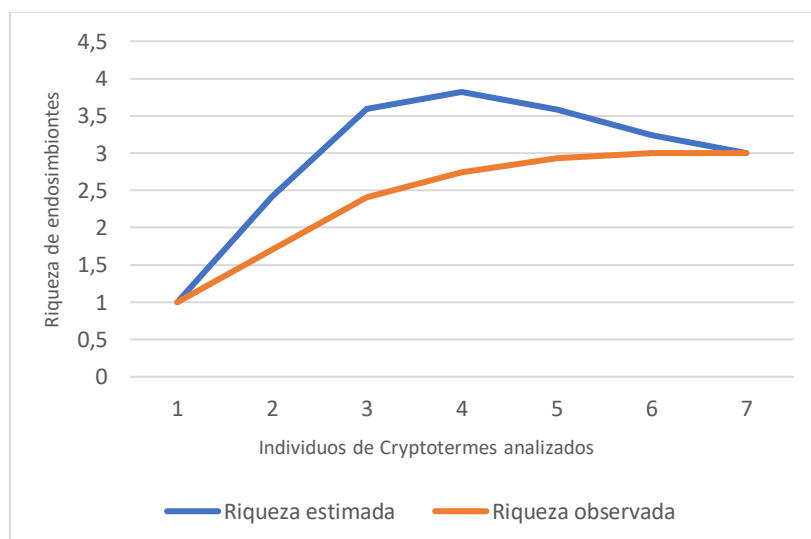


**Fig. 16.** Morfotipo 10 en el tracto digestivo de *Rugitermes*. (Fl: flagelo). Escala: 30  $\mu$ m.

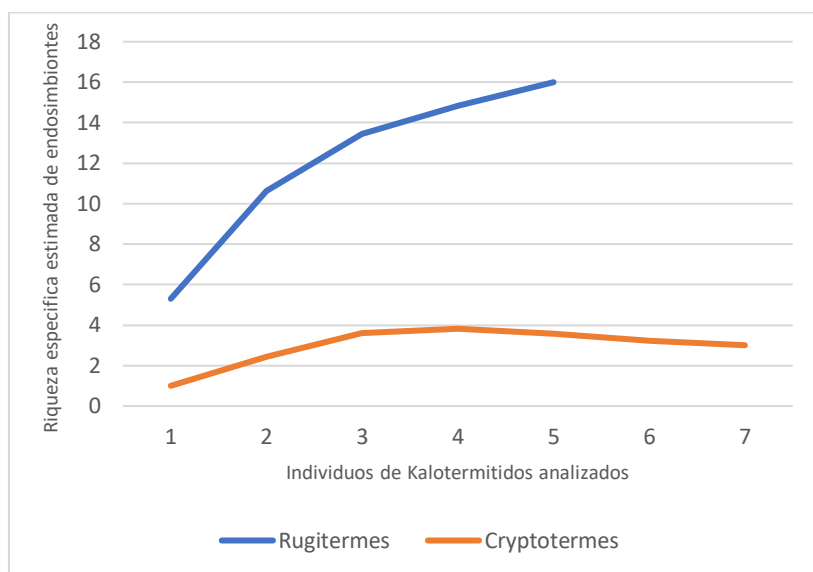
Con respecto a la diversidad de protistas en ambos géneros de termitas se observó que para el caso de *Rugitermes* (Fig. 17), se registró una riqueza específica de protistas, mientras que el estimador alcanzó un valor de 16, es decir, se logró observar un 75% de especies estimadas para *Rugitermes*. Sin embargo, para *Cryptotermes* (Fig. 18) el estimador arrojó un valor de 3, indicando así que para este género se observó un 100% de los endosimbiontes estimados. Además, se comparó el resultado de los estimadores Jackknife 1 de ambos géneros (Fig. 19) viendo así que la curva de *Cryptotermes* llega a un límite donde se estabiliza, lo cual indica que por más que se sigan analizando individuos de dicho género ya se ha llegado a un límite de riqueza de especies. Sin embargo, en el caso de *Rugitermes* ocurre lo contrario, la curva no se asintotiza, aumentando progresivamente lo que indica la posibilidad de hallar una riqueza específica mayor en el tracto digestivo de este género.



**Fig. 17.** Riqueza específica de endosimbiontes observadas y estimadas para las especies de *Rugitermes* colectadas en la localidad de Mercedes (Corrientes).



**Fig. 18.** Riqueza específica de endosimbiontes observadas y estimadas para las especies de *Cryptotermes* pertenecientes al bioterio del Laboratorio de Biología de los Invertebrados.

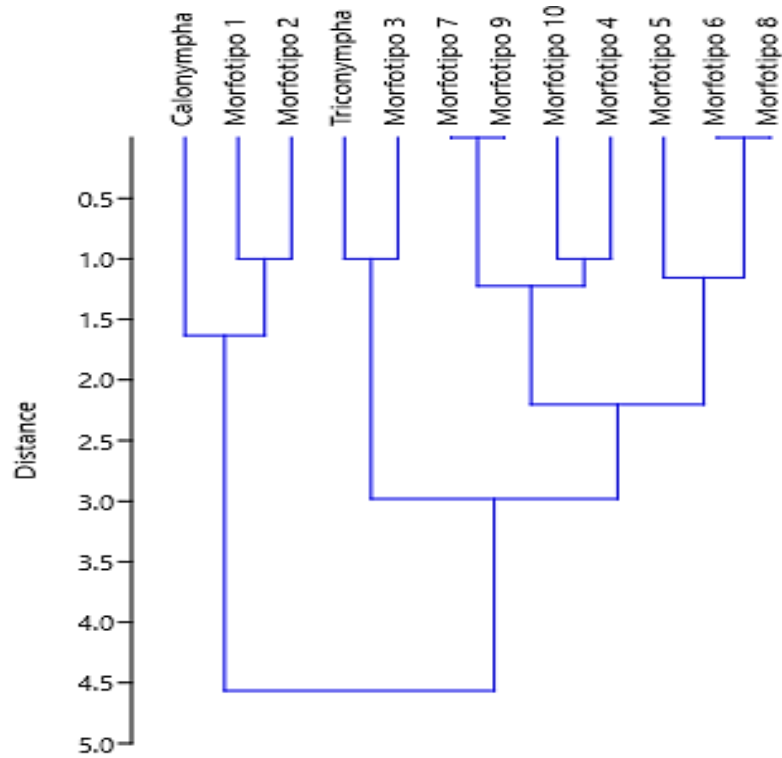


**Fig. 19.** Comparación de especies de endosimbiontes estimadas con Jacknife 1 para *Cryptotermes* y *Rugitermes*.

Además, mediante el cálculo del índice de Jaccard ( $I_c$ ) se obtuvo un valor de 0,25 por lo cual podemos decir que entre ambos géneros de kalotermitidos se comparte un cuarto del total hallado, estando todos los endosimbiontes presentes de *Cryptotermes* en la biota de *Rugitermes*. Asimismo, mediante el coeficiente de similitud de Sørensen se obtuvo un valor de 0,4 lo cual implica que entre ambas muestras existe una similitud del 40%.

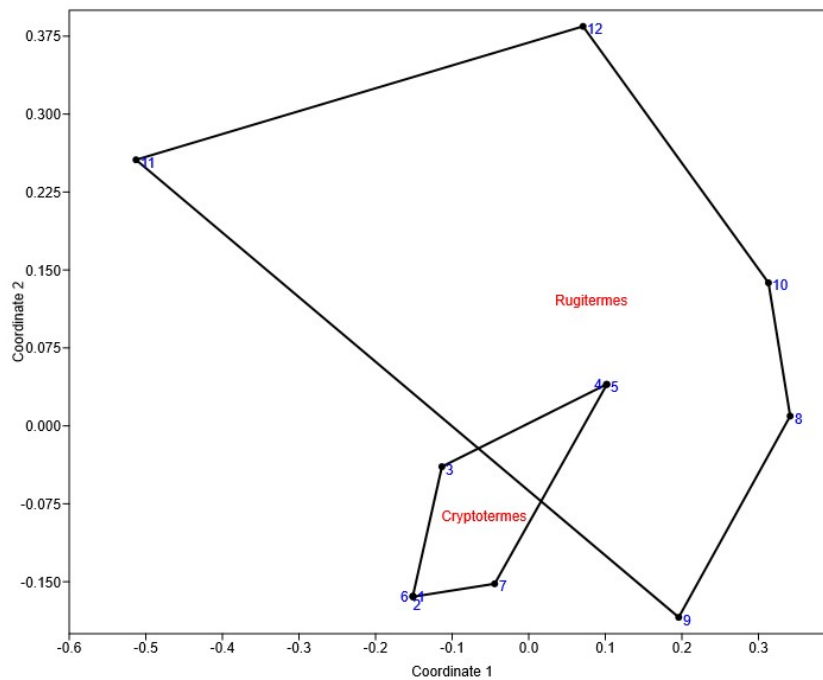
El análisis de la varianza no paramétrica de Kruskal Wallis (P-valor <0,05) demostró que existen diferencias significativas en la riqueza de especies registradas entre *Cryptotermes* y *Rugitermes* ( $H = 6,336$  y un valor  $p = 0,009758$ ) siendo mayor en *Rugitermes* con 9 Morfotipos más que en *Cryptotermes*.

En el análisis de agrupamiento (Fig. 20) podemos observar la conformación de dos grupos bien definidos, por un lado, el grupo conformado por *Calonympha* y los Morfotipo 1 y 2 correspondientes a los hallados en *Cryptotermes*, mientras que los restantes Morfotipos incluida *Trichonympha* corresponden a los encontrados en *Rugitermes*.



**Fig. 20.** Análisis de agrupamiento con método de Ward's e índice euclidiano obtenido de los protozoos encontrados en las termitas analizadas.

Finalmente, en el gráfico obtenido mediante el escalamiento multidimensional no métrico (Fig. 21) demuestra una mayor dispersión de los puntos correspondientes al género *Rugitermes* que se correlaciona con la mayor diversidad de morfotipos encontrados en este género.



**Fig. 21.** Escalamiento multidimensional no métrico de ambos géneros de Kalotermitidae.



## DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El género *Calonympha* (Parabasalia, Cristamonadida), es un protista que solo se lo ha registrado viviendo como endosimbionte en el intestino posterior de termitas pertenecientes a la familia Kalotermitidae (Gile *et al.* 2011). Hasta el momento, Krishna (1961) lo ha citado en *Cryptotermes brevis* Walker, Gile *et al.* (2011) en *Neotermes castaneus* y Etcheverry *et al.* (2018) en *Rugitermes*. Las características descritas para *Calonympha* son coincidentes con las descripciones mencionadas por Gile *et al.* (2011) y Etcheverry *et al.* (2018).

Con respecto al otro género de endosimbionte identificado, *Trichonympha* ha sido citado por Krishna *et al.* (1961) en varias especies de termitas pertenecientes a Kalotermitidae entre las cuales se encuentran géneros como *Neotermes*, *Calcaritermes*, *Glyptotermes* además de los dos géneros aquí tratados. El autor menciona a *Trichonympha saepicula* Kirby para dos especies de *Rugitermes*. Este flagelado se caracteriza por ser un hipermastigino grande y muy complejo con cientos o miles de flagelos. Carpenter *et al.* (2009) mencionan que dicho género posee la distribución más amplia que cualquier otro hipermastigino. Por otra parte, *Trichonympha* uno de los dos únicos géneros que se encuentran tanto en termitas como en cucarachas del género *Cryptocercus* (Dyctioptera: Blattodea: Cryptocercidae) caracterizado por también ser xilófagos y presentar una considerable diversidad de especies endosimbióticas encargadas de la digestión y degradación de celulosa (Cleveland *et al.* 1934).

En el caso del Morfotipo 5 se presentaron coincidencias morfológicas a las citadas por Gile *et al.* (2011) el cual describe a este flagelado dentro de la familia Calonymphidae cuyas especies difieren en los hospedadores que en los que residen y en características moleculares, de esta forma en base a lo descrito por el autor podríamos inferir que la especie de endosimbionte del Morfotipo 5 podría pertenecer al género *Snyderella*. Asimismo, cita para *Rugitermes rugosus* a *Snyderella ypiranga* en donde cada filamento axostilar se ramifica desde el haz central conduce a varios acariomastigotes en lugar que solo uno.

La peculiar morfología observada en el Morfotipo 7, con una clara y gruesa capa externa sugiere que probablemente se trate de un quiste, una estructura de resistencia característica de estos protistas (Lambercht *et al.* 2015), además, teniendo en cuenta los numerosos núcleos que presenta podríamos inferir que se trata de un triconínfido. Dolan *et al.* (2004) observó la formación de quistes en otros endosimbiontes de *Neotermes* en donde el 2% de *Staurojoenina assimilis* (Parabasalia) formó quistes redondeados.

Por otra parte, el Morfotipo 8 presenta características también descritas por Dolan *et al.* (2002) el cual describe a *Prosnyderella barroensis* con una forma piriforme, con la parte posterior más aguzada que la anterior y con la superficie celular cubierta de flagelos, características morfológicas coincidentes con las descripciones del Morfotipo 8, además agrega que esta especie se encuentra cubierta en su corteza celular por más de cien mastigotes que se extienden alrededor del extremo posterior. Los axostilos son combinados en un haz central mientras que una cresta corta de una micra de largo está asociada con cada mastigonte.

Sin embargo, las características observadas en este y en los restantes morfotipos no fueron suficientes para asignar con precisión a algún grupo taxonómico, aunque fueron concluyentes para reconocerlos como entidades biológicas diferentes. En ese sentido, queda pendiente mejorar la técnica de fijación y tinción de endosimbiontes para avanzar en la identificación de los protistas observados.

Con respecto a la diversidad, se observaron diferencias significativas entre ambos géneros, pudiéndose observar una mayor presencia de géneros y/o morfotipos en *Rugitermes*, mientras que *Cryptotermes* presentaba una menor riqueza. Ahora bien, uno de los factores que pueden justificar esta diferencia en la riqueza específica de endosimbiontes es, en principio, el ambiente del cual provienen las termitas hospedadoras. De esta manera, la mayor riqueza específica que presenta *Rugitermes* podría deberse a que las muestras de estos individuos fueron obtenidas de ambientes naturales, encontrándose en troncos caídos con distintos niveles de descomposición pertenecientes a distintas especies arbóreas. A diferencia de *Cryptotermes*, en el cual todos los ejemplares que se analizaron fueron extraídos de madera machimbre industrializada. Lo Pinto (2016) menciona que la presencia de diferentes especies de protistas se explica porque se cree que están involucradas en pasos separados de la digestión de la celulosa, ya que ciertas comunidades responden de manera diferente a las variables fuentes nutricionales. Lo cual explica que una especie que se encuentra en un ambiente natural expuesta a mayores fuentes nutricionales posea una mayor diversidad de endosimbiontes sobre aquellos que están expuestos a condiciones y fuentes nutricionales constantes como ser casas domesticas o construcciones urbanas. Por otra parte, Singh y Bhatnagar (2014) analiza la prevalencia de termitas en zonas rurales y urbanas en la ciudad de Jaipur (India), mencionando que en aquellas especies predominantes en ambientes urbanos (*Odontotermes obesus*) existía una menor diversidad de endosimbiontes protistas que en las termitas de áreas rurales.

Husseneder *et al.* (2010) examina la diversidad de protistas intestinales en dos especies de termitas de madera seca (*Incisitermes snyderi* y *Cryptotermes brevis*) recolectadas en regiones geográficas diferentes en los Estados Unidos indicando que estas, debido a su ubicación geográfica, presentaban una biota intestinal diferencial. Así, en *I. snyderi* predominaba el género de *Pseudotriconympha* mientras que en *C. brevis* existía una mayor prevalencia del género *Eucomonympha*.

Dentro de otros factores que pueden afectar la diversidad de microorganismos en el tracto digestivo de los insectos xilófagos, Mannesmann (1972) menciona la dieta. Planteando que la población de flagelados en la especie de *Coptotermes formosanus* Shikari y *Reticulitermes virginicus* Banks (Rhinotermitidae) varía de acuerdo al sustrato del cual se alimentan sus hospedadoras. Viendo así que, la concentración de protozoos simbioses en su tracto digestivo va a variar debido a la presencia de diferentes extractos en las maderas de las especies arbóreas de las cuales se alimentan los hospedadores, ya que estos pueden afectar de forma diferencial la supervivencia y reproducción de cada flagelado dependiendo del requerimiento fisiológico de estos. Las investigaciones realizadas por Hidayat *et al.* (2019) demuestran que la composición de las comunidades de protistas endosimbiontes estaba estrechamente relacionada con la dieta de las termitas. Por ejemplo, las termitas que se alimentaban de madera muerta tenían una mayor diversidad de protistas celulolíticos, que son capaces de degradar la celulosa presente en la madera. Por otro lado, las termitas que se alimentaban de otros materiales

vegetales, como hojas o hierba, tenían una mayor diversidad de protistas amilolíticos, que son capaces de degradar el almidón presente en estos materiales. Estos autores sugieren que la composición de las comunidades de protistas endosimbiontes en las termitas puede estar determinada por la composición química de los alimentos que consumen y por la capacidad de los protistas para degradar esos materiales.

Los estudios de Hassan *et al.* (2017) y Mannesmann (1972) ponen en manifiesto que ciertas especies de *Pinus sp.*, *Quercus alba* (roble blanco), *Picea rubens* (píceca roja), entre otros presentan en su duramen extractos que afectan severamente la biota intestinal de las termitas provocando así la defaunación de la misma.

A su vez, este autor menciona también a la temperatura como factor influyente, viendo así que *Spirotrychonympha* y *Trichonympha* (Trichomonadida) presentes en *R. virginicus* poseen una tasa de reproducción mayor en temperaturas altas mientras que especies como *Dinenympha* y *Pyrrsonympha* (Oxamonadida) presentan una preferencia hacia temperaturas más bajas. Además, König (2005) pone en manifiesto que, en otoño, estación del año en el cual se observa la mayor cantidad de *Holomastigotoides* en *Coptotermes formosanus*, existe una correlación positiva en cuanto al consumo de madera de las termitas y su mayor actividad para poder sobrellevar el invierno ante las temperaturas más bajas. Por lo tanto, las estaciones del año y las temperaturas son factores que inciden en gran medida a la población de flagelados. Teniendo en cuenta que las muestras tomadas de *Rugitermes* fueron otoño (abril de 2022) podríamos decir que nuestros resultados confirman lo dicho por este autor, asimismo, los análisis para *Cryptotermes* fueron realizados en primavera (septiembre – octubre de 2021).

Sin embargo, Lo Pinto *et al.* (2016) menciona que en *Reticulitermes flavipes*, la actividad de forrajeo disminuye gradualmente a medida que las temperaturas diarias disminuyen a fines del otoño y durante el invierno casi no hay actividad de termitas hasta que las temperaturas aumentan en la primavera. Esta variación de actividad es probablemente una respuesta adaptativa para mejorar la supervivencia a temperaturas frías: las termitas pueden disminuir su tasa metabólica o modificar su comportamiento.

Por último, la ubicación taxonómica de los géneros aquí analizados son un punto crucial. Los estudios de Ohkuma *et al.* (2001) muestran que las termitas inferiores, un grupo que comprende seis familias evolutivas de termitas distintas (Mastotermitidae, Termopsidae, Hodotermitidae, Kalotermitidae, Serritermitidae y Rhinotermitidae), albergan poblaciones densas y diversas de procariotas y protistas flagelados celulolíticos en sus intestinos. Mientras que las termitas superiores, un grupo que comprende solo una familia (Termitidae), pero aproximadamente el 85% de todas las especies de termitas, también albergan una población densa y diversa de procariotas intestinales, pero generalmente carecen de protistas eucariotas flagelados.

Jan *et al.* (2017) además plantea que la familia Kalotermitidae tiene la mayor diversidad de especies entre las termitas "inferiores", seguida por Rhinotermitidae. Termitidae, las termitas "superiores", se caracterizan por la ausencia de flagelados simbióticos y una dieta basada en materiales vegetales en cualquier estado de descomposición.

Aunque numerosos autores han registrado y confirmado que existe una clara diferencia de endosimbiontes entre diferentes familias del árbol filogenético de Isóptera, todavía no se han llevado a cabo estudios que comparen esta diversidad dentro de una misma familia, sacando a un lado los factores antes mencionados.

Autores como Brune *et al.* (2011) destacan la importancia del microbioma intestinal de las termitas y resaltan la necesidad de estudios que exploren la relación entre la diversidad de flagelados en el intestino y la ecología y evolución de las termitas. Se podría suponer que existe algún tipo de gradiente en cuanto a la diversidad de flagelados dentro de una misma familia de termitas, lo que podría tener implicaciones importantes en la comprensión de la función del microbioma en estos insectos.

Para concluir, en este Trabajo Final de Graduación, aunque con resultados preliminares, se realiza uno de los primeros aportes al conocimiento de endosimbiontes presentes en el tubo digestivo de termitas inferiores de la familia Kalotermitidae distribuidas en el nordeste de Argentina. La identificación de los endosimbiontes en cada género permitió el análisis de la diversidad de protistas que integran la biota intestinal de *Cryptotermes* y *Rugitermes*, provenientes de distintos ambientes. Lo más importante de esta comparación y análisis de diversidad fueron los diferentes factores que la afectaron.

La hipótesis planteada aquí sugiere que la ubicación taxonómica de los hospedadores, el ambiente en el que viven y el sustrato que consumen son factores determinantes para la diversidad de simbioses. Este estudio ha confirmado la validez de esta hipótesis a través del análisis realizado. Sin embargo, hay otros factores que pueden influir en la diversidad de la biota intestinal de isópteros, como la estación del año, la temperatura y la ubicación geográfica.

Además, se han encontrado diferencias en la composición de las comunidades de protistas simbioses entre los géneros de Kalotermitidae, lo que sugiere que también puede haber factores específicos de cada género que influyen en la diversidad de simbioses. En términos generales, las termitas plagas que se alimentan de madera industrializada en ambientes urbanos presentan una menor diversidad de protistas simbioses en comparación con aquellas que provienen de ambientes naturales.

Finalmente, cabe destacar la importancia de la identificación de estos microorganismos, ya que resulta de gran interés debido a que los isópteros aquí mencionados utilizan enzimas endógenas producidas por estos endosimbiontes para llevar a cabo la degradación de la lignocelulosa a componentes fermentables, los cuales pueden utilizarse en la producción de bioetanol en reemplazo de etanol como una opción de combustible mucho más sustentable para el ambiente.

## BIBLIOGRAFÍA

- Albuquerque Lima, T.; Pontual, E. V.; Dornelles, L. P.; Amorim, P. K.; Sá, R. A.; Coelho, L. C. B. B. & Paiva, P. M. G. (2014).** Digestive enzymes from workers and soldiers of termite *Nasutitermes corniger*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 176, 1-8.
- Alves, W. de F.; Mota, A. S.; De Lima, R. A. A.; Bellezoni, R. & Vasconcellos, A. (2011).** Termites as Bioindicators of Habitat Quality in the Caatinga, Brazil: Is There Agreement Between Structural Habitat Variables and the Sampled Assemblages. *Neotropical Entomology*, 40(1), 39-46.
- Bacchus, S. (1986).** A taxonomic and biometric study of the genus *Cryptotermes* (Isoptera: Kalotermitidae).
- Bignel, D.E. (2000).** Introduction to Symbiosis. En: Abe, T.; Bignell, D. & Higashi, M. (Eds.). *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology* (pp. 363–388). Kluwer Academic Publishers: The Netherlands.
- Breznak, J.A. (2000).** Ecology of Prokaryotic Microbes in the Guts of Wood- and Litter-Feeding Termites. En: Abe, T.; Bignell, D. & Higashi, M. (Eds.). *Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology* (pp. 363–388). Kluwer Academic Publishers: The Netherlands.
- Brugerolle, G. & Bordereau, C. (2004).** The flagellates of the termite *Hodotermopsis sjoestedti* with special reference to *Hoplonympha*, *Holomastigotes* and *Trichomonoides trypanoides* n. comb. *European journal of protistology*, 40(2), 163-174.
- Brugerolle, G. & Lee, J.J. (2001a)** Order Oxymonadida. In: Lee, J.J.; Leedale, G.F.; Bradbury, P.C. (eds) *The Illustrated Guide to the Protozoa*, 2d edn, vol II, Society of Protozoologists, Lawrence Kansas, pp 1186–1195
- Brugerolle, G. & Lee, J.J. (2001b)** Phylum Parabasalia. In: Lee, J.J., Leedale, G.F.; Bradbury, P.C. (eds) *The Illustrated Guide to the Protozoa*, 2dedn, vol II, Society of Protozoologists, Lawrence Kansas, pp 1196–1250
- Brune, A., Dietrich, C., & Moeller, R. (2011).** The gut microbiota of termites: digesting the diversity in the light of ecology and evolution. *Annual Review of Microbiology*, 65, 427-456. doi: 10.1146/annurev-micro-090110-102801.
- Brussaard, L.; Behan – Pelletier, V.; Bignell, D.; Brown, V.; Didden, W.; Folgarait, P.; Fragoso, C.; Freckman, D.; Gupta, V.; Hattoris, T.; Hawksworth, D.; Klopatek, C.; Lavelle, P; Malloch, D.; Rusek, J.; Söderström, B.; Tiedje, J. & V. Ross. (1997).** Biodiversity and Ecosystem Functioning in Soil. *Ambio*, 26 (8), 563 – 570.

- Carpenter, K. J., Chow, L., & Keeling, P. J. (2009).** Morphology, phylogeny, and diversity of *Trichonympha* (Parabasalia: Hypermastigida) of the wood-feeding cockroach *Cryptocercus punctulatus*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 56(4), 305-313.
- Constantino, R. (2002).** An illustrated key to Neotropical termite genera (Insecta: Isoptera) based primary lyon soldiers. *Zootaxa*, 67(1), 1-40.
- Colwell, R. K. & Elsensohn, J. E. (2014).** EstimateS turns 20: statistical estimation of species richness and shared species from samples, with non-parametric extrapolation. *Ecography*, 37(6), 609-613.
- Cleveland, L. R., Hall, S. R., Sanders, E. P. & Collier, J. (1934).** The woodfeeding roach, *Cryptocercus*, its protozoa and the symbiosis between protozoa and roach. *Mem. Am. Acad. Arts Sci.*, 17:1–342.
- Dolan, M. F., Wier, A. M., Melnitsky, H., Whiteside, J. H. & Margulis, L. (2004).** Cysts and symbionts of *Staurojoenina assimilis* Kirby from *Neotermes*. *European Journal of Protistology*, 40(4), 257-264.
- Dolan, M. F., & Kirby, H. (2002).** Gyronympha, *Prosnyderella* and *Criconympha*, three new genera of calonymphids (Parabasalia: Trichomonadida) from wood-eating termites. *European journal of protistology*, 38(1), 73-81.
- Eggleton, P. & Bignell, D. E. (2000).** Termites in ecosystems. In *Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology* (pp. 363-387). Springer, Dordrecht.
- Etcheverry, C.; Godoy, M. C.; Laffont, E. R. (2018).** "Identificación de flagelados del tubo digestivo de *Rugitermes rugosus* (Hagen) (Blattodea, Kalotermitidae)". Presentado en el evento "XXIV Reunión de Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2018". Argentina.
- Gile, G.H.; James, E.R.; Scheffrahn, R.H.; Carpenter, K.J.; Harper, J.T.; Keeling, P.J. (2011).** Molecular and morphological analysis of the family Calonymphidae with a description of *Calonympha chia* sp. nov., *Snyderella kirbyi* sp. nov., *Snyderella swezyae* sp. nov., and *Snyderella yamini* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 61, 2547–2558.
- Guerrero, E.; Arneodo, J.; Bombarda Campanha, R.; Abrão de Oliveira, P.; Veneziano Labate, M.T.; Regiani Cataldi, T. & et al. (2015)** Prospection and Evaluation of (Hemi) Cellulolytic Enzymes Using Untreated and Pretreated Biomasses in Two Argentinean Native Termites. *PLoS ONE* 10 (8): e0136573. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136573>
- Godoy, M. C.; Laffont, E. R. & Coronel, J. M. (2015).** Bioecological traits, abundance patterns and distribution extension of the soldierless Neotropical termite *Compositermes vindai*.
- Hammer, Ø.; Harper, D. A. & Ryan, P. D. (2001).** PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia electronica*, 4(1), 9.
- Hassan, B., Mankowski, M. E., Kirker, G., & Ahmed, S. (2017).** Effects of heartwood extractives on symbiotic protozoan communities and mortality in two termite species. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 123, 27-36.

- Hidayat, P., Nugroho, W. D., Maryati, M., & Hirose, Y. (2019).** Termites and protozoa in Indonesia: an underexplored diversity. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 22(2), 366-373. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2019.02.011>
- Husseneder, C., Messenger, M. T., Su, N. Y., & Grace, J. K. (2010).** Effects of habitat fragmentation on the genetic diversity of the Formosan subterranean termite. *Environmental entomology*, 39(6), 1751-1759.
- Jan, S. & Dahlsjo, C. (2017).** Isoptera.
- Jones, D. T. & Eggleton, P. (2000).** Sampling termite assemblages in tropical forests: testing a rapid biodiversity assessment protocol. *Journal of applied Ecology*, 37(1), 191-203.
- Krishna, K. (1961)** "A generic revision and phylogenetic study of the family Kalotermitidae (Isoptera)", *Bulletin of the American Museum of Natural History*, vol. 122, pp. 303–408.
- König, H. (2006).** Intestinal microorganisms of termites and other invertebrates (Vol. 6). Springer Science & Business Media.
- Lawton, J.; Bignell, D.; Bolton, B.; Bloemers, G.; Eggleton, P.; Hammond, P.; Hodda, M.; Holt, R.; Larsen, T.; Mawdsley, N.; Stork, N.; Srivastava, D & Watt, A. (1998).** Biodiversity inventories, indicator taxa and effects of habitat modification in tropical forest. *Nature*, 391, 72 – 76.
- Lo Pinto, M., Varrica, G. & Agrò, A. (2016).** Temporal variations in symbiotic hindgut protist community of the subterranean termite *Reticulitermes lucifugus* Rossi in Sicily. *Insectes Sociaux*, 63, 143-154.
- Lucena, S. A.; Lima, L. S.; Cordeiro, L. S.; Sant'Anna, C.; Constantino, R.; Azambuja, P. & Genta, F. A. (2011).** High throughput screening of hydrolytic enzymes from termites using a natural substrate derived from sugarcane bagasse. *Biotechnology for biofuels*, 4(1), 51.
- Mannesmann, R. (1972).** Relationship between different wood species as a termite food source and the reproduction rate of termite symbionts 1. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 72(1-4), 116-128.
- Moreno, C. E. (2001).** Métodos para medir la biodiversidad. Volumen 1. Manuales y tesis SEA.
- Ozbayram, E. G.; Kleinsteuber, S. & Nikolausz, M. (2019).** Biotechnological utilization of animal gut microbiota for valorization of lignocellulosic biomass. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(2), 489-508.
- Ohkuma, M., Noda, S., Hongoh, Y., & Kudo, T. (2001).** Coevolution of symbiotic systems of termites and their gut microorganisms. *Riken review*, 73-74.
- Radek, R.; Meuser, K.; Altinay, S.; Lo, N.; Brune, A. (2019).** Novel Lineages of Oxymonad Flagellates from the Termite *Porotermes adamsoni* (Stolotermitidae): the Genera *Oxynympha* and *Termitimonas*, *Protist*, doi: <https://doi.org/10.1016/j.protis.2019.125683>

- Romero Victorica, M.; Soria, M.A.; Batista-García, R.A. et al. (2020).** Neotropical termite microbiomes as sources of novel plant cell wall degrading enzymes. *Sci Rep* 10, 3864 <https://doi.org/10.1038/s41598-020-60850-5>
- Sánchez-Peña, S. R., Flores-Palacios, A., & García-Rodríguez, M. (2017).** Termite species (Isoptera) and their gut symbionts: diversity, distribution and impact on ecosystem functioning. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 88(1), 112-124.
- Scharf, M. E. & Tartar, A. (2008).** Termite digestomes as sources for novel lignocellulases. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 2(6), 540-552.
- Singh, S., & Bhatnagar, R. (2014).** Prevalence of termites in urban and rural areas of Jaipur, Rajasthan. *Indian Journal of Entomology*, 76(1), 63-68.
- Store, N. E. & Eggleton, P. (1992).** Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. *American Journal of Alternative Agriculture*, 7, 38 – 47.
- Torales, G.J. & Fontes, L.R. (2008).** *Onkotermes corochus*, a new species of termite from Argentina (Isoptera, Termitidae, Termitinae). *Sociobiology* 52 (3): 471- 484.
- Torales, G.J.; Coronel, J.M.; Godoy, M.C.; Laffont, E.R. & Romero, V.L. (2008).** Additions to the Taxonomy and Distribution of Isoptera from Argentina. *Sociobiology* 51 (1): 31- 47. ISSN 0361- 6525.
- Van Voerden, H. C.; Martínez Girón, R.; & Martínez Torre, C. (2020).** Protozoan Cysts in Faecal Pellets of German Cockroaches (*Blattella germanica*), with Particular Emphasis on *Lophomonas blattarum*. *Acta Parasitologica*.
- Zhou, J.; Duan, J.; Gao, M.; Wang, Y.; Wang, X. & Zhao, K. (2019).** Diversity, roles, and biotechnological applications of symbiotic microorganisms in the gut of termite. *Current Microbiology*, 76(6), 755



