
Ciências Biológicas

Giovana Daniele Belucci

**SELEÇÃO DE DIETAS ARTIFICIAIS PARA
MANUTENÇÃO EM LABORATÓRIO DO CUPIM
ASIÁTICO *Coptotermes gestroi* (ISOPTERA:
RHINOTERMITIDAE).**

Giovana Daniele Belucci

**SELEÇÃO DE DIETAS ARTIFICIAIS PARA MANUTENÇÃO EM
LABORATÓRIO DO CUPIM ASIÁTICO *Coptotermes gestroi*
(ISOPTERA: RHINOTERMITIDAE).**

Orientadora: Prof^ª Dr^ª Ana Maria Costa Leonardo

Supervisor:

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biociências da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - Câmpus de Rio Claro, para obtenção do grau de Bacharel e Licenciado em Ciências Biológicas.

Rio Claro

2010

595.736 Belucci, Giovana Daniele
B432s Seleção de dietas artificiais para manutenção em
laboratório do cupim asiático *Coptotermes gestroi* (Isoptera:
Rhinotermitidae) / Giovana Daniele Belucci. - Rio Claro :
[s.n.], 2010
28 f. : il., figs., gráfs.

Trabalho de conclusão de curso (licenciatura e
bacharelado - Ciências Biológicas) - Universidade Estadual
Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Ana Maria Costa Leonardo

1. Térmita. 2. Insetos eussociais. 3. Artrópodes. I. Título.

*“Pra quem tem pensamento forte
O impossível é só questão de opinião
E disso os loucos sabem
Só os loucos sabem...”*

Chorão e Thiago Castanho

*Aos meu pais Marcia e Befucci,
por todo amor e por todo apoio
em cada passo meu.*

Dedico

*À meu tio Nedir, que esteja onde estiver
Sei que está olhando por mim e por toda minha família
Saudades demais...*

Ofereço

AGRADECIMENTOS

À Profª Drª Ana Maria pela oportunidade de estágio e orientação no desenvolvimento deste trabalho.

Ao CNPq/PIBIC, pela concessão de bolsa de estudo que permitiu a realização deste trabalho.

À Ita, e ao Centro de Estudos de Insetos Sociais pelo auxílio no desenvolvimento deste projeto.

À Célia, que por tantas vezes me ajudou, me aconselhou nas longas manhãs que passamos montando experimentos.

Ao Ives, à Lara e à Juliana, que me ajudaram durante todos esses anos de estágio, inclusive na realização deste trabalho.

À Eli, que por tantos anos foi minha companheira de aulas (ou no incentivo a faltar delas), seminários, brincadeiras (as vezes até demais), almoços. Ao Cazuzo, que neste último ano foi o melhor vizinho que alguém pode ter. À Monizze que conseguiu morar comigo por 4 anos, passando por momentos bons e ruins, mas que com certeza valeram a pena. À Bruna que me ensinou a gostar de artesanato com as oficinas de origamis, filtro dos sonhos, além de ser uma ótima amiga. À Gláucia a amiga mais correta do mundo, sempre pronta pra ajudar qualquer um que precise. À Gabi, vizinha também, sempre presente nos melhores momentos. À todo CBN 2006, por todo desespero coletivo antes de provas, o que resultava na eficiente revisão da matéria toda em 5 minutos mas, acima de tudo, às risadas, às reuniões e aos TQABs. Pessoas muito especiais para mim.

Ao Caio, que fez com que meus momentos de angústia, medo, indecisão terminassem com o melhor abraço do mundo. Além de todo amor, carinho e atenção que sempre me dedicou.

À minha família, minha base, meus guias, meus incentivadores, a quem devo tudo o que sou.

À Deus, por ter colocado em meu caminho todas essas pessoas. Por ter me dado saúde e proteção, e me permitido viver tão intensamente cada ano da minha graduação.

SUMÁRIO

RESUMO.....	1
1. INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Biologia de <i>Coptotermes gestroi</i>	5
2. MATERIAS E MÉTODOS.....	7
2.1 Preparação das dietas.....	12
3. RESULTADOS.....	13
4. DISCUSSÃO.....	16
5. CONCLUSÃO.....	18
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	19

RESUMO

O cupim exótico *Coptotermes gestroi*, pertencente à família Rhinotermitidae, é um dos mais prejudiciais para os humanos, do ponto de vista econômico, causando grandes prejuízos no Brasil, principalmente nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro. A manutenção de insetos no laboratório pressupõe o uso de uma dieta artificial nutritiva assim, este projeto, pretendeu selecionar a melhor dieta artificial entre 5 testadas, que fosse adequada para manter essa espécie de cupim. Portanto, foram realizados 5 diferentes bioensaios em arenas compostas por câmaras “ninho”, conectadas a câmaras “alimento”, que continham as diferentes dietas ou *Pinus* sp., madeira utilizada como controle. A sobrevivência dos cupins e o resultado final foi submetido a uma análise de variância que demonstrou que a dieta composta principalmente por α - celulose foi a que apresentou os melhores resultados e foi considerada a dieta mais eficaz na manutenção dos cupins em laboratório.

1. INTRODUÇÃO

Uma grande variedade de material orgânico pode servir de alimento para os cupins, incluindo madeira, gramíneas, plantas herbáceas, folheto, fungos e excrementos de animais (LEE & WOOD, 1971). Nos ecossistemas naturais, os cupins ocupam a posição de consumidores primários (herbívoros e detritívoros) pois atuam na trituração, decomposição, humificação e mineralização de uma variedade de materiais celulósicos. Pelo fato de agirem na decomposição da celulose, os térmitas mantêm um papel importante na reciclagem de nutrientes. (COSTA LEONARDO, 2002).

Os cupins geralmente se alimentam de madeira e material vegetal morto, nos quais a celulose é o componente principal (ABE & HIGASHI, 1991; NOIROT, 1992). A celulose é uma substância orgânica de difícil digestão, constituída de polissacarídeos, cuja unidade fundamental é a celobiose que é um açúcar com duas moléculas de glicose (NOIROT, 1992; COSTA-LEONARDO, 2002). Assim, para digerir a celulose, os cupins subterrâneos xilófagos possuem em seu intestino uma associação simbiótica com protozoários e bactérias. Primeiramente a degradação mecânica da madeira pelas peças bucais dos cupins gera pequenos pedaços. Mais tarde, as celulasas endógenas, β - glucosidases, produzidas pelos cupins nas glândulas salivares e endo - β - 1,4 - glucanase e β - D - glucanase, produzidas pelos cupins no intestino médio, quebram a matriz da celulose em partes menores, mas que ainda não são digeríveis pelo inseto. Estes fragmentos chegam ao intestino posterior e são então reduzidos pelos protozoários até acetato (BREZNAK, 1982; INOUE et al. 1996). Alguns protozoários não participam diretamente desta degradação, mas agem como hospedeiros para bactérias metanogênicas e fixadoras de nitrogênio (YOSHIMURA, 1995). Portanto, os cupins também possuem bactérias para a fixação de nitrogênio (FRENCH et al., 1976; POTRIKUS & BREZNAK, 1977) e reciclam seus próprios produtos metabólicos, usando o ácido úrico como reserva de nitrogênio (POTRIKUS & BREZNAK, 1981).

Em vista do exposto acima, uma das mais importantes limitações para os cupins

xilófagos é a falta de nitrogênio na dieta. Enquanto a porcentagem de nitrogênio nos cupins é 10 -15%, a maioria da madeira contém somente 0,03-0,10% de nitrogênio (COWLING & MERRILL, 1966; LA FAGE & NUTTING, 1978). Ao nível da colônia, o nitrogênio é conservado via canibalismo, oofagia e trofalaxia (WOOD, 1976; LA FAGE & NUTTING, 1978).

A manutenção de insetos no laboratório pressupõe o uso de uma dieta artificial nutritiva. Dietas artificiais compostas exclusivamente por celulose foram utilizadas por Cleveland (1925) e Hungate (1941) na manutenção do cupim *Zootermopsis* sp. Estes autores utilizaram como celulose “pura” o papel filtro, que é um alimento com pouco valor nutricional. Posteriormente, Cook e Scott (1933) em um estudo experimental com *Z. angusticollis*, concluíram que os cupins desta espécie requerem carboidratos, proteínas, sais e vitaminas do tipo A, B, C e riboflavina. Porém, este estudo teve duração de apenas 37 dias, que é um tempo muito curto para conclusões definitivas sobre a nutrição da referida espécie.

Mauldin e Rich (1975) testaram 16 dietas artificiais para os cupins *Coptotermes formosanus* e *Reticulitermes flavipes* e obtiveram bons resultados, com uma sobrevivência adequada para a dieta constituída por α -celulose, água, um esteroide e um fungicida o metil-p-hidroxibenzoato. Rojas e Morales-Ramos (2001) utilizaram uma dieta artificial composta de 75% de água, 24,69% de celulose e 0,31% de suplementos nutricionais e aditivos, os quais juntamente com um inibidor de síntese de quitina, foram ministrados via alimentação para o cupim *C. formosanus*. Além disso, estes pesquisadores usaram um polímero artificial para reter água na matriz desta dieta que é a função desempenhada pelo Agar em gel na maioria das dietas de insetos.

Segundo Morales-Ramos e Rojas (2007), uma dieta enriquecida com lipídeos, como a lecitina, também é fator importante no crescimento de colônias incipientes do cupim *C. formosanus*. Estes autores afirmam que o aumento da concentração de lecitina em dietas de colônias incipientes deste cupim aumentou significativamente a fecundidade da rainha e o crescimento dessas colônias, uma vez que este crescimento está fortemente associado à fecundidade da rainha. A lecitina é um complexo misto de lipídeos incluindo os ácidos palmítico, estérico, oléico e linoléico. Tais ácidos são comumente encontrados na madeira e sua proporção e concentração variam entre as diferentes espécies de vegetais. Se esses lipídeos estão presentes na madeira e podem fornecer benefícios nutricionais para as colônias de cupins, eles também devem ter um papel importante na seleção do alimento por esses insetos (MORALES-RAMOS & ROJAS, 2007).

De acordo com Tanaka et al. (2006), os critérios utilizados para o desenvolvimento de

dietas artificiais para cupins incluem: a) uma habilidade de suprir água em quantidade suficiente para estes insetos, b) uma habilidade de manter a sobrevivência destes insetos, c) uma facilidade de controle de todos os seus componentes por um longo tempo.

A biologia do forrageamento em Isoptera é ainda pouquíssimo conhecida (CURTIS & WALLER, 1997) e informações sobre suas preferências alimentares serão valiosas para o entendimento dos padrões naturais de forrageamento desses insetos, além de favorecer o desenvolvimento da tecnologia de isca para o seu controle (WALLER & CURTIS, 2003). O que já se sabe é, que os cupins subterrâneos têm elevado potencial de forrageamento e são capazes de consumir diversas fontes alimentares ao mesmo tempo, sobrevivendo por longos períodos (COSTA-LEONARDO, 1996). Em muitas espécies de cupins, a quantidade do alimento não é o fator limitante para o crescimento de uma colônia, mas sim a qualidade (LENZ, 1994). Muitas espécies de cupins subterrâneos preferem madeira degradada por fungos (WALLER & LA FAGE, 1987), pois a taxa de consumo da madeira não é uma característica intrínseca da espécie de madeira utilizada como alimento, mas é um fator que varia em certas circunstâncias, tais como o tipo, as condições e a quantidade de alimento disponível, assim como o número de indivíduos da colônia (LENZ, 1994). O estado nutricional da colônia afeta grandemente o desenvolvimento individual de cada membro da mesma (LENZ, 1994). De acordo com o referido autor, um recurso alimentar com elevada qualidade nutricional para os cupins é aquele que apresenta todos os nutrientes necessários para o pleno desenvolvimento e manutenção do indivíduo e da colônia. Além de que, o recurso alimentar escolhido pelos cupins precisa estar livre de quaisquer substâncias repelentes ou tóxicas. Na maioria dos casos as madeiras não preenchem completamente esses requisitos, já que a composição varia entre as diferentes espécies de plantas. Normalmente, a madeira possui baixa quantidade de nitrogênio e os cupins necessitam forragear de forma seletiva e alimentar-se simultaneamente em diferentes tipos de madeiras para suprir as suas necessidades nutricionais. Neste sentido, os cupins que apresentam a capacidade de forragear em mais de um recurso, caso dos cupins subterrâneos, que são capazes de explorar um amplo espectro de diferentes madeiras, satisfazem todos os seus requerimentos nutricionais.

1.1 Biologia de *Coptotermes gestroi*

Os cupins são insetos eussociais distribuídos em sete famílias pertencentes à ordem Isoptera. Eles são considerados eussociais por apresentarem sobreposição de gerações na mesma colônia, cuidado cooperativo com a prole e divisão da tarefa reprodutiva, com os indivíduos estéreis trabalhando em benefício dos férteis (WILSON, 1971).

A família Rhinotermitidae compreende os cupins subterrâneos, que são caracterizados pelo hábito críptico e por construírem túneis conectados ao alimento (COSTA-LEONARDO, 2002). Pertencente a esta família, o gênero *Coptotermes*, é um dos mais prejudiciais para os humanos do ponto de vista econômico (SU & SCHEFFRAHN, 2000). A espécie *Coptotermes gestroi*, nativa do sudeste asiático, foi introduzida no Brasil por meio dos navios, com registros que datam de 1923 no Rio de Janeiro e 1934 em Santos (ARAÚJO, 1958). É uma espécie considerada praga urbana e tem infestado principalmente a região sudeste do Brasil pois ataca vários materiais, entre eles, madeiras, plásticos, reboco, couro, isopor, metal, borracha, betume, gesso e árvores vivas. Contudo, os materiais não celulósicos como plástico e metal não são utilizados para a alimentação dos cupins (COSTA-LEONARDO, CASARIN & CAMARGO-DIETRICH, 2007). No sudoeste da Ásia os danos causados por cupins chegam a US\$400 milhões por ano e uma proporção significativa desses danos é causada por *C. gestroi* (NEOH & LEE, 2009).

O ninho de *C.gestroi* pode ser constituído por uma unidade individualizada ou por várias unidades independentes, ligadas entre si, formando o que se conhece por ninho policálico. Este cupim subterrâneo exótico apresenta colônias que contém milhares de indivíduos (COSTA-LEONARDO, 2002). Além disso, sua colônia apresenta castas, as quais são indivíduos com morfologia diferente e que realizam atividades especializadas dentro da colônia.

De acordo com Costa-Leonardo et.al (2007), a sociedade dos *C. gestroi* apresenta reprodutores primários, que são o rei e rainha da colônia. Esta rainha é fisiogástrica, ou seja,

possui um abdômen hipertrofiado com grande desenvolvimento do aparelho reprodutor. Reprodutores de substituição ou neotênicos podem ocupar o lugar da rainha quando esta morre ou aparecer após a divisão da colônia. Nas colônias também existem reprodutores alados, conhecidos como siriris ou aleluias. Estes podem ser machos ou fêmeas e fundarão as novas colônias de *C.gestroi*. As revoadas dos reprodutores alados ocorrem geralmente entre os meses de agosto e setembro na região sudeste do Brasil. Já no sudoeste da Ásia, esse evento ocorre entre os meses de janeiro e julho (NEOH & LEE, 2009). Os soldados, facilmente identificáveis por possuírem cabeças amarelo-alaranjada e mandíbulas de pontas finas e recurvadas, são os responsáveis pela defesa da colônia. Para tal expelem uma secreção leitosa (“cola”) por uma abertura no dorso da cabeça. Incapazes de se alimentarem sozinhos, são totalmente dependentes dos operários. Já os operários constituem a casta mais numerosa e dominam a dinâmica nutricional da colônia. São esses indivíduos que saem em busca de comida e também processam o alimento para os demais companheiros. Os operários alimentam as ninfas jovens, os soldados e os reprodutores.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Insetos: cupins forrageiros de *Coptotermes gestroi* (Wasmann, 1896) foram capturados em armadilhas de papelão corrugado colocadas no território de forrageamento de colônias localizadas na cidade de Rio Claro (SP).

Bioensaios: Neste estudo foram realizados 5 diferentes bioensaios, nos quais foram avaliadas 5 dietas diferentes (TABELA 1) para manutenção de *C. gestroi* em laboratório. As unidades experimentais eram constituídas de duas câmaras conectadas entre si, uma câmara “ninho” onde foram colocados os cupins e uma câmara “alimento”, na qual era disposto o item alimentar. A câmara “ninho” era constituída por um recipiente plástico de 250 mL preenchido com uma matriz de areia umedecida composta por 80g de areia e 5 mL de água destilada. A areia utilizada foi previamente esterilizada em estufa durante 24 horas a 70°C. A câmara “alimento” era constituída por um recipiente plástico de 145 mL e não continha areia. A conexão entre as câmaras foi feita por meio de um pequeno tubo plástico de 5,5 cm de comprimento (FIGURAS 1 e 2). Em cada bioensaio foram utilizados 200 operários e 20 soldados forrageiros os quais foram colocados na câmara “ninho” e mantidos sem conexão com o alimento por um período de 24 horas para aclimatação. Após esse tempo, a passagem entre as câmaras foi liberada e os cupins puderam transitar entre elas. Para cada bioensaio foram realizadas 12 repetições com a dieta artificial (que era oferecida aos cupins na forma de um círculo com 1,8 cm de diâmetro) e 12 experimentos controles, nos quais a câmara alimento continha apenas um círculo de madeira *Pinus* sp., também com 1,8 cm de diâmetro. A avaliação da dieta foi realizada levando em consideração: 1) sobrevivência dos cupins, 2) peso dos indivíduos, 3) severidade e rapidez na contaminação por fungos e bactérias. Na primeira semana o bioensaio foi inspecionado diariamente para avaliação da contaminação e, posteriormente, duas vezes por semana, durante todo o experimento. Nos tratamentos, foi adicionado um novo alimento a cada dez dias, enquanto que no controle, o alimento era repostado quando já havia ocorrido um consumo de 75% da fonte alimentar. Quatro unidades

experimentais e quatro controles foram desmontados após 20, 40 e 60 dias, sendo que nesta ocasião, os indivíduos sobreviventes foram computados em ambas.

Adicionalmente, 10 operários de cada unidade experimental, escolhidos ao acaso, foram pesados no início do experimento. Este procedimento foi repetido a cada avaliação, ou seja, após 20, 40 e 60 dias, sendo que esta amostra também foi aleatória. Todos os bioensaios foram desenvolvidos em sala ambiente, com temperatura controlada ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$).

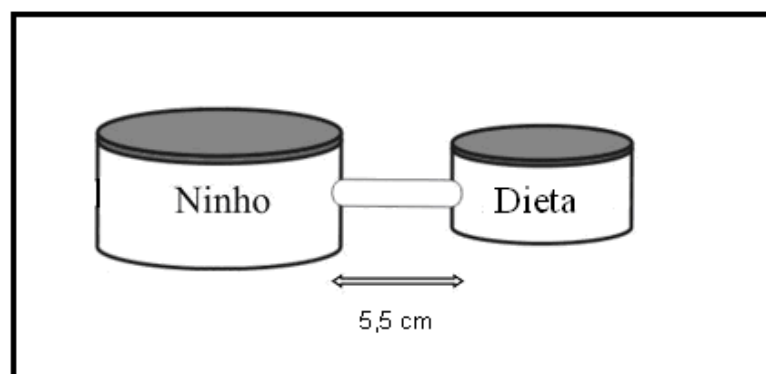


FIGURA 1 - Esquema representando a disposição dos recipientes plásticos na realização dos bioensaios com dieta artificial.

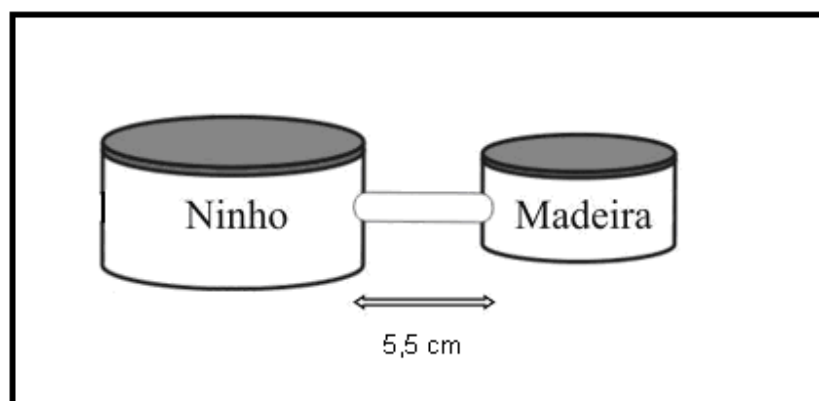


FIGURA 2 - Esquema representando a disposição dos recipientes plásticos na realização dos bioensaios controles.



FIGURA 3 – Vista superior (A) e vista lateral (B) da disposição dos recipientes plásticos na realização dos bioensaios com a dieta artificial. A conexão entre as câmeras está bloqueada para aclimação dos indivíduos.

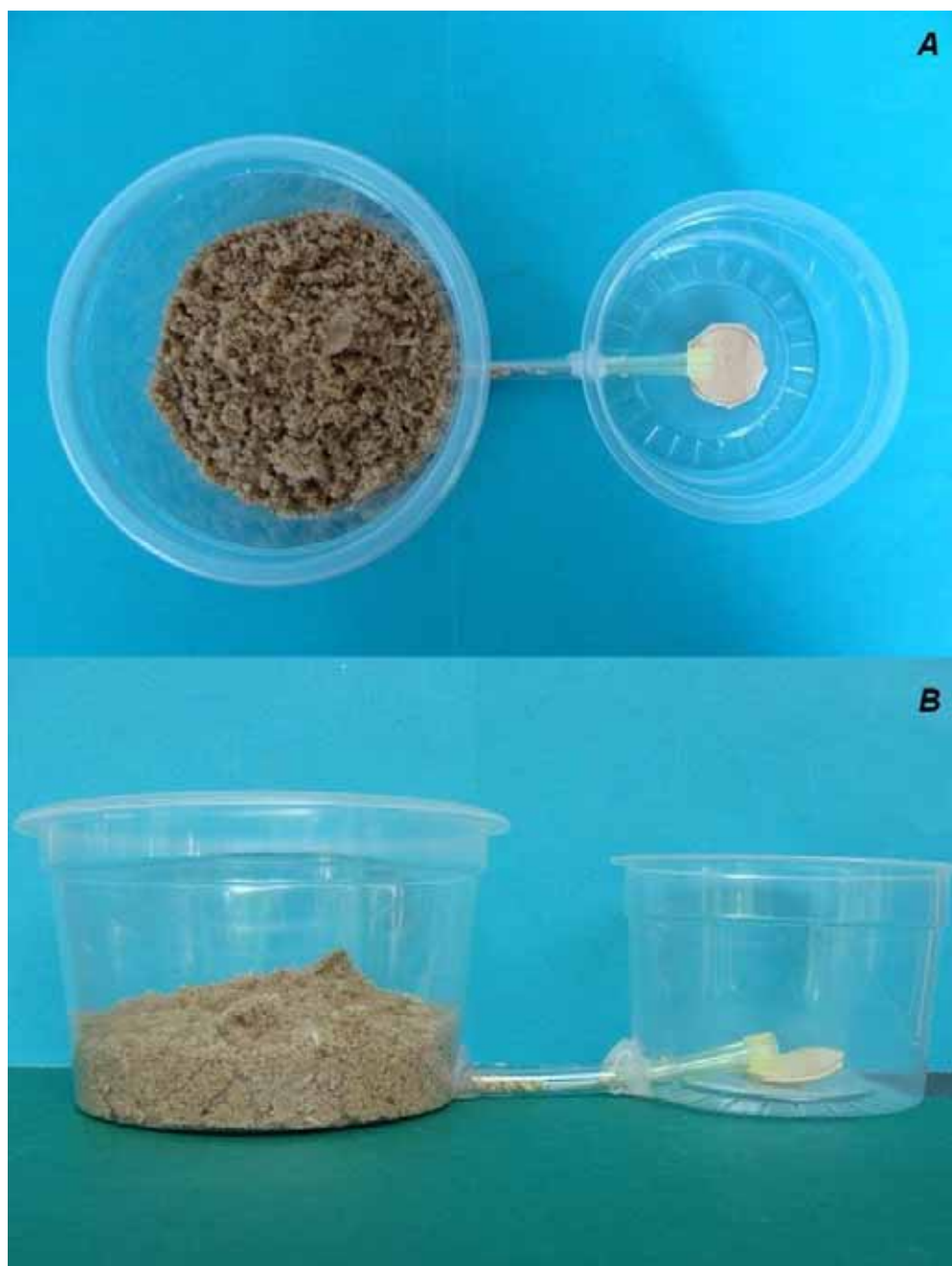


FIGURA 4 – Vista superior (A) e vista lateral (B) da disposição dos recipientes plásticos na realização dos bioensaios controles. A conexão entre as câmeras está bloqueada para a aclimação dos indivíduos.

Tabela 1 - Composição das dietas artificiais que foram utilizadas nos diferentes bioensaios.

Dietas	Composição
1 (“ <i>α</i> -celulose”)	10g de <i>α</i> -celulose 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada
2 (“ <i>Pinus</i> ”)	10g de serragem de <i>Pinus</i> sp. 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada
3 (“cana-de-açúcar”)	10g de bagaço de cana-de-açúcar moído 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada
4 (“milho”)	10g de colmo de milho moído 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada
5 (“ <i>α</i> -celulose + sacarose + levedura”)	10g de <i>α</i> -celulose 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada + 12,5g de sacarose + 2,5g de levedura (fermento)

A dieta número 5 foi desenvolvida baseando-se em estudos anteriores de Haifig et al. 2010, os quais comprovaram que tratamentos que utilizavam sacarose + levedura apresentavam uma alta sobrevivência de cupins da espécie *Coptotermes gestroi*.

Os dados de sobrevivência foram analisados estatisticamente pelo teste de variância ANOVA, seguido pelo teste *a posteriori* de Tukey, quando necessário. Quando os resultados obtidos não apresentavam normalidade e homogeneidade nas variâncias, foi executado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls, quando necessário. Adicionalmente, os dados para massa corpórea foram também analisados considerando apenas os resultados dos tratamentos que tiveram um maior sucesso laboratorial. Para essa análise, foi executado o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, seguido pelo teste *a posteriori* de Student-Newman-Keuls. Além disso, para todas as análises estatísticas foi adotado o nível de significância (α) igual a 0,05 (SOKAL & ROHLF, 1995).

2.1 Preparação das dietas

A preparação das dietas 2, 3 e 4 foi iniciada pela adição 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja em 100 ml de água. Essa mistura foi aquecida de 2 a 3 minutos em microondas, até que os ingredientes estivessem totalmente dissolvidos.

A serragem de *Pinus* sp, ou o bagaço de cana-de-açúcar moído ou o colmo de milho moído foram misturados nos 150ml de água restantes e, posteriormente, adicionados à solução aquecida de Agar Bacteriológico, lecitina de soja e água. Toda a mistura então, foi colocada em autoclave, onde permaneceu por 15 minutos à pressão de 1 atm e 121°C.

Para a preparação das dietas 1 e 5 todos os ingredientes, com exceção da solução alcoólica 0,005% de nipagin, foram adicionados aos 250 ml de água e aquecidos de 2 a 3 minutos em microondas, até que estivessem totalmente dissolvidos. Da mesma maneira a mistura foi levada à autoclave e mantida durante 15 minutos à pressão de 1 atm e 121°C.

Após a retirada da autoclave, as misturas tiveram a adição de 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin. Posteriormente, as dietas ainda em estado líquido, foram colocadas em placas de petri de 9 cm de diâmetro, as quais foram previamente esterilizadas em autoclave, com o mesmo procedimento descrito acima.

Após o endurecimento das dietas, as placas de petri com as mesmas, foram embaladas, individualmente, em filme plástico e mantidas em geladeira.

3. RESULTADOS

Os resultados obtidos em relação à sobrevivência estão resumidos na Figura 5, foi possível observar que após 20 dias de experimentação houve diferença significativa de sobrevivência dos cupins entre o controle e as dietas 4 (milho) ($P = 0,0131$) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura) ($P = 0,0078$), sendo maior no controle. A sobrevivência dos cupins alimentados com a dieta 2 (*Pinus*) foi significativamente maior da dieta 4 (milho) ($P = 0,0216$), porém semelhante as outras dietas e ao controle ($P > 0,05$). Na dieta 1 (α – celulose), a sobrevivência foi similar ao controle e às dietas 2 (*Pinus*) e 3 (cana-de-açúcar) ($P > 0,05$), porém foi significativamente maior que as dietas 4 (milho) ($P = 0,0016$) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura) ($P = 0,001$). A sobrevivência foi maior para a dieta 3 (cana-de-açúcar) em relação à dieta 5 (α -celulose + sacarose + levedura) ($P = 0,0077$).

Em 40 dias do período experimental, a sobrevivência dos forrageiros foi significativamente maior na dieta 1 (α -celulose) em relação ao controle ($P = 0,0236$) e em relação à dieta 4 (milho) ($P = 0,012$), porém similar às dietas 2 (*Pinus*), 3 (cana-de-açúcar) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura). Não houve diferença significativa entre as dietas de 2 (*Pinus*), 3 (cana-de açúcar), 4 (milho), 5 (α -celulose + sacarose + levedura) e o controle ($P > 0,05$).

Ao final dos 60 dias de experimentação, não houve diferença significativa entre o controle e as dietas de 2 (*Pinus*), 3 (cana-de-açúcar), 4 (milho) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura) ($P > 0,05$). A dieta 1 (α -celulose) apresentou uma maior sobrevivência em relação ao controle ($P = 0,0046$) e às dietas 2 (*Pinus*) ($P = 0,0173$) e 4 (milho) ($P = 0,0046$).

A análise dos tratamentos e dos seus respectivos períodos de experimentação mostrou que no controle a sobrevivência dos indivíduos foi maior após 20 dias de experimento, em relação aos 40 dias ($P = 0,0112$) e aos 60 dias ($P < 0,0001$). A dieta 2 (*Pinus*) apresentou diferença significativa entre os 20 dias e os 60 dias ($P = 0,0066$), sendo maior aos 20 dias. Os demais tratamentos com as dietas 1 (α -celulose), 3 (cana-de-açúcar), 4 (milho) e 5 (α -celulose

+ sacarose + levedura) não apresentaram diferença significativa durante o período experimental.

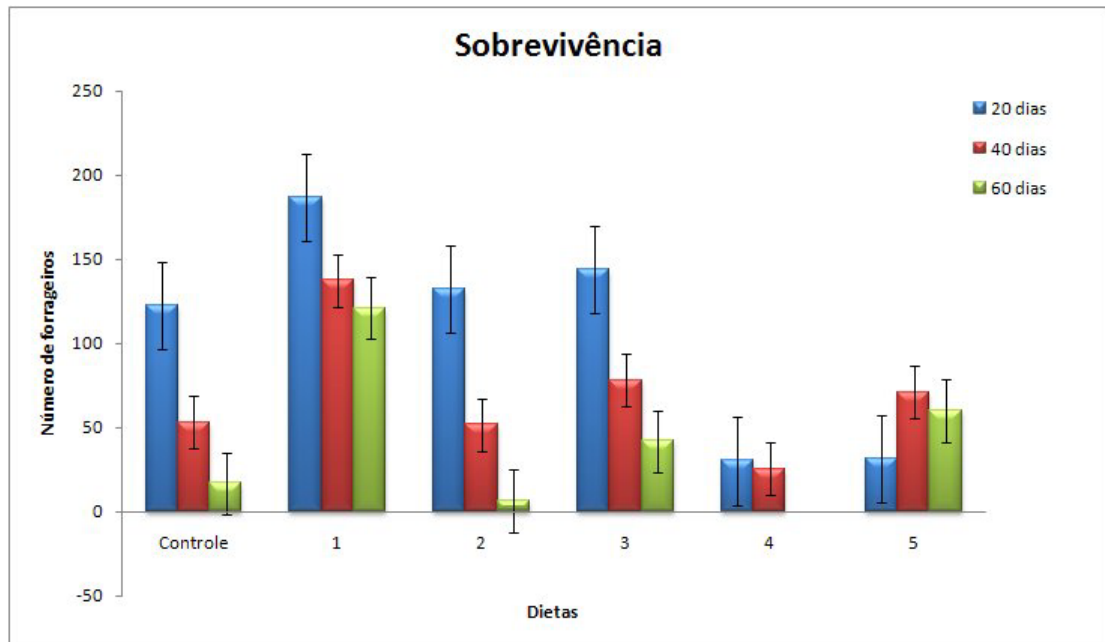


Figura 5. Média (\pm erro padrão) da sobrevivência dos cupins forrageiros durante o período experimental no controle e em cada tratamento. 1- α -celulose; 2 - *Pinus*; 3 - cana-de-açúcar; 4 - milho; 5 - α -celulose + sacarose + levedura. Letras iguais não diferem estatisticamente.

Em relação à massa dos indivíduos, observou-se uma variação bastante alta entre as repetições do controle e dos tratamentos (Tabela 2). Em algumas das unidades experimentais, os cupins perderam aproximadamente 15 miligramas, caso das dietas 4 (milho) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura), enquanto em outras unidades os cupins mostraram um ganho de massa, que variou de 0,7 miligramas até 3,0 miligramas na dieta 3 (cana-de-açúcar). Na dieta 1, os forrageiros de todas as repetições perderam massa, e essa variação foi de 5,7 até 10,7 miligramas. No controle, em todas as unidades experimentais, com exceção de uma com 60 dias, os forrageiros perderam massa, com uma variação de 4 a 8,1 miligramas.

Devido a alta mortalidade dos tratamentos com as dietas 4 (milho) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura), foi realizada uma comparação entre a massa corpórea apenas do controle e dos tratamentos com as dietas 1 (α - celulose), 2 (*Pinus*) e 3 (cana-de-açúcar), agrupando todos os resultados obtidos de 20, 40 e 60 dias.

Essa comparação mostrou que os cupins tratados com a dieta 1 (α - celulose)

apresentaram uma maior perda de massa (R = 8,333). E os indivíduos tratados com as dietas 2 (*Pinus*) (R=31,2778) e 3 (cana-de-açúcar) (R= 30,8636) foram os que apresentaram a menor perda de massa corpórea durante o período experimental.

Comparando-se a perda de massa entre os tratamentos, observou-se que houve diferença significativa entre a dieta 1 (α - celulose) e as dietas 2 (*Pinus*) (P<0,0001), 3 (cana-de-açúcar) (P<0,0001) e o controle (P=0,0207), sendo que os indivíduos que foram tratados com a dieta 1 (α - celulose) foram os que apresentaram a maior perda de massa. Os resultados obtidos para os tratamentos com as dietas 2 (*Pinus*) e 3 (cana-de-açúcar) e o controle não apresentaram diferença significativa entre eles.

TABELA 2. Variação da massa de 10 operários (massa final menos massa inicial) em miligramas. Valores negativos indicam perda de massa dos indivíduos. * = sobrevivência nula.

Dieta	Controle	1	2	3	4	5
20	-4	-10,7	2,2	1,1	-1,4	*
	-8,1	-7,2	-2,3	2,5	*	-1,9
	-6,9	-5,7	-4,4	-4,1	*	*
	-6,5	-10,2	-0,6	-6,1	-0,4	*
40	-6,3	-9,3	-0,8	2,1	-15,6	-7,8
	-4,1	-9,3	*	*	-10,7	-14,6
	-6,0	-8,5	-0,9	0,7	*	*
	-8,0	-9,0	2,2	3,0	*	-8,09
60	-7,2	-10,3	*	-4,7	*	-8,8
	*	-8,2	-1,9	-10,0	*	*
	-7,7	-10,0	-6,9	-0,4	*	-4,3
	1,1	-8,6	*	-1,7	*	-4,5

4. DISCUSSÃO

O bioensaio desenvolvido para testar a dieta 1 (α – celulose) , mostrou resultados muito positivos, já que a taxa de sobrevivência foi muito alta ao término dos experimentos, superando a taxa de sobrevivência dos experimentos controle aos 40 e 60 dias de experimentação. A contaminação por fungos foi baixa o que provavelmente colaborou na sobrevivência dos indivíduos.

Os testes com as dietas 4 (milho) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura) apresentaram os menores valores de sobrevivência. No decorrer do experimento foi observada uma alta contaminação das referidas dietas por fungos, o que provavelmente pode ter influenciado na morte de todos os indivíduos em várias repetições.

Apesar de todo o aparato utilizado nos bioensaios ser devidamente esterilizado, e todas as dietas artificiais desenvolvidas apresentarem fungicida em sua composição, a contaminação por fungos foi observada em várias repetições de todos os tratamentos, sendo que as dietas 4 (milho) e 5 (α -celulose + sacarose + levedura), foram as que mais apresentaram focos de contaminação. Isso é possível porque os cupins subterrâneos são coletados muitas vezes do solo, onde existem vários microorganismos.

Além disso, algumas das dietas podem ter favorecido o desenvolvimento dos fungos. Essa contaminação pode ter influenciado na sobrevivência dos cupins ao longo do período experimental.

Analisando-se o tempo de manutenção em laboratório observou-se que a taxa de sobrevivência de um modo geral diminuiu quanto maior foi esse período. Contudo, a maioria dos tratamentos não mostrou diferenças significativas nesses valores.

Os resultados obtidos para massa apresentaram uma variação bastante alta, constatando-se que esses dados não foram um bom parâmetro para a avaliação dos tratamentos com dietas artificiais para os cupins da espécie *Coptotermes gestroi*. Apesar de serem forrageiros, as populações utilizadas nos bioensaios são sempre heterogêneas e,

adicionalmente, a escolha dos cupins ao acaso, foram fatores que colaboraram para a grande variação dos resultados. Contudo, foi possível perceber que os indivíduos, em grande parte dos bioensaios, perderam massa quando submetidos às condições experimentais, o que pode ser reforçado por essa ocorrência no controle. Essa perda de massa na maior parte dos experimentos deve-se provavelmente ao fato dos cupins estarem em condições diferentes das quais se encontravam em seu ambiente natural. Embora as condições de laboratório tenham sido controladas no sentido de reproduzir o ambiente natural desses insetos, foi possível perceber que a manipulação dos cupins e a troca de ambiente resultaram em uma perda de massa de operários após alguns dias de manutenção *in vitro*. Além disso, as populações de colônias de campos atingem milhares de indivíduos, o que é impossível de reproduzir em laboratório.

5. CONCLUSÃO

Neste projeto conclui-se que o tratamento com a dieta 1 (α - celulose) foi o melhor entre todos testados. Os resultados mostraram uma grande perda de massa corpórea dos cupins nesse bioensaio, contudo a alta sobrevivência e a baixa contaminação por fungos apresentada foram determinantes para se comprovar a eficácia dessa dieta artificial para a manutenção dos *C. gestroi* em laboratório. Ainda assim, é prudente testes com outras metodologias e envolvendo mais colônias para a comprovação dos resultados obtidos no presente trabalho.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, T.; HIGASHI, M. Cellulose centered perspective on terrestrial community structure, **Oikos**, v. 60, n. 1, p. 127-133, 1991.

ARAÚJO, R.L. Contribuição à biogeografia dos térmitas de São Paulo, Brasil. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 25, p. 187-217, 1958.

COSTA-LEONARDO, A. M. A metodologia de iscas para o controle de cupins subterrâneos. **Revista de Agricultura**, Piracicaba, v. 71, n. 3, p. 337-345, 1996.

COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-Praga: Morfologia, Biologia e Controle**. Rio Claro: Ana Maria Costa-Leonardo, 2002. 128 p.

COSTA-LEONARDO, A.M., CASARIN F.E., CAMARGO-DIETRICH, C.R.R. Identificação e práticas de manejo de cupins em áreas urbanas. In: PINTO, A.S., ROSSI, M.M., SALMERON, E. **Manejo de Pragas Urbanas**, Piracicaba, CP-2, 2007. 41- 53 p.

COWLING, E. B.; MERRILL, W. Nitrogen in wood and its role in wood deterioration. **Canadian Journal of Botany**, v. 44, n. 11, p. 1539-1554, 1966.

FRENCH, J. R. J.; TURNER, G. L.; BRADBURY, J. F. Nitrogen fixation by bacteria from the hindgut of termites, **Journal of General Microbiology** v. 96, n. 2, p. 202-206, 1976.

HAIFIG, I. ; MARCHETTI, F. F.; COSTA-LEONARDO, A. M. Nutrients affecting food choice by the pest subterranean termite *Coptotermes gestroi* (Isoptera: Rhinotermitidae)', **International Journal of Pest Management**, v.56, n. 4, p. 371 — 375, 2010.

INOUE, T.; MURASHIMA, K.; AZUMA, J. I.; SUGIMOTO, A.; SLAYTOR, M. Cellulose and xylan utilisation in the lower termite *Reticulitermes speratus*. **Journal of Insect Physiology**. v. 43, n. 3, p. 235-242, 1996.

LA FAGE, J. P.; NUTTING W. L. Nutrient dynamics of termites, In: BRIAN, M. V. (ed.) **Production Ecology of Ants and Termites**. Cambridge: Cambridge University Press, 1978, pp. 165-232.

LEE, K. E.; WOOD, T. G. **Termites and soils**. New York: Academic Press. 1971. 251p.

LENZ, M. Food resources, colony growth and caste development in wood-feeding termites. In: HUNT, J. H.; NAPELA, C. A. (eds.) **Nourishment and Evolution in Insect Societies**. San Francisco: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., 1994, pp. 159-209.

NEOH, K.B. ; LEE, C. Y. Flight activity and phenology of the Asian subterranean termite, *Coptotermes gestroi* (Wasmann) (Blattodea: Rhinotermitidae) **Sociobiology** v.54 p.521 – 530, 2009.

NOROIT, C. From wood- to humus-feeding: an important trend in termite evolution. **Biology and Evolution of Social Insects**, Leuven: Leuven University Press, p.107-119, 1992.

POTRIKUS, C. J; BREZNAK, J. A. Nitrogen-fixing *Enterobacter agglomerans* isolet from guts of wood-eating termites. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 33, n.2, p.392-399, 1977.

POTRIKUS, C. J.; BREZNAK, J. A. Gut bacteria recycle uric acid nitrogen in termites – a strategy for nutrient conservation. **Proceedings of National Academy of Sciences**, v. 78, n. 7, p. 4601-4605, 1981.

SU, N. Y.; SCHEFFRAHN, R. H. Termites as pests of buildings. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (eds) **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000, 437-453 p.

WALLER, D. A; LA FAGE, J. P. Food quality and foraging response by the subterranean termite *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera Rhinotermitidae), **Bulletin of Entomological Research**, v. 77, n. 3, p. 417-424, 1987.

WILSON, E. O. The insect societies, Belnap Press of University Press, Cambridge, 548p, 1971.

WOOD, T. G. The role of termites (Isoptera) in the decomposition process, In: ANDERSON, J. M.; MACFADYEN, A. (eds). **The role of Terrestrial and Aquatic Organisms in the Decomposition Process**, Oxford, England: Blackwell Scientific Publications, 1976, pp. 145-168.

YOSHIMURA, T. Contribution of the protozoan fauna nutritional physiology of the lower termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae), **Wood Research**, v. 82, p. 68-129, 1995.

Giovana Daniele Belucci

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Costa Leonardo