
CIÊNCIAS BIOLÓGICAS NOTURNO

VANELIZE JANEI

**AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DIETAS NA MANUTENÇÃO DOS
CUPINS *Heterotermes tenuis* e *Cornitermes cumulans*
(ISOPTERA, RHINOTERMITIDAE, TERMITIDAE) EM CONDIÇÕES
LABORATORIAIS.**

VANELIZE JANEI

AVALIAÇÃO DE DIFERENTES DIETAS NA MANUTENÇÃO DOS
CUPINS *Heterotermes tenuis* e *Cornitermes cumulans*
(ISOPTERA, RHINOTERMITIDAE, TERMITIDAE) EM
CONDIÇÕES LABORATORIAIS.

Orientadora: PROF^a. DR^a. ANA MARIA COSTA LEONARDO

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

Rio Claro
2010

595.736 Janei, Vanelize
J33a Avaliação de diferentes dietas na manutenção dos cupins *Heterotermes tenuis* e *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Rhinotermitidae, Termitidae) em condições laboratoriais / Janei, Vanelize. - Rio Claro : [s.n.], 2010
39 f. : il., figs., gráfs., tabs., fots.

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. Manutenção laboratorial - Cupins. 3. Dietas artificiais. 4. Espécies nativas. 5. Subterrâneo. 6. Montículo. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

À minha família,
dedico.

"É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar;
é melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver ..."
Martin Luther King



ÀS VEZES EU ACHO QUE O SINAL MAIS
EVIDENTE DE QUE EXISTE VIDA
INTELIGENTE EM ALGUM LUGAR DO
UNIVERSO, É O DE QUE NINGUÉM ATE
AGORA TENTOU ENTRAR EM CONTA-
TO CONOSCO.

(Calvin and Hobbes, Bill Watterson).

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha família. Sem o apoio dela não teria conseguido concretizar esse trabalho e tantos outros projetos e sonhos da minha vida. Ao meu pai pelas piadas e palhaçadas do dia-a-dia, e pelo seu interesse nas coisas que faço. À minha mãe, essa mulher forte e lutadora, obrigada por sempre me apoiar, me entender e compreender meus anseios. Aos meus irmãos, pela infância maravilhosa que tivemos! Ao Neto pelos conselhos, conversas filosóficas, pelas boas dicas de filmes e pela companhia para assisti-los, e pelo interesse nos meus estudos! Ao Varlei, pelas boas risadas, pelas longas conversas, pela ajuda com assuntos de computador, por me ensinar origami e tricô, pelas dicas de filmes e pela companhia para assisti-los! Ao Vildner, por trazer e compartilhar a arte com a gente, pelas conversas sobre música e baladas e pelas piadinhas espontâneas! Ao Velquer, por sempre me fazer rir e pelas muitas e muitas vezes que ele me buscou e me levou na faculdade qualquer hora que fosse! Meninos, obrigada por fazerem parte da minha vida, vocês são muito importantes! A minha avó Loriles e ao meu avô José, sou muito grata pelo carinho! Aos meus tios Vanilce, Jorge, Vivian e Vitor Pedro pelo apoio e incentivo!

À Prof^ª Dr^ª Ana Maria Costa Leonardo por me ensinar tanto nesses anos de orientação. Obrigada pela paciência, incentivo e dedicação.

Agradeço ao pessoal do laboratório pela boa convivência! À Célia, que me ajudou sempre que precisei e por deixar o laboratório sempre agradável com seu bom humor. Ao Marcelo, por me ajudar a montar os experimentos. À Ju, pelo auxílio nas dúvidas de estatística e pela companhia nas coletas. À Fá, por sua calma e paciência nos ensinamentos e dicas de laboratório. À Lara, pela companhia nas coletas e no laboratório, pelas várias vezes que me ajudou a montar experimentos, pela companhia na cantina e nos almoços no Vegetariano. Ao Ives, por me ajudar com estatística, relatórios, painéis, pela companhia no laboratório, enfim, por sempre estar disposto a me auxiliar quando precisei.

Às meninas do CEIS, Ita, Marcela e Jocketa, por me ajudarem com a preparação das dietas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

Aos meus fieis companheiros! Por estarem sempre me esperando com carinho, mesmo no meu mal-humor. Ao Beethoven, pelos 15 anos que estive em minha vida, pela companhia que me fez, estive sempre ao meu lado nos momentos ruins. Ao Cazuza pela empolgação e alegria de brincar comigo, obrigada por me distrair correndo atrás das bolinhas, tampinhas,

garrafas, e tudo mais que eu atirasse. E ao meu mais novo amigo quatro patas, Elvis, essa bolinha de pelos, que só apronta, mas que deixa meus dias mais alegres!

Aos meus amigos que estiveram comigo antes e depois de entrar nesta graduação, Cíntia, Fer, Carlos e Amanda. Sou muito grata por me aguentarem falando de biologia e de faculdade, até mesmo em algumas baladas. Agradeço por sempre me ouvirem e se interessarem por meus trabalhos e projetos, por sempre me deixarem de bom humor, pelas risadas, e boas conversas nos finais de semana. Obrigada por fazerem parte de minha vida! Agradeço em especial a minha amiga de muito tempo, Amanda, pelas “aventuras” na adolescência, pelas longas conversas, viagens e baladas nesses muitos anos de amizade e convivência. Por sempre me apoiar, não me deixar desistir dos meus objetivos, e compartilhar meus bons e maus momentos, sou muito grata a ela e aos pais dela, Juçara e Luiz.

Aos amigos, que mesmo de longe sempre me deram apoio: Mariana C., Roberta, André e José.

Agradeço ao pessoal da República Jererê, Gabi, Eli e Mateus e as meninas do apartamento 2, Giovana e Monizze, por me oferecerem suas casas sempre que precisei, me emprestando um colchão, ou um banho, ou me convidando para jantar. Obrigada!

À minha sala por esses 5 anos de convivência. Agradeço pelos bons momentos que compartilhamos: Picinguaba, Pantanal, almoços, festinhas, TQAB's, sítio, saídas de campo, reuniões de estudo, aniversários, etc. Agradeço pelos novos amigos e colegas que cruzaram meu caminho: Monizze, pela companhia ou quase companhia nas baladas! Agradeço pela sua amizade, por me aguentar reclamando da vida e por me ensinar a ser mais flexível com as coisas! Dom, por sempre me fazer sorrir fazendo piadas bobas, nunca fico de mau humor do lado dele! Eli, por seu jeito espontâneo e pelo seu amor a biologia. Bruna, por me ensinar artesanato e dança, e por sempre fazer os melhores comentários nas horas certas. Gláucia, pelo bom exemplo como aluna e pessoa. Giovana, por ser minha companheira em todas baladas do começo da graduação. Mateus, pelos almoços maravilhosos. Sean, pelas dicas de filmes. Emygdio, por suas reflexões nas aulas de licenciatura. Iete, pelas dicas de filmes e músicas. Manu, por sempre incentivar a união da sala. Pâmela, pelas conversas e por ser minha colega de painel em todos os CICs. Cogu, pela companhia nas baladas. Carol, pelas conversas sobre fotos e aves. Vanessa, por suas risadas espontâneas e contagiantes. A Ju e Natália por nos recepcionarem e cederem a casa nas TQAB's. Gisele pelas conversas.

Enfim, agradeço a todos que fizeram parte direta ou indiretamente na realização desse trabalho. Obrigada!

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	07
...	
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	09
2.1. A espécie <i>Heterotermes tenuis</i>	09
2.2. A espécie <i>Cornitermes cumulans</i>	09
2.3. Alimentação e dietas artificiais.....	10
3. OBJETIVOS.....	14
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
4.1. Insetos.....	15
4.2. Bioensaios com <i>H. tenuis</i>	17
4.3. Bioensaios com <i>C. cumulans</i>	21
4.4. Preparação das dietas.....	25
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
5.1. <i>H. Tenuis</i>	26
5.2. <i>C. Cumulans</i>	30
6. CONCLUSÕES.....	34
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

INTRODUÇÃO

Os Isoptera abrangem os indivíduos conhecidos como cupins ou térmitas, insetos eussociais, que possuem um aparelho bucal do tipo mastigador (GRASSÉ, 1949). Atualmente, há 2876 espécies de cupins descritas, sendo que a região neotropical engloba 555 espécies (CONSTANTINO, 2010). Existem sete famílias de Isoptera: Mastotermitidae, Kalotermitidae, Termopsidae, Hodotermitidae, Serritermitidae, Rhinotermitidae e Termitidae (GRASSÉ, 1986). Os cupins da família Termitidae são conhecidos como cupins superiores por não possuírem protozoários simbiotes no intestino posterior enquanto os das demais famílias possuem, e são denominados cupins inferiores.

Os cupins são conhecidos como importantes decompositores, especialmente nos ecossistemas tropicais e subtropicais (LEE; WOOD, 1971). A base da alimentação dos cupins é a celulose, sendo que existem espécies que se alimentam de madeiras em vários estágios de decomposição, raízes, sementes, serapilheira e até mesmo húmus (LEE; WOOD, 1971; LIMA; COSTA-LEONARDO, 2007). A madeira é primariamente composta de celulose e hemiceluloses, com ligninas e taninos que são polímeros aromáticos (NOIROT, 1992). Os cupins têm algumas enzimas celulósicas, mas seus protozoários simbiotes são também importantes na degradação e digestão da celulose da madeira (TANAKA et al., 2006).

A manutenção de colônias de insetos sociais no laboratório pressupõe o uso de um alimento saudável que prolongue a vida dos indivíduos. Por isso, uma dieta adequada garante uma boa sobrevivência com um bom vigor, ou seja, com uma saúde adequada para as colônias de cupins. Além disso, só com uma dieta que preencha as necessidades fisiológicas e nutricionais dos cupins será possível desenvolver experimentos para o controle desses insetos.

Segundo Parra (2002), uma dieta deve conter todos os nutrientes exigidos pelo inseto, tais como proteínas, vitaminas, sais minerais, carboidratos, lipídeos e esteróis. Entretanto, isso pode não ser suficiente, pois a ausência de certas propriedades físicas e de fago-estimulantes (físicos e químicos) assim como balanceamento de nutrientes pode determinar um desenvolvimento inadequado do inseto.

Como os cupins são insetos sociais, deve-se levar em conta que este fato exige técnicas laboratoriais diferenciadas para a manutenção destes indivíduos. A família Rhinotermitidae compreende os cupins subterrâneos, que são caracterizados pelo hábito críptico, o que também acarreta uma certa dificuldade na sua manutenção em laboratório

(COSTA-LEONARDO, 2002). Esta família também é bastante conhecida por abranger grande número de espécies pragas e construírem túneis conectados aos alimentos (SU; SCHEFFRAHN, 2000). *Heterotermes tenuis* é um cupim subterrâneo nativo considerado importante praga tanto em áreas urbanas, onde ataca madeiras e derivados, como em ambientes agrícolas, onde ataca culturas de cana-de-açúcar e milho (PIZANO; FONTES, 1986; ALMEIDA et al., 1998; COSTA-LEONARDO, 2002; GARCIA et al., 2004).

Cornitermes cumulans é um cupim nativo da família Termitidae e subfamília Syntermitinae, que constrói montículos em pastagens. Esta espécie se alimenta principalmente de folhas e raízes mortas de gramínea e por isso alguns autores a consideram pragas de pastagens (TORALES, 1982; COSTA-LEONARDO, 2005).

Dessa forma, visando contribuir para os conhecimentos sobre as exigências nutricionais dos cupins, neste projeto pretendeu-se selecionar dietas que pudessem satisfazer os requerimentos nutricionais do cupim inferior *H. tenuis* e do cupim superior *C. cumulans*, além de prolongar a sobrevivência desses cupins *in vitro*.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A espécie *Heterotermes tenuis*.

Os cupins da espécie *H. tenuis*, pertencem a família Rhinotermitidae e são conhecidos como subterrâneos, pois constroem ninhos abaixo da superfície do solo, que é onde encontram maior umidade que necessitam.(COSTA-LEONARDO, 2000).

O cupim nativo *H. tenuis* é considerado importante praga tanto em áreas urbanas, onde ataca madeiras e derivados como livros e jornais, como em ambientes agrícolas, onde ataca culturas de cana-de-açúcar e milho (PIZANO; FONTES, 1986; ALMEIDA et al., 1998; COSTA-LEONARDO, 2002; GARCIA et al., 2004).

Os operários dessa espécie são pequenos e seus soldados dimórficos (Matews, 1977; Constantino, 2000). Os ninhos de *H. tenuis* são difusos e formados por um conjunto de pequenas câmaras e galerias espalhadas em ambientes naturais, que normalmente estão conectados a troncos de árvore em decomposição (COSTA-LEONARDO, 2000).

2.2. A espécie *Cornitermes cumulans*.

C. cumulans é uma espécie de cupim nativa do Brasil, pertencente a família Termitidae, subfamília Syntermitinae. Esta é a espécie mais comum e mais bem sucedida em pastagens, culturas e cerrados do Brasil, assim como no Paraguai e Argentina (ARAÚJO, 1970; REDFORD, 1982). No Brasil, *C. cumulans* é a espécie mais frequente nas regiões sul e sudeste e no Mato Grosso do Sul (CANCELLO, 1989; FERNANDES et al., 1998), e pode ser considerada uma espécie-chave devido a sua grande abundância e impacto sobre o ambiente (REDFORD, 1982; CONSTANTINO, 2005). *C. cumulans* constrói ninhos em montículos que podem atingir um tamanho considerável, chegando até 4m de altura. Esta espécie, também já foi encontrada atacando raízes de milho e arroz, além de sementes de milho e estrume seco de boi (ARAÚJO, 1970). Os ninhos de *C. cumulans* têm formato cônico irregular, variando o tamanho e a coloração, dependendo da região onde está localizado e da idade do ninho. Na parte interna deste ninho, pode-se observar galerias grandes e de aspecto arredondado e um centro celulósico de coloração escura, de textura lisa e pouco resistente

(FERNANDES et al., 1998), onde os cupins armazenam seu alimento previamente mastigado e regurgitado, (TORALES, 1982; COSTA-LEONARDO, 2005). O alimento armazenado é moldado em uma bola compacta mesclada com grãos de solo (TORALES, 1982) e lacrado por um material fecal escuro (TORALES, 1982; COSTA-LEONARDO, 2005).

De acordo com Nogueira (1981) e Fernandes e Alves (1992) a espécie *C. cumulans* concentra grandes quantidades de matéria orgânica em suas câmaras de celulose. Negret e Redford (1982) e Canello (1989), afirmam que esses cupins alimentam-se de capim vivo ou morto. Cupins de montículos como *C. cumulans* proliferam rapidamente em áreas onde prevalece vegetação herbácea, especialmente se predominam gramíneas (FERNANDES et al., 1998). Devido à sua capacidade incomum de ingerir celulose, os térmitas são um grupo funcional dominante do Cerrado, servindo de alimento para uma fauna extremamente diversa, além serem importantes na ciclagem de nutrientes e formação do solo (CONSTANTINO, 2005). A conversão de cerrados em pastagens pode levar a grandes infestações de cupins que passam a ser considerados como pragas (FERNANDES et al., 1998; CONSTANTINO, 2005). Nos pastos os cupins de montículos são conhecidos já que seus ninhos conferem um aspecto de abandono e desleixo, diminuindo o valor das propriedades. Além disso, os montículos dificultam o tráfego de máquinas agrícolas prejudicando o manejo da área. Existe ainda uma possibilidade teórica, de que os cupins venham a afetar o desenvolvimento da pastagem, diminuindo seu potencial produtivo (BERTI FILHO; FONTES, 1995). Mesmo com um grande número de cupins nas áreas de pastagens, seus hábitos alimentares são ainda pouco conhecidos (SANTOS et al., 1996).

2.3. Alimentação e dietas artificiais

O alimento dos cupins é um alimento pobre do ponto de vista nutricional, uma vez que ele é rico em carbono e hidrogênio, mas faltam componentes essenciais como o nitrogênio (WALLER; LA FAGE, 1987). Uma maneira dos cupins ajustarem a taxa de carbono e nitrogênio é escolherem entre as fontes alimentares disponíveis aquelas que contenham mais nutrientes, de maneira que estes insetos possam adquirir mais nitrogênio e outros compostos essenciais via dieta (TRANIELLO; LEUTHOLD, 2000). Existem evidências de que a alimentação dos cupins está relacionada com a qualidade do alimento e que os cupins forrageiam seletivamente entre vários itens alimentares (WALLER; LA FAGE, 1987; LENZ, 1994).

A manutenção de insetos no laboratório envolve a produção de dietas artificiais para a nutrição e desenvolvimento destes organismos. Para um bom desenvolvimento de um sistema de criação *in vitro* de um inseto é necessária a utilização de dietas artificiais (CÔNSOLI; PARRA, 2002). A composição ideal de uma dieta artificial pode ser encontrada a partir da adição aleatória de produtos que forneçam todos os elementos necessários ao crescimento e desenvolvimento dos insetos, tais como aminoácidos, carboidratos, lipídeos, esteróis, vitaminas e sais minerais (CÔNSOLI; PARRA, 2002). Contudo, alguns insetos têm suas peculiaridades, como é o caso dos cupins. Dietas artificiais exclusivamente celulósicas foram utilizadas por Cleveland (1925) e Hungate (1941) na manutenção em laboratório do cupim *Zootermopsis* sp. Estes autores utilizaram como celulose “pura” o papel filtro, dieta na qual faltam alguns nutrientes essenciais para uma manutenção saudável dos cupins para estudos laboratoriais.

Mais tarde, Cook e Scott (1933) concluíram que *Zootermopsis angusticollis* requer carboidratos, proteínas, sais e vitaminas do tipo A, B, C e riboflavina como base de sua dieta. Contudo, os estudos destes autores envolveram um período de apenas 37 dias, que é um intervalo muito curto para conclusões adequadas sobre a nutrição do referido cupim.

Posteriormente, Mauldin e Rich (1975) testaram 16 dietas artificiais para *Reticulitermes flavipes* e *Coptotermes formosanus*, e observaram que a dieta mais adequada foi a que continha α -celulose, água, esterol e o fungicida metil-*p*-hidroxibenzoato. Estes estudos também mostraram que a sobrevivência e a reprodução de *R. flavipes* foram maiores com uma dieta constituída por celulose do que com uma dieta constituída por blocos de *Pinus*. Além disso, em algumas dietas houve contaminação por microorganismos e os sais utilizados não foram bons componentes.

O uso de dietas artificiais apropriadas tem auxiliado os pesquisadores na manutenção de insetos saudáveis em condições laboratoriais. Contudo, a mortalidade de cupins sob condições de laboratório é frequentemente causada pelo desenvolvimento de fungos. Esses patógenos estão naturalmente presentes nas colônias de cupins, mas são mantidos sob controle por um mecanismo de proteção existente nas mesmas. Na natureza, uma colônia de cupins subterrâneos é constituída por milhares de indivíduos e um mecanismo usado para a proteção contra patógenos é a produção do naftaleno, que atua como um defensivo químico no ninho desses insetos (CHEN; HENDERSON, 1998). Por isso, Morales-Ramos e Rojas (2005) sugerem que a adição de fungicidas em dietas artificiais deve aumentar a sobrevivência dos indivíduos. 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 tempo prolongado.

Morales-Ramos e Rojas (2003, 2005) analisaram o valor nutricional e a preferência de espécies de madeira pelo cupim *C. formosanus* e constataram que o alimento tem um efeito significativo no crescimento das colônias e na sobrevivência da progênie. Isto é evidenciado pelas diferentes espécies de madeiras e por seus diferentes valores nutricionais que são fornecidos para os cupins. Diferenças na qualidade nutricional do alimento podem ser resultantes da presença de nutrientes essenciais em grandes quantidades ou devido a redução da concentração de substâncias químicas que são deletérias aos cupins (MORALES-RAMOS; ROJAS, 2003). De acordo com Morales-Ramos e Rojas (2007), a inclusão de um lipídeo, como a lecitina de soja, na dieta de *C. formosanus* aumentou o crescimento das colônias e a fecundidade da rainha.

Uma dieta artificial que está corretamente formulada possui propriedades físicas e contém produtos químicos que estimulam e mantêm a alimentação, com nutrientes essenciais e não essenciais em proporções balanceadas para produzir um ótimo desenvolvimento dos insetos. Além disso, deve ser livre de microrganismos contaminantes (PARRA, 2002). Um dos principais objetivos do desenvolvimento de uma dieta artificial, além da simplificação e barateamento do processo de produção é ampliar os conhecimentos sobre a fisiologia do inseto, principalmente quanto as suas exigências nutricionais (MAGRO; PARRA, 2002). Só com uma nutrição apropriada serão possíveis futuros estudos biológicos e manejo adequado dos cupins em laboratório. Em estudo desenvolvido previamente, foi encontrado que o aditivo: trealose 3% + uréia 1,5%, foi o fago-estimulante mais adequado para a sobrevivência de *H. tenuis* e por isso, ele foi utilizado na dieta 5 do presente trabalho (HAIFIG; COSTA-LEONARDO, 2008).

Os cupins podem ser pragas de sistemas agrícolas, como plantações de cana-de-açúcar, milho e arroz; de sistemas florestais como florestas de eucalipto e *Pinus*, pragas urbanas em construções, além de ser pragas em pastagens (BERTI FILHO; FONTES, 1995). O atual manejo de cupins subterrâneos, caso de *H. tenuis*, requer a ingestão de inseticidas ou hormônios que são distribuídos para os insetos via alimentação por meio de iscas celulósicas. O substrato da isca tem que ser constituído de um material celulósico que forneça uma dieta agradável e palatável aos cupins. Por isso, estudos com dieta são importantes principalmente porque não existem dados na literatura sobre este tópico para os cupins nativos. Como *H.*

tenuis é um cupim nativo que causa um prejuízo muito grande em áreas de cana-de-açúcar no Brasil, diferentes estudos são necessários para o manejo desses cupins subterrâneos.

No Estado de São Paulo, *H. tenuis* constitui uma das mais frequentes pragas nas culturas de cana-de-açúcar (ARRIGONI et al., 1989). Os danos causados por cupins provocam perda média de 10 toneladas de cana por hectare a cada colheita (NOVARETTI, 1985), sendo que cerca de R\$ 1.086,00/ha são gastos no controle de *H. tenuis* em meio agrícola (GARCIA et al., 2004). Portanto, um estudo envolvendo uma dieta artificial para manutenção dessa espécie em laboratório é de extrema importância. Além disso, o hábito críptico dos cupins dificulta o estudo da biologia das espécies e a manutenção em laboratório propicia estudos básicos, principalmente estudos referentes a sua reprodução.

O grande número das populações dos cupins de montículos e pelo fato de alguns autores considerarem *C. cumulans* como pragas de pastagens (GALLO et al., 1970), embora esta espécie também seja mencionada de ocorrência em cana-de-açúcar (ARRIGONI et al., 1989), estes foram alguns parâmetros para a escolha da espécie em questão. Outra razão, é que apesar de ser uma espécie bastante comum na região de Rio Claro, sua manutenção no laboratório por longos períodos é bastante difícil, principalmente, quando se leva em consideração a dieta. Isto, porque este inseto se alimenta de gramíneas “in situ”, mas depois regurgita e armazena este alimento no ninho (TORALES, 1982; COSTA-LEONARDO, 2005). Adicionalmente, *H. tenuis* é um cupim inferior que possui protozoários simbiotes no intestino inferior o que não ocorre com *C. cumulans*. Portanto, a fisiologia da digestão deve ser diferente entre estas duas espécies (OHKUMA, 2008), o que deve requerer dietas específicas.

3. OBJETIVOS

Neste projeto pretendeu-se avaliar o impacto de 5 dietas artificiais na alimentação dos cupins *H. tenuis* e *C. cumulans*, visando selecionar uma dieta adequada para manutenção destas espécies no laboratório. Além disso, também foi observada a facilidade de contaminação das diferentes dietas por fungos e bactérias.

4. MATERIAL E METÓDOS

4.1. Insetos

Cupins forrageiros de *Heterotermes tenuis* Hagen, 1858, utilizados nos experimentos, foram capturados em armadilhas confeccionadas com papelão corrugado enrolado e envolvido por embalagens plásticas descartáveis de refrigerantes (FIGURAS 1A e 1B). As armadilhas juntamente com estacas de *Pinus* sp., foram colocadas no território de forrageamento de colônias localizadas no campus da UNESP em Rio Claro (SP) (FIGURAS 1C e 1D), cujas coordenadas GPS estão dispostas na tabela 1. Operários e soldados de *Cornitermes cumulans* (Kollar) utilizados nos experimentos foram provenientes de um ninho coletado no campus da UNESP em Rio Claro (SP) (localização GPS – coordenadas x: 0238053; y: 7521444).



Figura 1 – A e B. Armadilhas confeccionadas com papelão corrugado e garrafa plástica. C e D. Armadilhas e estacas colocadas no território de forrageamento de *H. tenuis*.

Tabela 1. Relação dos Pontos de Coleta de *Heterotermes tenuis* no município de Rio Claro, SP, no período de julho de 2009 a setembro de 2010.

Pontos	Nome dos pontos	Localização (coordenadas)	Número de coletas no período	Número de armadilhas em cada ponto	Número de armadilhas infestadas
01	Banespa/UNESP	x = 0238073 y = 7521488	13	05	02
02	Barranco/UNESP	x = 0238160 y = 7521139	13	08	03
03	Biotério 1/UNESP	x = 0238156 y = 7521072	10	07	02
04	Biotério 2/UNESP	x = 0238151 y = 7521075	03	05	03
05	Jardim Experimental/UNESP	x = 0238075 y = 7521083	13	06	02
06	Pomar/UNESP	x = 0238167 y = 7521179	02	06	02
07	Tronco 1/UNESP	x = 0238139 y = 7521149	08	03	01
08	Tronco 2/UNESP	x = 0238133 y = 7521139	08	02	01
09	Tronco 3/UNESP	x = 0238152 y = 7521146	08	04	01
10	Tronco 4/UNESP	x = 0238147 y = 7521131	08	03	02
11	Tronco 5/UNESP	x = 0238140 y = 7521135	08	06	02
12	Tronco 6/UNESP	x = 0238161 y = 7521132	08	06	02
13	Tronco 7/UNESP	x = 0238154 y = 7521127	04	02	01
14	Tronco 8/UNESP	x = 0238145 y = 7521124	04	02	01
15	Tronco 9/UNESP	x = 0238127 y = 7521135	04	02	01
16	Tronco 10/UNESP	x = 0238134 y = 7521147	04	01	01
17	Tronco 11/UNESP	x = 0238176 y = 7521089	02	03	01
18	Cerca/UNESP	x = 0238227 y = 7521080	02	01	01

4.2. Bioensaios com *H. tenuis*

Para obter uma dieta que fosse adequada para a manutenção da espécie *H. tenuis* em laboratório, foram realizados 5 bioensaios testando 5 dietas diferentes (TABELA 2). Cada unidade experimental foi constituída de duas câmaras conectadas entre si, uma câmara “ninho” onde foram colocados os cupins e uma câmara “alimento”, na qual foi disposto o item alimentar. A câmara “ninho” foi representada por um recipiente plástico de 250 mL preenchido com uma matriz de areia umedecida composta por 80g de areia e 4mL de água destilada. A areia utilizada foi previamente esterilizada em estufa durante 24 horas a 70°C. A câmara “alimento” foi representada por um recipiente plástico de 145 mL que não continha areia. A conexão entre as câmaras foi feita por meio de um pequeno tubo plástico de 5,5 cm de comprimento (FIGURAS 2 A, 2 B, 3 A e 3 B). Em cada bioensaio foram utilizados 200 operários e 7 soldados forrageiros, os quais foram colocados na câmara “ninho” e mantidos sem conexão com o alimento por um período de 24 horas para aclimação. 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 (oferecida aos cupins na forma sólida de um círculo com 1,8 cm de diâmetro) e 12 experimentos controles, nos quais a câmara alimento continha apenas um círculo de madeira de *Pinus* sp., também com 1,8 cm de diâmetro e 0,1 cm de espessura. A avaliação da dieta foi realizada levando em consideração alguns itens como, 1) sobrevivência dos cupins, 2) peso dos indivíduos e 3) severidade e rapidez na contaminação por fungos e bactérias. Na primeira semana os bioensaios foram inspecionados diariamente para avaliação da contaminação e, posteriormente, duas vezes por semana, durante todo o experimento. A dieta foi substituída a cada 10 dias, sendo que nos controles foi adicionado um novo alimento quando era observado um consumo de 75% da fonte alimentar. Quatro unidades experimentais e quatro controles foram avaliados após 20, 40 e 60 dias, sendo nestes períodos, avaliado o número de indivíduos sobreviventes. Adicionalmente, 10 operários de cada unidade experimental, escolhidos ao acaso, tiveram sua massa avaliada no início e ao final de 20, 40 e 60 dias de experimento. Todos os bioensaios foram desenvolvidos em sala ambiente, com temperatura controlada ($25\pm 3^{\circ}\text{C}$).

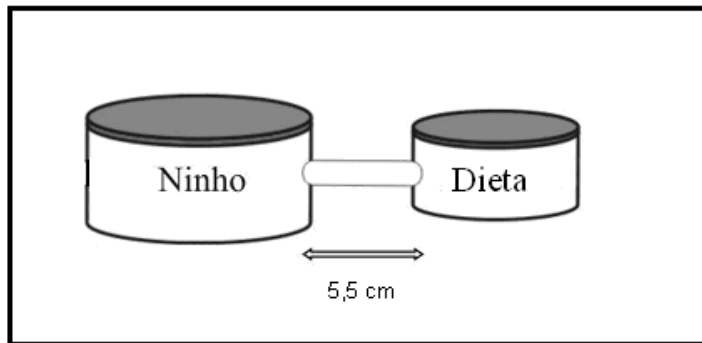


FIGURA 2 A - Esquema representando a disposição dos recipientes plásticos durante os bioensaios com dietas artificiais.



FIGURA 2 B – Disposição dos recipientes plásticos durante o desenvolvimento dos bioensaios com dietas artificiais.

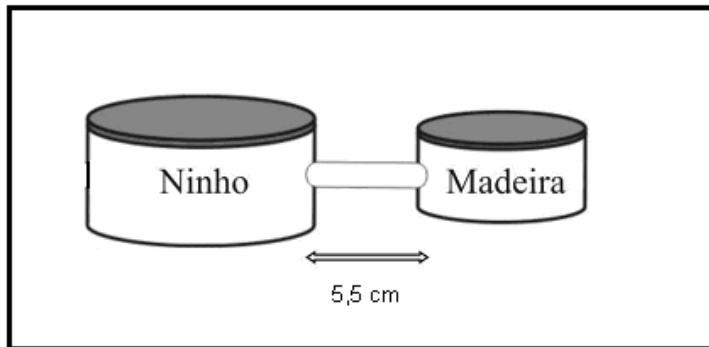


FIGURA 3 A - Esquema representando a disposição dos recipientes plásticos durante os bioensaios controles.



FIGURA 3 B - Disposição dos recipientes plásticos durante o desenvolvimento dos bioensaios controles.

Tabela 2 - Composição das dietas artificiais utilizadas nos diferentes bioensaios.

Dietas	Composição
1 (α-celulose)	10g de α -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> sp.)	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 (α-celulose + aditivos)	10g de α -celulose 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada + 7,5g de trealose + 3,75g de uréia

Os dados foram analisados estatisticamente pelo teste de variância ANOVA, seguido pelo teste *a posteriori* de Tukey, quando necessário. Se os resultados obtidos não apresentaram 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. Para todas as análises estatísticas foi adotado o nível de significância (α) igual a 0,05 (SOKAL; ROHLF, 1995).

4.3. Bioensaios com *C. cumulans*

Neste trabalho foram realizados 5 diferentes bioensaios, nos quais 5 dietas diferentes (TABELA 3) foram testadas para manutenção de *C. cumulans* em laboratório. Para cada bioensaio foram utilizadas 10 placas de Petri de 9 cm de diâmetro por 1,5 cm de altura, nas quais foram colocadas uma tampa plástica com vermiculita umedecida e uma pequena porção de solo umedecido. Além disso, foram colocados em cada placa 30 operários e 3 soldados, e como alimento a dieta artificial (FIGURAS 4 A e 4 B). Esta dieta foi oferecida aos cupins na forma de um círculo com 1,8 cm de diâmetro. Como controle foi oferecida uma porção de alimento que é armazenado pelos cupins no ninho (FIGURAS 5 A e 5 B). Todas as unidades experimentais foram colocadas dentro de um recipiente plástico tampado e mantidas em sala ambiente com temperatura controlada de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Diariamente as placas de Petri foram examinadas para verificação da sobrevivência dos insetos, sendo que os indivíduos mortos foram retirados. A avaliação da dieta foi realizada levando em consideração: 1) sobrevivência dos cupins, 2) severidade e rapidez na contaminação por fungos e bactérias. A dieta foi substituída a cada 10 dias, sendo que nos controles foi adicionado um novo alimento quando era observado um consumo de 75% da fonte alimentar.

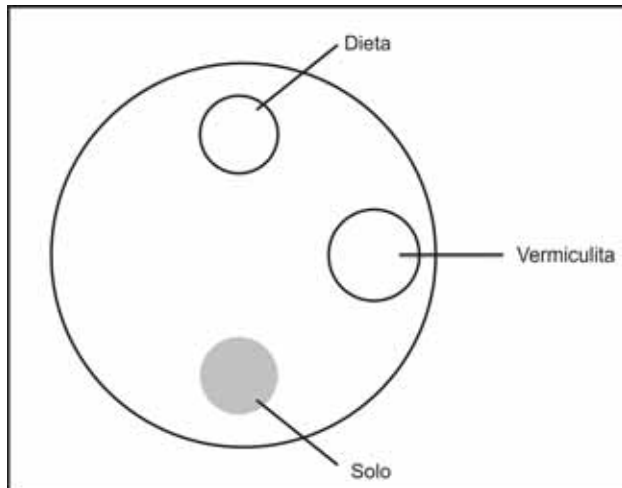


FIGURA 4 A - Esquema representando a arena utilizada para os bioensaios desenvolvidos com dietas artificiais para a espécie *C. cumulans*.



FIGURA 4 B - Fotografia de uma placa de Petri na qual estava sendo conduzido um bioensaio com dieta artificial para a espécie *C. cumulans*.

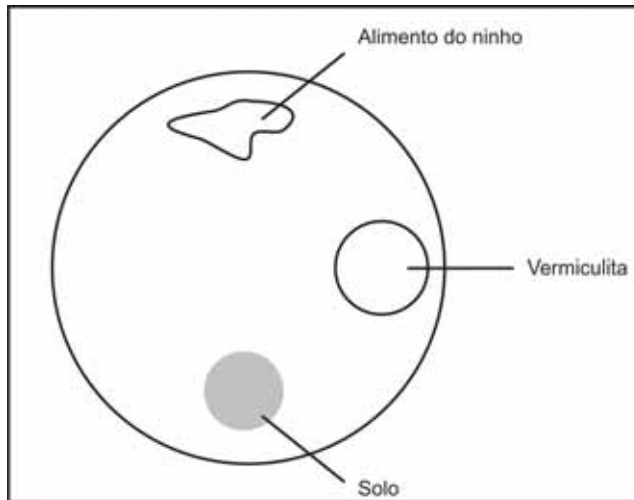


FIGURA 5 A - Esquema representando a arena utilizada para os bioensaios controles com a espécie *C. cumulans*.



FIGURA 5 B – Fotografia de uma placa Petri na qual estava sendo conduzida um experimento controle para a espécie *C. cumulans*.

Tabela 3 - Composição das dietas artificiais que foram utilizadas nos diferentes bioensaios.

Dietas	Composição
1 (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
2 (sementes de <i>Brachiaria</i> sp.)	10g de sementes de <i>Brachiaria</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 (folhas de gramínea)	10g de folhas secas de gramínea (<i>Brachiaria</i> sp.) triturada 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada
4 (α - celulose)	10g de α -celulose 5g de Agar Bacteriológico 0,25g de lecitina de soja 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de nipagin 250mL de água destilada
5 (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

Os dados obtidos nos bioensaios foram avaliados por meio da determinação de mortalidade diária dos cupins e das curvas de sobrevivência utilizando o teste não-paramétrico Log-rank, utilizando-se o software Grap-Pad (aplicativo *Prism 5*) com nível de significância de 5% (ELANDT-JOHNSON; JOHNSON, 1980).

4.4. Preparação das Dietas

A preparação das dietas que continham ingrediente orgânico (milho, cana-de-açúcar, folhas de gramínea, sementes de *Brachiaria* sp. ou serragem *Pinus* sp.) foi iniciada pela adição 5g de Agar Bacteriológico e 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. E depois, foi colocada em autoclave, onde permaneceu por 15 minutos à pressão de 1 atm e 121°C.

Posteriormente, a serragem de *Pinus* sp., ou o bagaço de cana-de-açúcar moído, ou o colmo de milho moído, ou as folhas de gramínea trituradas ou sementes de *Brachiaria* sp. foi misturados nos 150mL de água restantes. Depois a solução foi levada a autoclave, onde permaneceu por 15 minutos à pressão de 1 atm e 121°C. A mistura dos ingrediente orgânicos e água foi autoclavada em recipiente diferente daquela de Agar e lecitina de soja, devido a reação do ingrediente orgânico com o Agar, que faz com que este perca sua capacidade de se solidificar, inviabilizando desse modo, o produto dieta sólida, já que ela se tornaria líquida.

Para a preparação das dietas de α - celulose e α - celulose + aditivos, que não reagiam com o Agar, 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. 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, que continham ingrediente orgânico e água, foram adicionadas à mistura de Agar, lecitina de soja e restante da água, e, só depois de misturados, tiveram a adição de 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de Nipagin. As misturas foram vertidas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro, as quais foram previamente esterilizadas em autoclave embrulhadas em papel, nas mesmas condições de pressão e temperatura que as misturas. Para as dietas sem ingrediente orgânico, α - celulose e α - celulose + aditivos, a mistura que já estava com todos os ingredientes teve a adição de 0,5mL de solução alcoólica 0,005% de Nipagin, e só posteriormente colocadas em placas de Petri de 9 cm de diâmetro esterilizadas.

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

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. *Heterotermes tenuis*

A análise dos dados mostrou que houve diferença significativa na sobrevivência dos cupins entre os grupos controle e tratamentos aos 20 e aos 40 dias de experimentação ($P = 0,0066$; $H = 25,9621$; Kruskal-Wallis). Após 20 dias, não houve diferença significativa na sobrevivência dos forrageiros de *H. tenuis* entre o grupo controle e as diferentes dietas testadas, que foram: cana-de-açúcar, serragem de *Pinus* sp., colmo de milho moído, α - celulose, α - celulose + uréia + trealose. Durante esse período, a diferença também não foi significativa entre as 5 dietas testadas ($P > 0,05$; Student-Newman-Keuls) (FIGURA 6). Já aos 40 dias de experimentação, não houve diferença significativa entre o grupo controle e as dietas de serragem de *Pinus* sp., colmo de milho moído, α - celulose e α - celulose + trealose + uréia. Contudo, a diferença na sobrevivência foi significativa entre o controle e a dieta de cana-de-açúcar, sendo maior na dieta ($P = 0,0384$; Student-Newman-Keuls). Além disso, os resultados também mostraram uma diferença significativa entre a dieta de cana-de-açúcar e as dietas de serragem de *Pinus* sp. ($P = 0,0384$; Student-Newman-Keuls), de colmo de milho moído ($P = 0,0384$; Student-Newman-Keuls) e de α - celulose + trealose + uréia ($P = 0,0384$; Student-Newman-Keuls). Entre a dieta de cana-de-açúcar e a dieta de α - celulose não houve diferença significativa ($P > 0,05$; Student-Newman-Keuls) neste período.

A diferença foi significativa entre os grupos com 20 e 40 dias de experimentação no controle ($P = 0,0208$; Student-Newman-Keuls), na dieta de *Pinus* sp. ($P = 0,0093$; Student Newman-Keuls), e na dieta α - celulose + trealose + uréia ($P = 0,0447$; Student Newman-Keuls), sendo a sobrevivência maior para os grupos com 20 dias (FIGURA 6).

A sobrevivência na dieta de α - celulose não apresentou diferença estatística quando comparada ao controle e às dietas de *Pinus* sp., milho e α - celulose + aditivos, mesmo mostrando uma sobrevivência aparentemente maior (FIGURA 6). Isso ocorreu porque os forrageiros de *H. tenuis* sobreviveram até os 40 dias somente em duas das quatro repetições do experimento com essa dieta, ao contrário da dieta de cana-de-açúcar que manteve a

sobrevivência dos cupins nas quatro repetições durante os 40 dias de experimentação, apresentando assim uma diferença significativa com o controle e com as dietas de *Pinus* sp., milho e α – celulose + aditivos.

Os resultados mostraram que ocorreu uma maior mortalidade dos indivíduos nas unidades experimentais com a dieta de α – celulose aos 20 dias do que aos 40 dias. Essa diferença pode ser explicada pelo uso de diferentes colônias de *H. tenuis* para a montagem dos experimentos, já que diferentes colônias podem apresentar vigor diferente (LENZ; BARRETT, 1984). Além disso, os agrupamentos utilizados nos bioensaios são compostos por operários e soldados forrageiros de diferentes ínstares, os quais são escolhidos aleatoriamente para cada unidade experimental. Operários de ínstares mais avançados podem ter sido utilizados em uma proporção mais alta em algumas das repetições. Esses indivíduos podem apresentar um tempo de vida menor, o que explicaria a mortalidade das unidades experimentais.

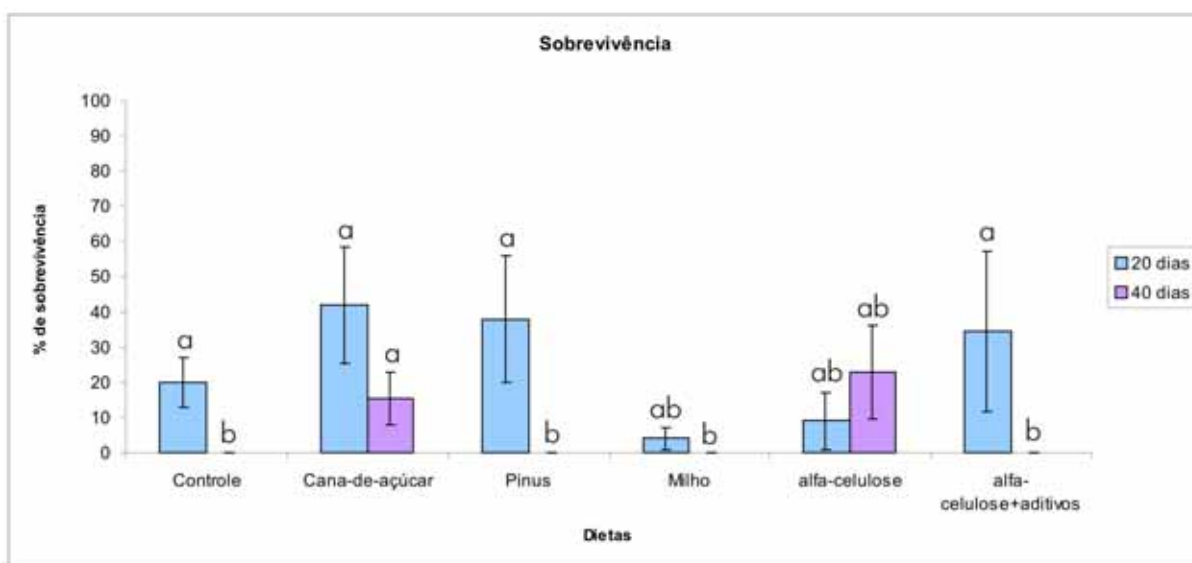


FIGURA 6 - Sobrevivência dos forrageiros aos 20 e 40 dias do período experimental. Letras iguais não diferem estatisticamente.

A massa dos operários não foi analisada estatisticamente, uma vez que os operários e soldados do controle e dos tratamentos com a dieta de *Pinus* sp., de colmo de milho e α - celulose + aditivos (trealose + uréia) morreram antes de completar os 40 dias de experimentação. Os indivíduos sobreviveram após 40 dias somente com as dietas de cana-de-açúcar e α - celulose.

Ao final de 20 dias de experimentação, os operários do grupo controle e dos grupos de *Pinus* sp., de milho, de α - celulose e de α - celulose + aditivos mostraram uma redução na massa corporal (FIGURA 7).

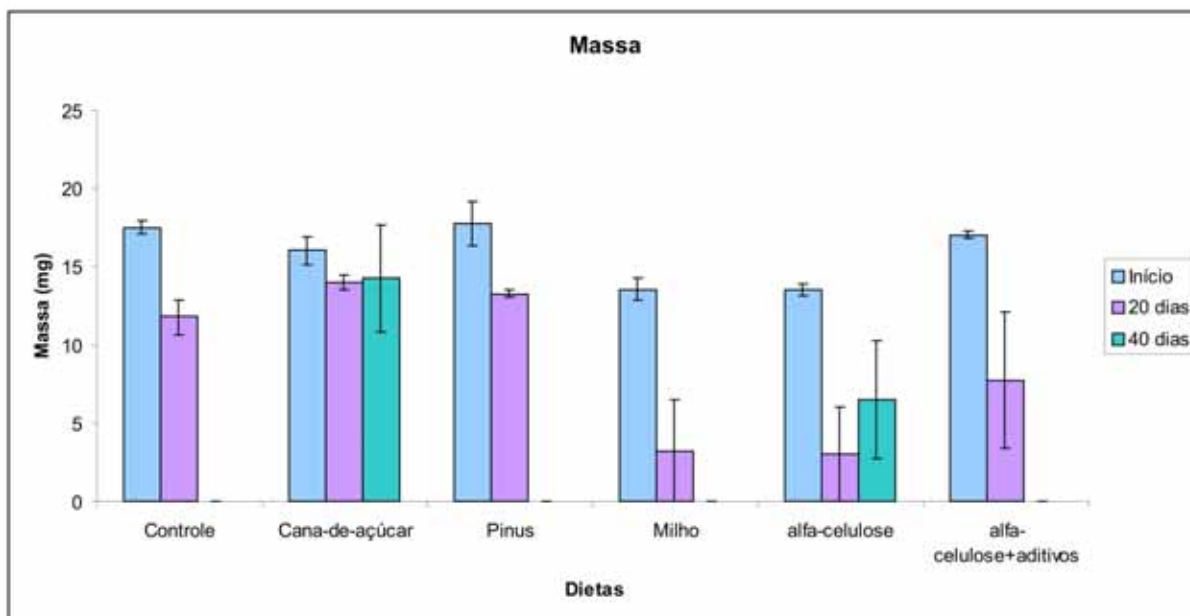


FIGURA 7 - Massa média de 10 operários no início e após 20 e 40 dias de experimentação.

Na dieta de cana-de-açúcar, os operários tiveram uma redução na massa corporal em três das quatro repetições e em apenas uma ganharam massa aos 20 dias. Aos 40 dias, os cupins sobreviveram em somente três repetições, nas quais houve ganho de massa dos operários em uma (TABELA 4).

A comparação entre os operários que perderam massa nos diferentes bioensaios mostrou que essa perda foi menor quando eles se alimentaram com a dieta de cana-de-açúcar do que com a dieta de *Pinus* sp. e o alimento controle (FIGURA 7). Os operários dos bioensaios com a dieta de α - celulose perderam mais massa após os 20 dias de experimentação quando comparados àqueles após 40 dias, uma vez que ocorreu uma maior mortalidade dos indivíduos nas unidades experimentais aos 20 dias do que aos 40 dias. As dietas apresentaram pouca contaminação por fungos e bactérias durante o período experimental, sendo que a presença de alguns microorganismos é um fator que pareceu não ter influenciado a sobrevivência dos indivíduos.

Tabela 4 – Diferença entre a massa do início e após 20 e 40 dias de experimentação, nos grupos controle e tratamentos.

Diferença de massa dos operários		
	20 dias	40 dias
Controle	-6,2 mg	
	-9,1 mg	
	-4,9 mg	
	-3,4 mg	
Dieta 1 (cana-de-açúcar)	-7,5 mg	-1,9 mg
	-3,5 mg	
	-2,7 mg	-1,6 mg
	+0,2 mg	+ 2,2 mg
Dieta 2 (<i>Pinus</i> sp.)	-8,8 mg	
	-4,5 mg	
	-2,5 mg	
	-2,5 mg	
Dieta 3 (milho)	-0,2 mg	
Dieta 4 (α - celulose)	1,8 mg	-1,4 mg
		-2,4 mg
Dieta 5 (α - celulose + aditivos)	-1,4 mg	
	-1,4 mg	

Os resultados obtidos no presente estudo permitiram a indicação de uma dieta mais adequada para manter a espécie *H. tenuis* em laboratório. A dieta de cana-de-açúcar foi a que se mostrou mais promissora, uma vez que mostrou uma sobrevivência maior da espécie, do que as outras dietas utilizadas, e até do controle.

5.2. *Cornitermes cumulans*

Os resultados obtidos após 40 dias de experimento mostraram que a sobrevivência dos cupins foi de quase 95% para o controle (alimento armazenado no ninho), de 89% para o

bioensaio com a dieta 4 (α - celulose), de 86% para o bioensaio com a dieta 5 (colmo de milho moído) e de 82,5% para o bioensaio com a dieta 1 (bagaço de cana-de-açúcar moído). Para a dieta elaborada com sementes de *Brachiaria* sp. (dieta 2) a mortalidade foi de 100% após 29 dias de experimentação e para a dieta elaborada com folhas secas de gramínea triturada (dieta 3) a mortalidade foi de 100% após 34 dias de experimentação.

A análise estatística da curva de sobrevivência mostrou que a dieta mais apropriada para manter a espécie *C. cumulans* em laboratório foi a de α - celulose, pois com essa dieta os indivíduos sobreviveram por mais tempo que as outras, a segunda dieta mais adequada foi a elaborada com colmo de milho moído e a terceira dieta mais adequada foi a elaborada com bagaço de cana-de-açúcar. De acordo com o teste log-rank, os valores de qui-quadrado (χ^2) para cada curva de sobrevivência testada foram: 25,07 e $p < 0,0001$ (cana-de-açúcar); 720,9 e $p < 0,0001$ (sementes de *Brachiaria* sp.); 717,8 e $p < 0,0001$ (folhas secas de gramínea); 6,923 e $p = 0,0085$ (α - celulose); 14,80 e $p = 0,0001$ (colmo de milho moído) (TABELA 5). Todas as curvas de sobrevivência foram significativamente diferentes em relação ao controle (FIGURA 8).

Tabela 5 – Mediana de sobrevivência (S_{50}) em dias, e Log Rank test (χ^2) para *C. cumulans* submetido a diferentes dietas.

	S_{50}	χ^2	Probabilidade
Controle	Indefinida		
Dieta 1 (cana-de-açúcar)	Indefinida	25,07	$p < 0,0001$
Dieta 2 (sementes de <i>Brachiaria</i> sp.)	21	720,9	$p < 0,0001$
Dieta 3 (folhas de gramínea)	21,5	717,8	$p < 0,0001$
Dieta 4 (α - celulose)	Indefinida	6,923	$p = 0,0085$
Dieta 5 (milho)	Indefinida	14,80	$p = 0,0001$

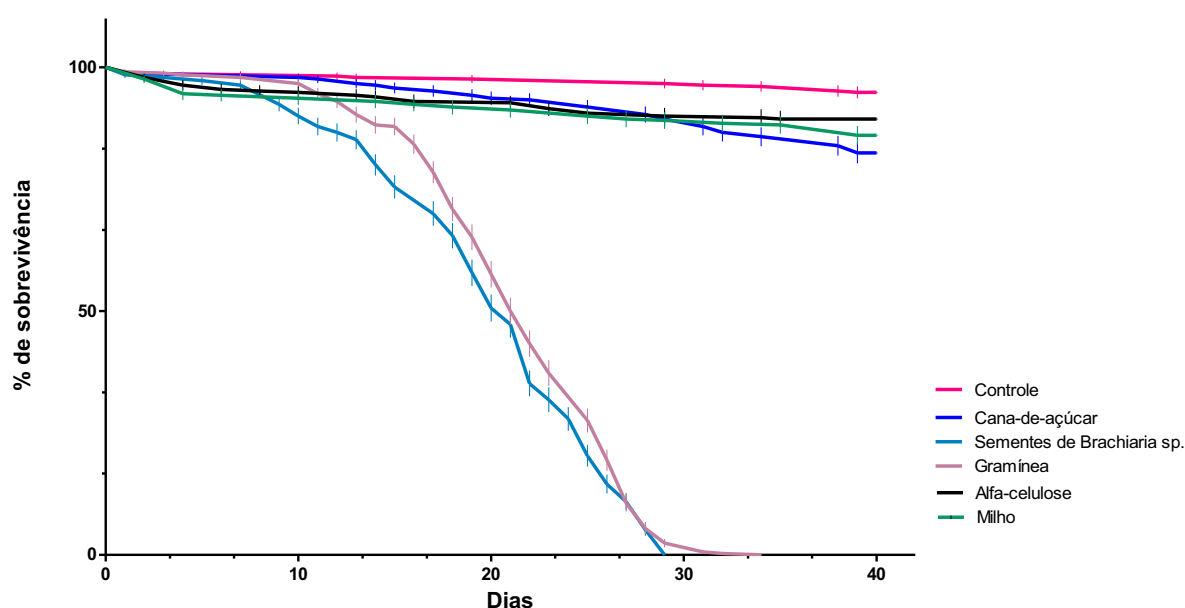


FIGURA 8 – Curva de sobrevivência dos forrageiros de *C. cumulans* (n = 330) no controle e submetidos as diferentes dietas.

A sobrevivência mediana é calculada para 50% da população, ou seja, é dado um valor de dias em que metade dos indivíduos morreu durante o período de experimentação. Nos bioensaios controle, dietas de cana-de-açúcar, α - celulose e milho a sobrevivência mediana foi indefinida, indicando que após 40 dias de experimentação para esses bioensaios não houve uma redução de 50% no número de indivíduos de *C. cumulans*. Para os bioensaios com a dieta de sementes de *Brachiaria* sp. e de folhas secas de gramínea os valores da sobrevivência mediana foram respectivamente 21 e 21,5 dias, ou seja, metade dos indivíduos morreu depois desse número de dias de experimentação com esses dois tipos de dieta. (TABELA 5).

Alguns estudos sobre a preferência alimentar de *C. cumulans* mostram que os alimentos preferidos por esta espécie são aqueles ricos em celulose. Fernandes e Alves (1992) realizaram estudos sobre a escolha do alimento desta espécie em laboratório e a preferência foi: toletes de cana-de-açúcar, sementes de *Brachiaria* sp., sementes de milho secas ou gramíneas, e folhas secas de grama. Contudo, os autores só avaliaram os materiais preferencialmente levados para o ninho. Mais tarde, utilizando a mesma metodologia Fernandes et al. (1998) concluíram que entre 25 tipos de materiais os preferidos para a espécie foram bagacilho seco de cana-de-açúcar e cevada + arroz moídos e o material menos carregado por *C. cumulans* foi as folhas secas de *Brachiaria* sp. Santos et al. (1996)

analisaram a preferência alimentar de sete variedades de cana-de-açúcar e concluíram que a espécie *C. cumulans* atacou 3 dos 7 tipos de cana.

Para este trabalho foram testadas dietas elaboradas com materiais descritos como os mais consumidos em estudos de preferência alimentar. Todas as dietas oferecidas nos experimentos foram inicialmente marcadas com fezes e solo, e só posteriormente consumidas pelos cupins (FIGURAS 9 A, 9 B, 9 C e 9 D). Apesar de todas as dietas terem sido consumidas sem distinção, os resultados de curva de sobrevivência mostraram que algumas dessas dietas foram mais eficientes para manter a espécie em laboratório, pois permitiram que os insetos vivessem por um período maior. A dieta elaborada com cana-de-açúcar foi a terceira melhor com 82,5% de sobrevivência após 40 dias, um dos alimentos isolados, apontados como preferido em estudos comportamentais desenvolvidos por outros autores. Alimentos como a gramínea e sementes de *Brachiaria* sp, não foram as dietas mais adequadas, já que os cupins morreram antes de completar os 40 dias de experimentação. Estes resultados corroboram com aqueles encontrados por Fernandes et al. (1998), os quais mostraram que folhas secas foram as menos carregadas em laboratório. Esse fato pode ter ocorrido devido tanto a fatores extrínsecos como intrínsecos, ou seja, do próprio comportamento dos cupins ou da alteração dos componentes presentes nas dietas após a mistura.

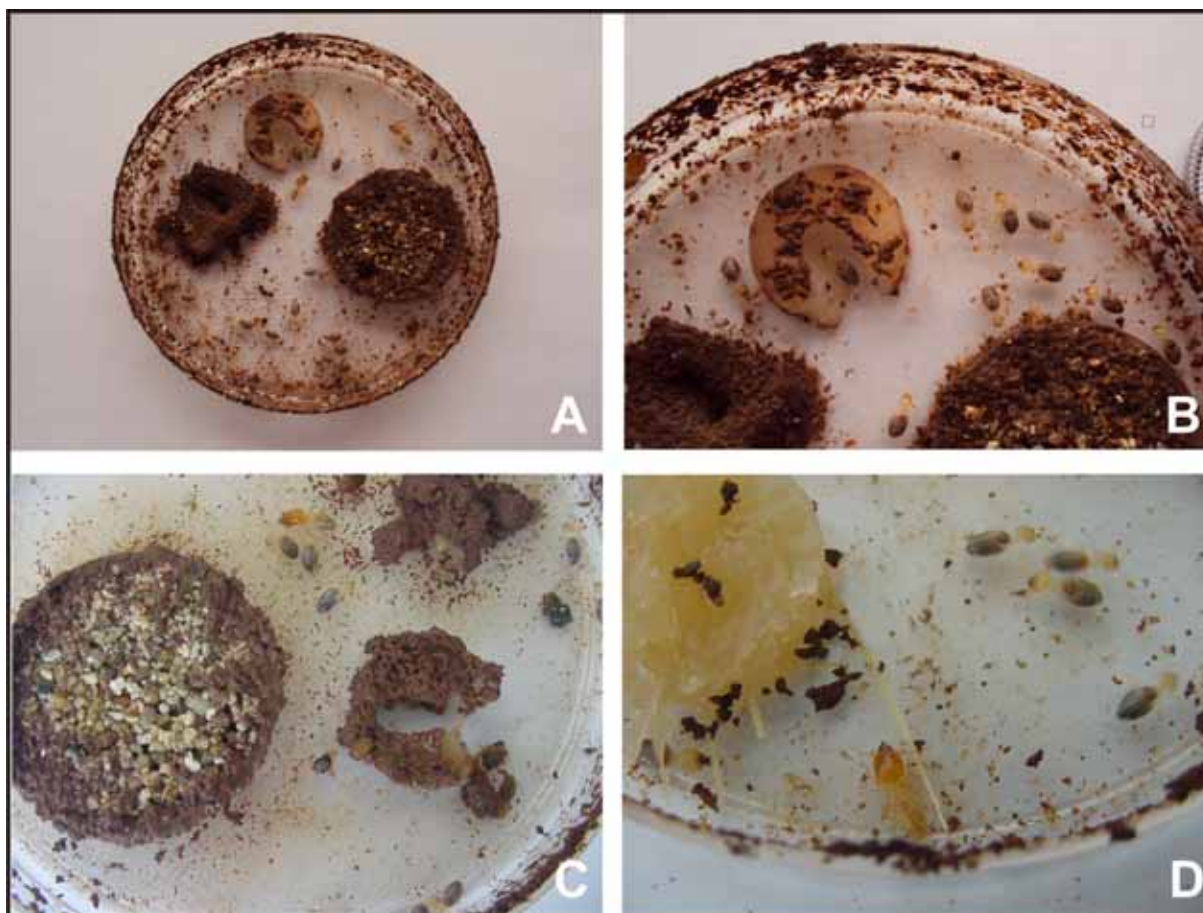


Figura 9 – A. Placa utilizada no bioensaio com a dieta de α - celulose (dieta que teve maior sobrevivência dos indivíduos). B. Detalhe da dieta de α - celulose mostrando as marcações de fezes e solo, além da parte já consumida. C. Placa utilizada no bioensaio com sementes de *Brachiaria* sp. (dieta que teve a maior mortalidade dos indivíduos), com marcações de fezes e solo, além das partes consumidas. D. Placa utilizada no bioensaio com a dieta de cana-de-açúcar mostrando as primeiras marcações de fezes ou solo feitas pelos operários.

A dieta mais apropriada para a manutenção da espécie *C. cumulans* foi a elaborada com α - celulose, já que os indivíduos sobreviveram por mais tempo consumindo esse tipo de alimento. Mesmo após o período de 40 dias de experimentação, os cupins ainda sobreviveram por mais 50 dias em laboratório, consumindo somente a dieta confeccionada com α - celulose. Em contrapartida, os insetos mantidos em placas de Petri com o alimento que eles armazenam no núcleo do ninho (experimentos controles) sobreviveram por mais 120 dias em laboratório. Adicionalmente, o desenvolvimento dos bioensaios utilizando placas de Petri foi bastante interessante, já que permitiu o cálculo da mortalidade diária, o que favoreceu a comparação entre as dietas.

6. CONCLUSÕES

- A dieta de cana-de-açúcar mostrou-se a mais adequada para a manutenção de *H. tenuis*, já que foi a única que manteve em todas as repetições, os cupins vivos até 40 dias. Além disso, com a dieta de cana-de-açúcar os operários de *H. tenuis* tiveram uma perda de massa menor quando comparada às outras 4 dietas e ao controle.

- A dieta mais adequada para a manutenção da espécie *C. cumulans* em laboratório, foi a de α – celulose, que manteve quase 90 % dos forrageiros vivos até os 40 dias de experimentação.

- Não houve contaminação relevante de fungos e bactérias durante o período experimental.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, J. E. M.; ALVES, S. B.; MOINO JR., A.; LOPES, R. B. Controle do cupim subterrâneo *Heterotermes tenuis* (Hagen) com iscas Termitrap® impregnadas com inseticidas e associadas ao fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 639-644, 1998.

ARAÚJO, R. L. Termites of the neotropical region. In: KRISHNA, K; WEESNER, F. M. (eds). **Biology of termites**, v. 2, New York: Academic Press, pp. 527-571, 1970.

ARRIGONI, E. B.; ALMEIDA, L. C.; KASTEN JR. P.; PRECETTI, A. A. C. M. Distribuição de espécies de cupins, em cana-de-açúcar, em unidades cooperadas das regiões de Jaú e Sertãozinho. **Boletim Técnico Coopersucar**. v. 48, p. 38-47, 1989.

BERTI FILHO, E.; FONTES, L.R. **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**. São Paulo: FEALQ, 1995, 183 p.

CANCELLO, E. M. **Revisão de *Cornitermes* Wasmann (Isoptera, Termitidae, Nasutitermitidae)**. Tese de doutorado, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989, 136p.

CHEN, J.; HENDERSON, G. Naphthalene in Formosan subterranean termite carton nests. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 2337-2339, 1998.

CLEVELAND, L. R. The ability of termites to live perhaps indefinitely on a diet of pure cellulose. **Biological Bulletin**, v. 48, p. 289-293, 1925.

CONSÓLI, F. L.; PARRA, J. R. P. Criação *in vitro* de parasitóides e predadores. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.) **Controle Biológico no Brasil Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002, pp. 239-275.

CONSTANTINO, R. Key to the soldiers of South American *Heterotermes* with a new species from Brazil (Isoptera: Rhinotermitidae). **Insect Systematics Evolution**, v. 31, n. 4, p.463-472, 2000.

CONSTANTINO, R. Padrões de diversidade e endemismo de térmitas no bioma cerrado. In SCARIOT, A.O.; SILVA, J.C.S.; FELFILI, J.M. (eds.). **Biodiversidade, ecologia e conservação do cerrado**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2005, pp. 319-333.

CONSTANTINO, R. 2010. On-Line Termites Database. (Disponível em: <http://www.unb.br/ib/zoo/docente/constant/catal/catnew.html>). Acesso em: 5. set. 2010.

COOK, S. F.; SCOTT, K. G. The nutritional requirements of *Zootermopsis* (*Termopsis*) *angusticollis*. **Journal of Cellular and Comparative Physiology**, v. 4, p. 95-110, 1933.

COSTA-LEONARDO, A. M. Cupins urbanos: conhecer para combater. **Ciência Hoje**, v. 28, n. 165, p. 74-77, 2000.

COSTA-LEONARDO, A. M. **Cupins-praga: morfologia, biologia e controle**. Rio Claro, Ana Maria Costa-Leonardo (Ed.), 2002, 128p.

COSTA-LEONARDO, A. M. Arquitetos das pastagens e beiras de estradas. **Ciência Hoje**, v. 36, n. 216, p. 62-65, 2005.

ELANDT-JOHSON, R.; JOHSON, N.L. Survival models and data analysis. New York: John Wiley, 1980. 480 p.

FERNANDES, P. M.; ALVES, S. B. Preferência alimentar de *Cornitermes cumulans* (Kollar, 1832) (Isoptera – Termitidae) as plantas cultivadas, em laboratório. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 21, n. 2, p 125-132, 1992.

FERNANDES, P. M.; CZEPAK, C.; VELOSO, V. R. S. Cupins de montículos em pastagens: prejuízo real ou praga estética? In: FONTES, L.R.; BERTI FILHO, E. **Cupins: o desafio do conhecimento**. Piracicaba: FEALQ, 1998, pp. 187-210

GALLO, D.; NAKANO, O.; WIE, F.M. **Manual de Entomologia**. São Paul : Ceres, 1970, 858 p.

GARCIA, J. F.; MACEDO, L. P. M.; BOTELHO, P. S. M. Inimigo ao pé. **Cultivar Grandes Culturas**, Pelotas, n. 67, ano V, p. 18-26, 2004.

GRASSÉ, P.P. 1949. Ordre des Isoptères ou termites. In: Grassé P. P. (ed.). **Traité de zoologie**. Paris: Masson, v. 9, p.408-544.

GRASSÉ, P.P. **Termitologia: Comportement, socialité, écologie, évolution, systématique**. Tome III, Paris: Masson, 1986, 715 p.

HUNGATE, R. E. Experiments on the nitrogen economy of termites. **Annals of the Entomological Society of America**, v. 34, p. 467-489, 1941.

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

LENZ, M.; BARRETT, R. A.; WILLIAMS, E. R. Implications for comparability of laboratory experiments revealed in studies on the effects of population density on vigour in *Coptotermes lacteus* (Froggatt) and *Nasutitermes exitiosus* (Hill) (Isoptera: Rhinotermitidae & Termitidae). **Bulletin of Entomological Research**, v. 74, p. 477-485, 1984.

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.

LIMA, J. T.; COSTA-LEONARDO, A. M. Recursos alimentares explorados pelos cupins (Insecta: Isoptera). **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 243-250, 2007.

MAGRO, S. R.; PARRA, J. R. P. Criação *in vitro* de *Bracon hebetor*. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.) **Controle Biológico no Brasil Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002, pp. 277-293.

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

MAULDIN, J. K.; RICH, N. M. Rearing two subterranean termites. *Reticulitermes flavipes* and *Coptotermes formosanus*, on artificial diets. **Annals of the Entomological Society of America** v. 68, n.3, p. 454-456, 1975

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G. Nutritional ecology of the Formosan subterranean termite (Isoptera, Rhinotermitidae): growth and survival of incipient colonies feeding on preferred Wood species. **Journal of Economic Entomology**, v. 96, n. 1, p.106-116, 2003.

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G. Testing methods for improving survival of incipient colonies of *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae) for laboratory comparisons. **Sociobiology**, v. 46, n. 2, p. 375-384, 2005

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G. Importance of lipids for queen fecundity and colony growth of *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Environmental Entomology**, v. 36, n. 5, p. 1014-1017, 2007.

NOGUEIRA, S. B. **Os cupins**. Viçosa: UFV. Imprensa Universitária, 1981, 27p.

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

NOVARETTI, W. R. T. Controle de cupins em cana-de-açúcar através do emprego de inseticidas de solo, **Boletim Técnico Coopersucar**, São Paulo, v. 33, p. 39-44, 1985.

OHKUMA, M. Symbioses of flagellates and prokaryotes in the gut of lower termites. **Trends in Microbiology**, v.16, n.7, 345- 352, 2008.

PARRA, J. R. P. Criação massal de inimigos naturais. In: PARRA, J. R. P.; BOTELHO, P. S. M.; CORRÊA-FERREIRA, B. S.; BENTO, J. M. S. (eds.) **Controle Biológico no Brasil Parasitóides e Predadores**. São Paulo: Manole, 2002, pp. 143-164.

PIZANO, M. A.; FONTES L. R. Ocorrência de *Heterotermes tenuis* (Hagen, 1858) e *Heterotermes longiceps* (Snyder, 1924) (Isoptera, Rhinotermitidae) atacando cana-de-açúcar no Brasil. **Brasil Açucareiro**, Rio de Janeiro, v.104, n. 3/4, p. 29, 1986.

REDFORD, K. H. The termitaria of *Cornitermes cumulans* (Isoptera, Termitidae) and their role in determining a potential keystone species. **Biotropica**, v. 16, n. 2, p. 112 -119, 1984.

SANTOS, M. M.; LIMA, S. O.; FERNANDES, P. M. Preferência alimentar de *Cornitermes cumulans* e *Cornitermes snyderi* a variedades de cana-de-açúcar em condições de laboratório. **Anais da Escola de Agronomia e Veterinária**. Universidade Federal de Goiás, v. 26, n. 2, p. 65-69, 1996

SOKAL, R. R.; ROHLF, J. F. **Biometry**. 3th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1995, 887 p.

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, pp. 437-453.

TANAKA, H.; AOYAGI, H.; SHINA, S.; DODO, Y.; YOSHIMURA, T.; NAKAMURA, R.; UCHIYAMA, H. Influence of the diet components on the symbiotic microorganisms community in hindgut of *Coptotermes formosanus* Shiraki. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 71, n. 6, p. 907-917, 2006

TRANIELLO, J. F. A.; LEUTHOLD, R. H. Behavior and Ecology of Foraging in Termites. In: ABE, T.; BIGNELL, D. E.; HIGASHI, M. (eds.) **Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology**. London: Kluwer Academic Publishers, 2000, pp. 141-168.

TORALES, G.J. Contribucion al conocimiento de las termites de Argentina (Pcia. De Corrientes) *Cornitermes cumulans* (Isoptera: Termitidae). **Facena**, v. 5, p. 97-133, 1982.

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.