



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA – DECO**

BRUNA VIEIRA DOS SANTOS OLIVEIRA

**PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS EM LABORATÓRIO
PARA ESTUDO DO CUPIM**

***Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae)**

São Cristóvão
2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ECOLOGIA – DECO**

BRUNA VIEIRA DOS SANTOS OLIVEIRA

**PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS EM LABORATÓRIO
PARA ESTUDO DO CUPIM**

***Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae)**

Orientadora
Prof.^a Dr.^a Ana Paula Albano Araújo

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Ecologia da Universidade Federal de Sergipe como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Ecologia.

São Cristóvão
2019

BRUNA VIEIRA DOS SANTOS OLIVEIRA

**PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS EM LABORATÓRIO
PARA ESTUDO DO CUPIM**

Nasutitermes corniger (Blattodea: Termitidae)

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe, como parte das exigências do Bacharelado em Ecologia, para obtenção do título de “Bacharel em Ecologia”.

APROVADA em 09 de setembro de 2019.



Prof. Dr.^a Daniela Faria Florencio
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
UFERSA



Prof. Dr. Vinícius Albano Araújo
Universidade Federal do Rio de Janeiro
UFRJ



Prof.^a Dr.^a Ana Paula Albano Araújo
Universidade Federal de Sergipe
(Orientadora)
UFS

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Sergipe pela oportunidade, por todo aprendizado e vivência nessa instituição.

À professora Dr.^a Ana Paula Albano Araújo pela orientação, por toda paciência, disponibilidade e confiança.

À equipe de estagiários do Laboratório de Interações Ecológicas: Dani, Josy, Jorge e Amanda, e os que já passaram por esse laboratório: Léo, Dina, Paulinho e Lucineide, pela parceria e paciência de sempre. Vocês são mais que uma equipe de trabalho, são verdadeiros amigos!

Às pessoas que me acompanharam durante a graduação e que de alguma forma contribuíram com o meu crescimento tanto acadêmico quanto pessoal; principalmente Helberson, Susi, Karine, Luane e Neto.

À minha família pelo apoio e compreensão; especialmente à minha tia Caetana e minha prima Laiz.

À minha família do coração por ter me ajudado quando mais precisei, em especial Fabíolla e Isabella por todas as conversas e conselhos.

Ao meu namorado Breno pelo apoio e paciência por ter mim ajudado e segurado minha mão na fase mais difícil do curso.

À minha mãe e meu pai por tudo! Por me fazer ser quem eu sou e me apoiar nas minhas decisões! Por me dar meios de estudar e me incentivar a isso! Obrigado pelo seu amor!

Não poderia esquecer dos meus amigos Vivi, Matheus, Michelle. Como também Alisson, Lucymara e Carol que mesmo de logo me apoiaram, que nossa amizade seja eterna.

A todos, enfim, que de alguma forma contribuíram para a minha formação e que me apoiaram, muito obrigado!

SUMARIO

Agradecimentos.....	i
Sumario	ii
Lista de figuras	iii
Resumo.....	iv
1 Introdução	2
2 Material & métodos.....	6
2.1 Coleta dos cupins	6
2.2 Bioensaios de sobrevivência de <i>N. corniger</i> em condições experimentais de laboratório	6
2.2.1 <i>Umidade do substrato</i>	7
2.2.2 <i>Tamanho do grupo</i>	7
2.2.3 <i>Tipo de substrato</i>	8
2.2.4 <i>Marcação dos indivíduos</i>	8
3 RESULTADOS.....	9
4 Discussão.....	14
6 Referencias.....	17

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1.** Proporção de indivíduos do cupim *Nasutitermes corniger* mortos ao longo do tempo, mantidos em placas com adição de 0, 1 e 2ml de água.....8
- Fig. 2.** Tempo médio gasto para mortalidade do cupim *Nasutitermes corniger*, em grupos com diferentes números de indivíduos.....9
- Fig. 3.** Número médio de antenações/indivíduo do cupim *Nasutitermes corniger*, em grupos com diferentes números de indivíduos.....9
- Fig. 4.** Proporção de indivíduos do cupim *Nasutitermes corniger* mortos ao longo do tempo, mantidos em placas controle (sem substrato), cobertas com o substrato papel filtro ou ninho peneirado.....11
- Fig. 5.** Proporção de indivíduos do cupim *Nasutitermes corniger* mortos ao longo do tempo, marcados com diferentes tratamentos (com cola; tinta branca mais cola; tinta vermelha mais cola; tinta vermelha ou tinta branca) e controle (não-marcados).....11

RESUMO

OLIVEIRA, Bruna Vieira dos Santos. **Procedimentos metodológicos em laboratório para estudo do cupim *Nasutitermes corniger* (Blattodea: Termitidae)**. São Cristovão: UFS, 2019. 25p. (Monografia – Bacharelado em Ecologia).

A despeito da grande importância econômica e ecológica dos cupins, o estudo da ecologia desses insetos muitas vezes é dificultado em condições de campo devido ao seu hábito críptico. Dessa forma, muitas pesquisas requerem o desenvolvimento de protocolos experimentais em laboratório. Para isso, é de suma importância o conhecimento dos fatores ecológicos e biológicos que limitam a sobrevivência e comportamento dos cupins, a fim de garantir que os experimentos manipulativos em laboratório reflitam o comportamento natural desses organismos. Nesse estudo, analisamos como variações na umidade, tamanho do grupo, tipo de substrato e marcação dos indivíduos de *Nasutitermes corniger* podem interferir na sobrevivência dos mesmos em condições de laboratório. Para analisar o efeito da umidade, grupos de dez cupins foram mantidos a 26°C na ausência ou com adição de 1 ou 2ml de água/7g de substrato do ninho. O efeito do tamanho do grupo na sobrevivência dos indivíduos foi testado variando o tamanho do grupo de 1 a 300 indivíduos/placa, em 16 diferentes tratamentos. Esses grupos foram filmados por 2 min a fim de contabilizar o número médio de comportamentos coletivos executados por cada indivíduo nos diferentes tamanhos de grupo. Para verificar o efeito do substrato na sobrevivência, os indivíduos foram mantidos em placas de Petri com os substratos: papel filtro, ninho peneirado ou controle (sem substrato). Para avaliar se a marcação dos indivíduos interfere na sua sobrevivência, os indivíduos foram marcados com tinta guache, cola e mistura de tinta e cola. Em todos os bioensaios, a mortalidade dos indivíduos foi contabilizada ao longo do tempo e os dados foram analisados através de análise de sobrevivência, no software R. Nossos resultados mostram que o aumento da umidade, tamanho do grupo e a presença de substrato do ninho podem aumentar a longevidade de *N. corniger*. Indivíduos em grupos maiores executaram, em média, maior número de antenações. Indivíduos marcados tiveram a sobrevivência reduzida em relação ao controle; o que reforça a necessidade de pré-testes específicos para uso de marcadores com diferentes espécies de cupins. Esse estudo pode ser útil para a padronização de trabalhos futuros desenvolvidos em condições de laboratório com *N. corniger*.

Palavras-chave: comportamento, sobrevivência, tamanho do grupo, térmitas.

**PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS EM LABORATÓRIO
PARA ESTUDO DO CUPIM**

Nasutitermes corniger (Blattodea: Termitidae)

Bruna Vieira dos Santos Oliveira, Daniella Lúcio Santana, Amanda Teixeira dos Santos, Jailton Jorge Marques, Joseane Santos Cruz & Ana Paula Albano Araújo

Universidade Federal de Sergipe. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. Depto. de Ecologia. Lab. Interações Ecológicas.

1 INTRODUÇÃO

Cupins são insetos considerados os mais importantes macrodetritívoros das regiões neotropicais por modificarem a estrutura química e física do solo devido ao hábito de alimentarem de matéria orgânica morta e construírem túneis subterrâneos (Jones et al. 1994, Dangerfield et al. 1998). Devido ao seu hábito de forrageio e construção de ninhos, esses organismos promovem maior heterogeneidade na paisagem, com consequente maior manutenção da biodiversidade local (Jouquet et al. 2006, 2011, Davies et al. 2015). Por outro lado, o hábito alimentar dos cupins também pode gerar perdas em ambientes urbanos e agrícolas, sendo estimado que 10% das espécies podem ser consideradas pragas (Constantino 2002, Canello 2014). Assim, o entendimento dos mecanismos responsáveis pela exploração do habitat por esses organismos pode ter importantes implicações. No entanto, apesar da elevada abundância de cupins nas regiões tropicais, o hábito críptico desses insetos, muitas vezes dificulta a execução de estudos diretamente no campo, exigindo observações comportamentais em condições de laboratório. O entendimento dos aspectos ecológicos relacionados às limitações fisiológicas e ao comportamento dos cupins são essenciais para garantir que os resultados obtidos em condições de laboratório possam refletir, com maior fidelidade, aqueles que ocorrem naturalmente no ambiente.

Cupins são insetos eussociais, caracterizados pela vida em colônia, com a presença de um ou poucos pares reprodutores e centenas a milhares de indivíduos estéreis que apresentam sobreposição de geração e divisão de tarefas (Costa-Leonardo, 2002, Constantino, 2015). Tais colônias podem se abrigar dentro do próprio recurso (ex. espécies mais basais) ou construírem seu próprio ninho (ex. espécies mais derivadas). Os ninhos dos cupins mantêm a homeostase da colônia, uma vez que estabilizam as condições abióticas como temperatura e umidade, independentemente das condições externas do meio (Jones & Oldroyd 2006). Este aspecto é de vital importância, uma vez que os cupins são

organismos altamente sensíveis à dessecação por possuírem cutícula externa pouco esclerotizada (Noirot & Darlington, 2000). Os indivíduos das espécies que necessitam sair do ninho para forragear (ex. forrageadores intermediários e de sítio central), normalmente o fazem protegidos por túneis (construídos abaixo do solo), galerias (construídas acima do solo) ou realizam forrageio noturno. Esse hábito críptico é o principal fator que limita observações diretas do comportamento dos cupins em condições de campo. Ao mesmo tempo, estudos em laboratório lidam com a dificuldade em simular as condições artificiais (ex. temperatura e umidade) apropriadas à sobrevivência desses organismos.

Além da manutenção das condições abióticas adequadas, a atividade e comportamento dos cupins são altamente dependentes da integridade do grupo. Cada indivíduo da colônia apresenta um repertório comportamental simples, mediado principalmente, por sinais de odores e de vibração. As decisões das colônias são realizadas de forma coletiva, através do esforço de vários indivíduos que interagem entre si (Sasaki & Pratt 2012), permitindo a execução de tarefas complexas. A vida em grupo pode promover a facilitação social, fenômeno conhecido pelo aumento do ritmo e frequência de algum padrão na presença de outros indivíduos conspecíficos (Wilson 1980). Em cupins, a facilitação social pode minimizar o stress dos indivíduos, aumentando a resistência dos mesmos às infecções (Rosengaus et al. 1998) e ao efeito de inseticidas (Santos et al. 2004). Além disso, foi verificado que o tamanho do grupo pode interferir na frequência de comportamentos interindividuais, tendo consequências na longevidade dos mesmos (Miramontes & DeSouza 1996). Muitas dessas interações podem envolver tanto o contato físico (ex. antenação, *allogrooming*), como também a percepção de pistas químicas que consistem em misturas de odores (ex. hidrocarbonetos cuticulares) específicas à cada colônia. Dessa forma, a transferência dos cupins para condições manipuladas deve também

levar em consideração o tamanho do grupo, assim como a manutenção de odores que simulem seu ambiente natural (ex. odor do ninho).

Adicionalmente, estudos comportamentais muitas vezes exigem a marcação dos indivíduos. Marcadores ideais devem ser atóxicos, facilmente identificáveis e de longa duração e, principalmente, não devem modificar o comportamento e a sobrevivência dos indivíduos. Alguns marcadores comumente utilizados para estudos de cupins (ex. Sudan Red 7B, Nile Blue A, Neutral Red) são adicionados no alimento e podem ser visíveis após ingestão devido à baixa esclerotização do corpo desses organismos (Su et al. 1991; Evans, 1997; Nobre et al. 2006). No entanto, tal técnica nem sempre é eficiente, seja por demandar tempo, causar elevada mortalidade dos indivíduos, por nem sempre permitir um bom contraste visual (Brunow et al. 2005), ou ainda por limitar o desenvolvimento de estudos que exijam estarvação dos indivíduos. Outros estudos têm sugerido que o uso de tintas pode ser uma estratégia viável (Loreto *et al.* 2009), porém a toxicidade das mesmas pode variar dependendo do tipo de tinta e da espécie em questão.

Nesse estudo, avaliamos alguns fatores experimentais que podem interferir na sobrevivência do cupim *Nasutitermes corniger* em bioensaios de laboratório. Esta espécie está distribuída na região neotropical, com maior disseminação na América Central, sendo muito encontrada em matas de galeria e matas secas (Costa-Leonardo 2002). Os indivíduos desta espécie constroem ninhos arborícolas e são forrageadores de sítio central, apresentando completa independência entre ninho e alimento. Nesta espécie os soldados têm papel importante não apenas na defesa da colônia, como também são responsáveis pelo início do forrageio (Costa-Leonardo 2002). *Nasutitermes corniger* é considerada uma praga urbana, pois seus ninhos normalmente se localizam próximo às residências aumentando assim a probabilidade de ataque em estruturas de madeira (Costa-Leonardo 2002). Aqui, avaliamos como a variação da umidade do substrato, tamanho do grupo, tipo

de substrato e a marcação dos indivíduos podem interferir na sobrevivência dos indivíduos de *N. corniger* em condições de laboratório.

2 MATERIAL & MÉTODOS

2.1 Coleta dos cupins

As coletas foram realizadas entre setembro de 2018 e junho de 2019, no *campus* da Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão (10°55'34.9"S e 37°06'02.5"O), nordeste do Brasil. O clima na região se enquadra no tipo As (clima tropical úmido com seca no verão), de acordo com a classificação climática de Köppen (Chen 2013), apresentando estação chuvosa (abril a setembro) e seca bem definidas (outubro e março).

As coletas consistiram na remoção de fragmentos dos ninhos no campo, que foram levados para laboratório e mantidos em bandejas plásticas por 24 h antes da realização dos bioensaios. A identificação da espécie foi realizada por comparação com amostras da coleção de Isoptera, do Lab. de Interações Ecológicas, da Universidade Federal de Sergipe, onde o material de referência foi depositado.

2.2 Bioensaios de sobrevivência de *N. corniger* em condições experimentais de laboratório

Bioensaios independentes foram conduzidos a fim de avaliar a porcentagem de indivíduos sobreviventes ao longo do tempo, considerando-se os efeitos da umidade do substrato, tamanho do grupo, tipo de substrato utilizado e marcação dos indivíduos.

Em todos os casos, os indivíduos foram mantidos em placas de Petri (5,2 cm Ø x 1,2 cm de altura), em câmara climatizada tipo B.O.D., sob 26°C, na ausência de luz. As avaliações dos bioensaios consistiram em contabilizar o número de indivíduos mortos ao longo do tempo, até a morte do último indivíduo nas placas.

2.2.1 Umidade do substrato

Para analisar se a umidade do substrato interfere no tempo de sobrevivência dos indivíduos de *N. corniger* em condições de laboratório, grupos de 20 indivíduos (16 operários e 4 soldados) foram mantidos sob os tratamentos: (i) controle (sem adição de água), (ii) adição de 1 ml ou (iii) 2 ml de água destilada. As placas foram cobertas com 7g de substrato proveniente da parte central dos seus respectivos ninhos, que foi previamente macerado em peneira (*mesh* 6 mm). A água foi adicionada em um pedaço de algodão de 1x1 cm inserido no centro da placa. Foram utilizados indivíduos provenientes de três ninhos distintos, sendo feitas três repetições/ tratamento para cada ninho, totalizando em 27 placas.

2.2.2 Tamanho do grupo

Nesse bioensaio avaliamos se a quantidade de indivíduos no grupo afeta o tempo de sobrevivência e o comportamento dos cupins. Para isso foram estabelecidos grupos com diferentes números de indivíduos/placa (1,5,10,20,30,40,50,60,70,80,90,100,150,200,250 e 300), compreendendo 16 tamanhos de grupo. Em todos os tamanhos de grupo foi mantida a proporção de 20% de soldados (similar à proporção encontrada naturalmente nas colônias), com exceção do tratamento com um indivíduo, que consistiu em apenas um operário. Os indivíduos de cada tratamento foram mantidos em placas de Petri com o fundo coberto por papel filtro. Para cada tamanho de grupo foram feitas cinco réplicas, sendo cada réplica um ninho distinto, totalizando 80 placas.

Para avaliar se o número de comportamentos coletivos executados por indivíduo varia em relação ao tamanho dos grupos, para cada tratamento (grupos de 5 a 300 indivíduos) foram feitas três repetições, totalizando 45 placas. Para essa análise foi excluído o tratamento contendo apenas um indivíduo. As placas contendo os indivíduos

foram filmadas uma hora após o início do experimento, durante 2 min. De cada placa foram selecionados, aleatoriamente, quatro indivíduos, para os quais foram quantificados os comportamentos coletivos positivos (trofalaxia bucal, trofalaxia proctodeal, *alogrooming* e antenação), comportamentos negativos (mordida e luta) e de vibração. Posteriormente, foi calculado o número de médio de cada comportamento executado/indivíduo em cada tamanho de grupo.

2.2.3 Tipo de substrato

Para analisar se o tipo de substrato adicionado no fundo das placas interfere no tempo de sobrevivência dos indivíduos, foram estabelecidos os tratamentos: placas forradas com (i) papel filtro, (ii) parede do ninho e (iii) controle (sem substrato). O substrato 'parede do ninho' consistiu em 7g/placa da parte interna e central da parede do ninho, que foi macerada com o auxílio de um pilão e peneirada (*mesh* 6mm). Em cada placa foram adicionados dez indivíduos de *N. corniger*, sendo oito operários e dois soldados. Foram utilizados indivíduos provenientes de cinco ninhos distintos, sendo realizadas cinco repetições/ninho para cada tipo de substrato ($N = 25$), totalizando 75 placas.

2.2.4 Marcação dos indivíduos

Para avaliar se a marcação dos indivíduos interfere na sua sobrevivência dos cupins foram estabelecidos os tratamentos: indivíduos marcados com (i) tinta branca, (ii) tinta vermelha, (iii) cola branca, (iv) mistura de tinta branca + cola, (v) mistura de tinta vermelha + cola e (vi) controle (sem marcações). Para as marcações foi utilizada tinta guache à base de água (Acrilex ®) e cola branca atóxica (Cascolar ®). As misturas foram feitas na proporção de 2 partes de tinta:1 parte de cola. As marcações foram feitas na parte dorsal da

metade final do abdômen dos operários de *N. corniger*, com o uso de um pincel. Após serem marcados, os indivíduos foram mantidos isolados por 1 min até sua secagem completa. Cada unidade experimental consistiu em uma placa contendo cinco indivíduos (4 operários e 1 soldado). Os indivíduos utilizados foram provenientes de dez ninhos, sendo realizadas três repetições/ninho para cada tratamento, totalizando 180 placas.

2.3 Análises Estatísticas

Todas as análises foram realizadas no software R (R Development Core Team 2015) utilizando-se Análise de Sobrevivência, com distribuição de Weibull, pacote *survival*. Para isso, análises independentes foram realizadas para os dados de cada bioensaio a fim de verificar se a proporção de indivíduos mortos (variável y) variava ao longo do tempo em função dos diferentes tratamentos: umidade do substrato, tamanho do grupo, tipo de substrato e tipo de marcação (variáveis x).

Análises de regressão linear foram realizadas, independentemente, para testar se o tempo médio para morte (obtido através da análise de sobrevivência) e o número médio de comportamentos executados/indivíduo (variáveis y) são dependentes do tamanho do grupo.

3 RESULTADOS

A sobrevivência dos indivíduos foi influenciada pela umidade do substrato ($\chi^2 = 239,85$, $g.l. = 537$, $P < 0,0001$; Fig. 1). No entanto, não houve variação significativa entre os níveis de umidade 1 e 2 ml de água, os quais apresentaram menor taxa de mortalidade do que o tratamento controle (0 ml de água) ($P = 0,45$; Fig. 1).

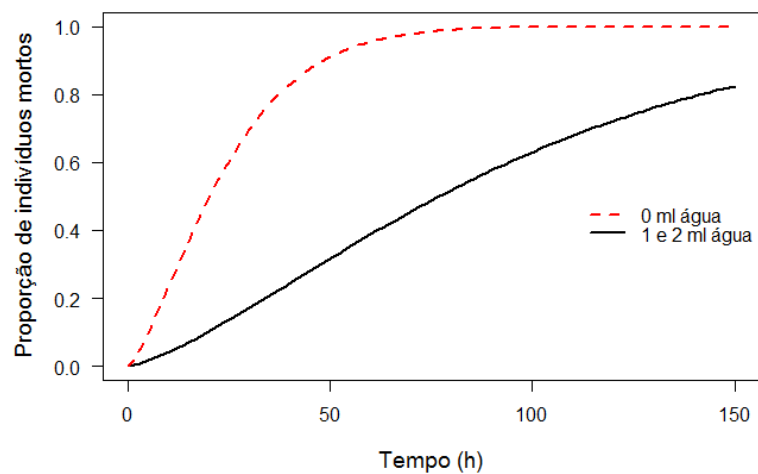


Fig. 1. Proporção de indivíduos do cupim *Nasutitermes corniger* mortos ao longo do tempo, mantidos em placas com adição de 0, 1 e 2ml de água destilada.

O tempo médio gasto para a mortalidade dos indivíduos de *N. corniger* aumentou significativamente com o aumento do tamanho do grupo ($F_{1,14}=140,17$; $P < 0,001$; Fig. 2). Dessa forma, grupos maiores se mantiveram vivos por maior intervalo de tempo.

Os indivíduos nos diferentes tamanhos de grupo não executaram comportamentos de trofalaxia, *grooming*, mordida e luta. O número médio de vibrações/indivíduo não variou com o tamanho do grupo ($F_{1,43}=0,51$, $P = 0,47$). Por outro lado, houve um aumento linear no número médio de antenações/indivíduo com o tamanho do grupo ($F_{1,43}=25,2$, $P < 0,001$, Fig. 3).

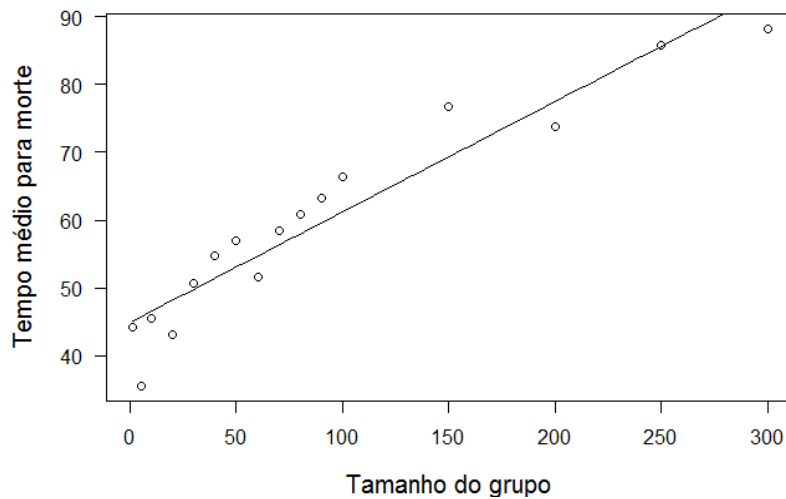


Fig. 2. Tempo médio gasto para mortalidade do cupim *Nasutitermes corniger*, em grupos com diferentes números de indivíduos.

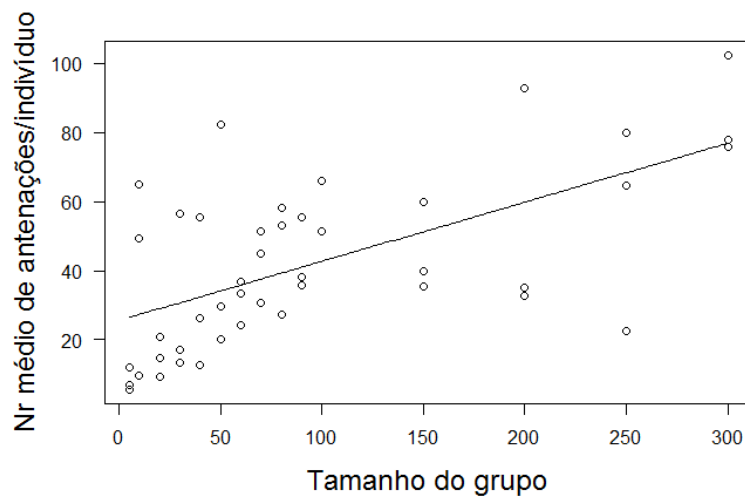


Fig. 3. Número médio de antenações/indivíduo do cupim *Nasutitermes corniger*, em grupos com diferentes números de indivíduos.

O tipo de substrato no qual os indivíduos foram mantidos nas placas de Petri também influenciou significativamente na sobrevivência dos mesmos ($\chi^2 = 235,51$, *g.l.* = 536, $P < 0,0001$; Fig. 4). A proporção de indivíduos mortos ao longo do tempo foi semelhante nos tratamentos controle e papel filtro ($P = 0,45$; Fig. 4), os quais resultaram em maior proporção de indivíduos mortos e mais rápida mortalidade quando comparados ao substrato 'parede do ninho'.

O tipo de marcação dos indivíduos também teve efeito significativo na sobrevivência dos mesmos ($\chi^2 = 221,44$, *g.l.* = 893, $P < 0,0001$; Fig. 5). A utilização de cola não mostrou diferenças em relação ao controle, não interferindo na mortalidade dos indivíduos ($P = 0,13$; Fig. 5). A adição de tinta branca ou vermelha à cola, resultou em aumento da mortalidade no tempo em relação ao controle. No entanto, as marcações feitas com tinta pura resultaram na mais rápida mortalidade dos indivíduos, sendo que os tratamentos tinta branca e vermelha não diferiram entre si ($P = 0,22$; Fig. 5).

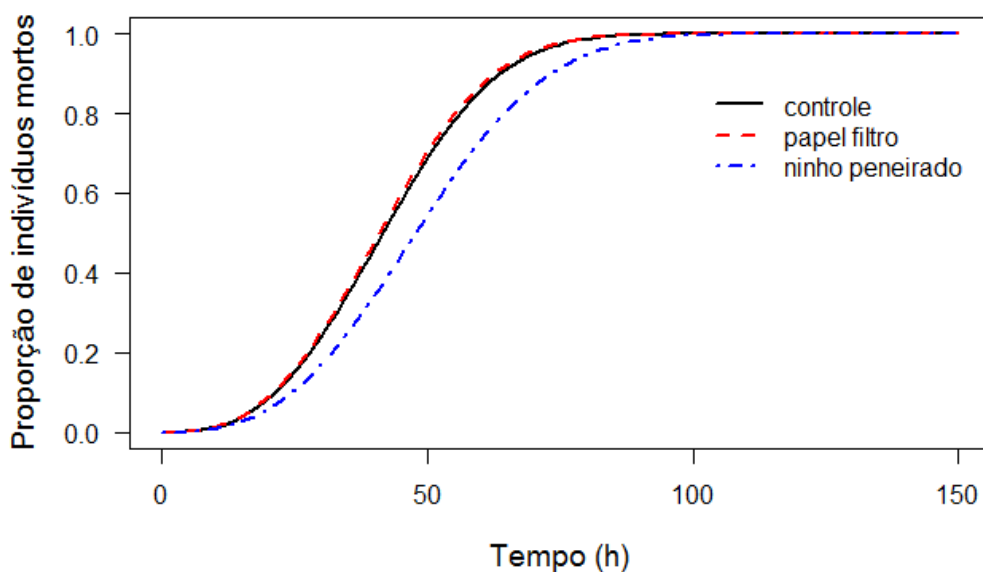


Fig. 4. Proporção de mortalidade de indivíduos do cupim *Nasutitermes corniger* ao longo do tempo, mantidos em placas controle (sem substrato), cobertas com o substrato papel filtro ou ninho peneirado.

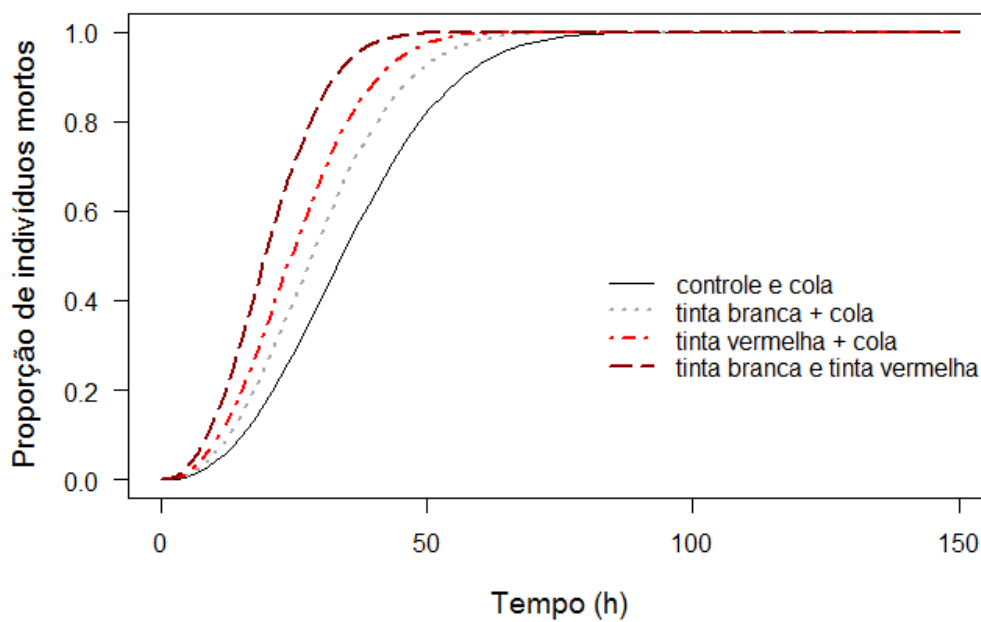


Fig. 5. Proporção de indivíduos do cupim *Nasutitermes corniger* mortos ao longo do tempo, marcados com diferentes tratamentos (com cola; tinta branca mais cola; tinta vermelha mais cola; tinta vermelha ou tinta branca) e controle (não-marcados).

4 DISCUSSÃO

A realização de bioensaios comportamentais com cupins em laboratório exige uma série de procedimentos metodológicos que garantam a sobrevivência por tempo adequado, assim como a manutenção dos comportamentos mais próximos ao naturalmente executados pelos indivíduos. Nossos resultados mostraram que a sobrevivência dos cupins é maior na presença de umidade e do substrato da parede do ninho, e com o aumento do tamanho do grupo; o que pode estar relacionado à manutenção das condições mais próximas àsquelas dos seus ninhos. Adicionalmente, verificamos que a tinta guache, pode reduzir a sobrevivência dos indivíduos de *N. corniger*.

O efeito positivo da umidade sobre os cupins tem sido observado em diferentes escalas (ex. dentro ou fora do ninho). A distribuição e abundância de cupins nos ecossistemas revela maior riqueza e densidade em florestas úmidas, quando comparado a ambientes mais áridos (Couto et al. 2015). O potencial de evapotranspiração, relacionado à variação da temperatura e umidade, parece ser o principal determinante da maior ocorrência de cupins em latitudes mais baixas (Cancelo et al. 2014). Já em condições de laboratório, vários estudos têm demonstrado que a manutenção da umidade é um dos principais fatores afetando a sobrevivência dos cupins (Gautam and Henderson, 2011; Wiltz, 2012; Zukowski and Su, 2017). Nosso resultado está de acordo com Ferreira et al. (2019) que observaram que o cupim *Constrictotermes* sp., mostrou maior sobrevivência sob condições de temperatura a 26°C e umidade do substrato em torno de 2-3mL água/ 7g de substrato. Por possuírem corpo mole e pouco esclerotizado, o aumento da umidade contribuir para diminuir a dissecação corporal dos cupins (Zukowski & Su 2017, Gautam & Henderson 2011), tornando as condições mais similares à observada dentro dos seus ninhos.

O aumento do tamanho dos grupos mantidos em condições experimentais também influenciou diretamente na sobrevivência dos cupins. Grupos maiores sobreviveram por mais tempo e executaram, em média, maior número de antenações/indivíduo do que grupos menores. Esse resultado está de acordo com estudos que mostram que o aumento do grupo pode gerar facilitação social, aumentando as chances de sobrevivência via redução do estresse (Santos *et al.* 2004; Miramontes & DeSouza 1996). Adicionalmente, a maior coesão do grupo e a redução do estresse também podem ser as explicações para o efeito positivo do substrato da parede do ninho na sobrevivência dos cupins. Cruz *et al.* (2017) sugeriram que o maior tempo de sobrevivência do cupim inquilino *Inquilinitermes* sp. em contato com a parede interna do ninho, pode ser explicada pela percepção de odores da colônia hospedeira. Sendo assim, esse substrato poderia ser ideal para manutenção dos cupins em grupos isolados do ninho. Por outro lado, em alguns casos experimentais específicos, pode ser que a manutenção dos indivíduos no substrato do ninho não permita contraste suficiente para boa visualização dos mesmos. Nesse casos, o papel filtro poderia ser utilizado quando se necessite de maior contraste e quando o cupim tenha dificuldade de caminhar sem a presença de algum substrato. Por outro lado, caso o experimento exija o não consumo de alimentos (ex. o próprio papel filtro) os indivíduos poderiam ser mantidos na placa sem substrato. A desvantagem nesses casos, seria que o tempo para execução dos bioensaios seria reduzido, tendo em vista a maior mortalidade observada nesses tratamentos em relação ao uso da parede do ninho como substrato.

Outro fator importante para o contraste e discriminação dos indivíduos, consiste no uso de marcadores. Aqui verificamos que os cupins marcados morreram mais rapidamente do que o grupo controle ou marcado com cola somente. Apesar do uso de tinta pura ter causado mais rápida mortalidade, a adição de cola minimizou tal efeito. Desta forma, a tinta utilizada pode ter penetrado na cutícula dos insetos causando algum tipo de

toxicidade, o que foi reduzido com a adição da cola que tornou a mistura mais viscosa e com menor chance de penetração. Outro estudo utilizando tinta como marcadores também verificou redução da sobrevivência dos cupins ao longo do tempo, sendo sugerido pelos autores que a tinta tenha causado morte por ingestão ou erro de aplicação (Brunow et al. 2005). Já Marins et al. (2017) mostraram que a mistura de tinta guache e cola, como utilizado aqui, obteve a mesma resposta que o controle, não interferindo assim na sobrevivência do cupim *Cornitermes cumulans*. Esses resultados divergentes destacam que a toxicidade de diferentes marcadores pode diferir entre as espécies de cupins, exigindo a realização de pré-testes específicos.

Concluindo, nosso estudo ressalta que o aumento da umidade, tamanho do grupo e a presença de substrato do ninho podem aumentar a longevidade de *N. corniger* em condições de laboratório. Por outro lado, também reforça a necessidade de pré-testes específicos para uso de marcadores em estudos com diferentes espécies de cupins. Tais resultados podem ser úteis para a padronização de trabalhos futuros desenvolvidos com *N. corniger* em condições de laboratório.

6 REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, A. C., CUNHA, F. M., OLIVEIRA, M. A. P., VEIGA, A. F. S. L., LUNA-ALVES LIMA, E.A. Análise de substratos para testes de sobrevivência com *Nasutitermes coxipoensis* (holmgren) (Isoptera: Termitidae). Arquivos do Instituto Biológico, v. 75, n. 4, p. 529-532, 2008.
- ALMEIDA, C. S. Efeito da fragmentação de habitats sobre comunidades de cupins (Insecta: Isoptera). 2014. 32f. Monografia (Ecologia) – Departamento de Ecologia, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, 2014.
- ALMEIDA, C. S., CRISTALDO, P. F., FLORENCIO, D. F., CRUZ, N. G., SANTOS, A. A., OLIVEIRA, A. P., SANTANA, A. S., RIBEIRO, E. J. M., LIMA, A. P. S., BACCI, L., ARAÚJO, A. P. A. Combined foraging strategies and soldier behaviour in *Nasutitermes* aff. *coxipoensis* (Blattodea: Termitoidea: Termitidae). Behavioural Processes, v. 126, p. 76–81, 2016.
- BANDEIRA, A.G., and VASCONCELLOS, A. Efeitos de perturbações antrópicas sobre as populações de cupins (Isoptera) do Brejo dos Cavalos, Pernambuco. In: Brejos de altitude: história natural, ecologia e conservação (Kátia Cavalcante Pôrto; Jaime J.P. Cabral; Marcelo Tabarelli, org.). Brasília: Ministério do Meio Ambiente, p. 145-152, 2004.
- BRUNOW, G. S., DESOUSA, O. and MIRAMONTES, O. Commercial gouache as a dye for termites in laboratory assays. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 48, n. 4, p. 575-579, 2005.
- CANCELLO, E. M., SILVA, R. R., VASCONCELOS, A., REIS, Y. T. and OLIVEIRA, L. M. Latitudinal variation in termite species richness and abundance along the brazilian Atlantic Forest hotspot. Biotropica, v. 46, n. 4, p. 441-450, 2014.
- CHEN, D., and H. W. CHEN. Using the köppen classification to quantify climate variation and change: an example for 1901-2010. Environmental Development, v. 6, p. 69–79, 2013.
- CONTANTINO, R. The pest termites of south America: taxonomy, distribution and status. Journal of Applied Entomology, v. 126, p. 355-365, 2002.
- CONTANTINO, R. (Ed.) Cupins do cerrado. 1ª, ed. Rio de Janeiro: technical Books, 2015. 167 p.
- COSTA-LEONARDO, A. M. 2002. Cupins-Praga: Morfologia Biologia e Controle. Rio Claro.

- COUTO, A. A. V. O., ALBUQUERQUE, A. C., VASCONCELLOS, A. and CASTRO, C. C. Termite assemblages (Blattodea: Isoptera) in a habitat humidity gradient in the semiarid region of northeastern Brazil. *Zoologia*, v. 32, n. 4, p. 281-288, 2015.
- CRUZ, J. S., CRISTALDO, P. F., SACRAMENTO, J. J. M., ROCHA, M. L. C., FERREIRA, D. V., CRUZ, and ARAÚJO A. P. A. Survivorship and walking behavior of *Inquilinitermes microcerus* (Termitidae: Termitinae) in contact with host workers and walls from host nest. *Sociobiology*, v. 65, n. 1, p. 31-37, 2018.
- DANGERFIELD, J. M., MCCARTHY, T. S. and ELLERY, W. N. The mound-building termite *Macrotermes michaelseni* as an ecosystem engineer. *Journal of Tropical Ecology*, v. 14, p. 507–520, 1998.
- DAVIES, A. B., LEVICK, S. R, ROBERTSON, M. P, VAN RENSBURG, B. J, ASNER, G. P. and PARR, C. L. Termite mounds differ in their importance for herbivores across Savanna types, seasons and spatial scales. *Oikos*, p. 1–9, 2015.
- EVANS, T. A. Evaluation of markers for Australian subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae & Termitidae). *Sociobiology*, v. 29, p. 277-292, 1997.
- FERREIRA, D. V., CRUZ, J. S., SACRAMENTO, J. J. M., ROCHA, M. L. C., CRISTALDO, P. F., and ARAÚJO A. P. A. Effect of temperature and substrate moisture on group survival of *Constrictotermes* sp. (Isoptera: Termitidae) under laboratory conditions. *Revista Brasileira de Entomologia*, v. 63, p. 9-11, 2019.
- FERREIRA, E. V. DE O., V. MARTINS, A. V. I. JUNIOR, E. GIASSON, and P. C. DO NASCIMENTO. Ação dos térmitas no solo. *Ciência Rural*, v. 41, p. 804–811, 2011.
- GAUTAM, B. K. and HENDERSON, G. Relative humidity preference and survival of starved formosan subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) at various temperature and relative humidity conditions. *Entomological Society of America*, 2011.
- JONES, C. G., LAWTON, J. H. and SHACHAK, M. Organism as ecosystem engineers. *Oikos*, v. 69, p. 373–386, 1994.
- JONES, J. C., and OLDROYD, B. P. Nest thermoregulation in social insects. *Advances in Insect Physiology*, v. 33, p. 153–191, 2006.
- JOUQUET, P., DAUBER, J., LAGERLÖF, J., LAVELLE, P., and LEPAGE, M. Soil invertebrates as ecosystem engineers: Intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology*, v. 32, p. 153–164, 2006.

- JOUQUET, P., TRAORÉ, S., CHOOSAI, C., HARTMANN, C. and BIGNELL, D. Influence of termites on ecosystem functioning. Ecosystem services provided by termites. *European Journal of Soil Biology*, v. 47, p. 215–222, 2011.
- LORETO, R. G., DESOUZA, O. G., and ELLIOT, S. L. Colored glue as a tool to mark termites (*Cornitermes cumulans*; Isoptera. Termitidae) for ecological and behavioral studies. *Sociobiology*, v. 54, n. 1, 2009.
- MARINS, A., CRISTALDO, P. F., PAIVA, L. R., MIRAMONTES, O. and DESOUZA, O. A new approach to mark termites (*Cornitermes cumulans* (Kollar) Blattodea: Isoptera) for laboratory bioassays. *Brazilian Journal of Biology*, 2017.
- MIRAMONTES, O. and DESOUZA, O. G. The nonlinear dynamics of survival and social facilitation in termites. *Journal of Theoretical Biology*, v. 181, p. 373-380, 1996.
- MIRAMONTES, O. and DESOUZA, O. Non-asymptotic trends in the social facilitated survival of termites (Isoptera). *Sociobiology*, v. 44, n.2, 2004.
- NOBRE, T., L. N. and BIGNELL, D. E. Estimation of foraging territories of *Reticulitermes grassei* through mark-release-recapture. *Entomologia Experimentalis et Applicata* v. 123, p. 119-128, 2007.
- NOIROT, C. and DARLINGTON, J. P. E. C., Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology. In: ABE, T., Bignell, D. E. and Higashi, M. (Eds.). 2000. p. 121–139, Kluwer Academic, Netherlands.
- ROSENGAUS, R. B., MAXMEN, A. B., COATES, L. E., TRANIELLO, J. F. A. Disease resistance: A benefit of sociality in the dampwood termite *Zootermopsis angusticollis* (Isoptera:Termopsidae). *Behavioral Ecology & Sociobiology*, v. 44, p. 125–134, 1998.
- SANTOS, C. A., DESOUZA, O. and GUEDES, R. N. C. Social facilitation attenuating insecticide-driven stress in termites (Isoptera: Nasutitermitinae). *Sociobiology*, v. 44, n.2, 2004.
- SASAKI, T. and PRATT, S. C. Groups have a larger cognitive capacity than individuals. *Current Biology*, v. 22, n. 19, 2012.
- SU, N. Y., BAN, P. M. and SCHEFFRAHN, R. H. Evaluation of twelve dye markers for population studies of the eastern and Formosan subterranean termite (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology* v. 19, p. 349–62, 1991.
- WILTZ, B. A. Effect temperature and humidity on survival of *Coptotermes formosanus* and *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Sociobiology*, v. 59, n. 2, 2012.

ZUKOWSKI, J. and SU, N. Y. Survival of termites (Isoptera) exposed to various levels of relative humidity (RH) and water availability, and their RH preferences. Florida Entomologist, v. 100, n. 3, 2017.