

Manual de coleta de cupins para identificação taxonômica

Reginaldo Constantino © 2021¹

Universidade de Brasília, Departamento de Zoologia, Laboratório de Termitologia

Introdução

A identificação de cupins depende do exame de amostras contendo espécimes devidamente coletados e fixados. A falta de cuidado pode inviabilizar o estudo taxonômico. Os problemas mais frequentemente observados são os seguintes: amostras sujas; espécimes danificados e imprestáveis por manuseio descuidado; amostras pequenas e incompletas (sem todas as castas); etiquetagem incorreta (sem etiqueta, etiqueta incompleta ou ilegível etc.); frascos inadequados.

Este manual apresenta instruções detalhadas para a coleta de cupins com a finalidade de remessa para especialista para identificação taxonômica.

Instruções resumidas (para uso como *checklist* antes do envio)

1. Entre em contato prévio informando a finalidade, o tipo e quantidade de material;
2. Fixação: os cupins devem ser fixados vivos em álcool 80%; devem ser manuseados com cuidado e não podem ser prensados ou esmagados; o corpo de cada indivíduo deve estar inteiro e não deformado;
3. Frascos: devem ser transparentes, preferencialmente de fundo reto, com volume entre 2–20 mL, e boa vedação;
4. Cada frasco deve conter uma amostra representativa de **uma** colônia, com um bom número de espécimes de cada casta presente: soldados, operários, imagos;
5. As amostras devem estar **limpas**, sem solo nem fragmentos de ninho ou madeira (apenas cupins e álcool); troque o álcool e limpe as amostras antes de enviar;
6. Cada frasco deve conter uma etiqueta numerada, bem legível e resistente ao álcool, com um identificador simples e único (sem repetição, nem entre remessas diferentes) — veja o manual completo para recomendações;
7. A etiqueta pode ser impressa a laser ou escrita a mão com caneta nanquim;
8. A etiqueta deve ser inserida dentro do frasco e posicionada de modo que fique legível por fora;
9. **NÃO** use canetas comuns, que dissolvem com álcool e nem lápis; **NÃO** cole a etiqueta do lado externo do frasco;
10. As amostras enviadas **NÃO** serão devolvidas; é recomendável manter duplicatas antes do envio;
11. Embale com cuidado, envolvendo todos os frascos com sacos plásticos para prevenir vazamentos; preencha os espaços vazios na caixa com flocos de isopor;
12. Envie uma planilha com os dados das amostras (use o modelo disponível em <http://termitologia.net>).

¹Os direitos autorais relativos a este documento estão protegidos pela legislação vigente. É proibida a reprodução total ou parcial do texto ou figuras, mesmo citando a fonte. A versão atualizada estará disponível apenas em <http://termitologia.net>. Atualizado em 11 de dezembro de 2023.

Materiais e ferramentas para a coleta

Frascos

Os frascos devem ser transparentes, com volume mínimo de 2 mL e máximo de 20 mL (preferencialmente entre 5–10 mL) e tampa com boa vedação para evitar vazamentos e evaporação. Além disso, é melhor usar frascos com fundo reto, que facilitam o manuseio e a armazenagem. A boca do frasco deve ter no mínimo 1 cm de largura para permitir a passagem dos cupins, etiquetas e pinças. Para cupins grandes, como *Syntermes*, pode ser necessário usar frascos maiores, com 10 mL ou mais, e boca mais larga.

Alguns tipos de frascos comumente usados:

1. Frasco tubular de vidro transparente com tampa de rosca e batoque (Fig. 1A), com volume de 5–15 mL: é o melhor tipo de frasco. São práticos e seguros, porém tem custo elevado. Podem ser adquiridos em lojas especializadas em embalagens e materiais de laboratório.
2. Frasco de vidro âmbar com tampa de rosca e batoque (Fig. 1B), com volume de 10–15 mL: também práticos e seguros, são mais baratos que os transparentes porque são feitos com vidro reciclado.
3. Frasco tubular de vidro com tampa de pressão (*shell vial*) (Fig. 1C), com volume entre 5–10 mL: são práticos, porém mais frágeis que os dois tipos anteriores. Em geral não são encontrados em lojas nacionais e dependem de importação.
4. Frascos de vidro com tampa de pressão tipo *snap-cap* (Fig. 1D), com volume de 10–20 mL (transparente ou âmbar): São práticos, mas menos seguros que os anteriores porque as tampas racham e abrem com facilidade. Antes de usar é preciso testar. Se a tampa rachar ou abrir durante o envio, a amostra pode ser perdida.
5. Criotubos (Fig. 1E): são tubos de plástico comumente usados para armazenar amostras congeladas. São facilmente encontrados em lojas de material de laboratório e tem custo baixo. Desvantagens: o tipo mais comum tem apenas 2 mL, e muitos não tem boa vedação. Teste antes de usar.
6. Frascos de “acrílico” ou plástico rígido com tampa de pressão (Fig. 1F): as tampas não tem boa vedação; o álcool vaza e evapora facilmente e por isso **não** são recomendados. Caso seja usado, é necessário envolver as tampas com filme PVC ou parafilme para evitar vazamento.
7. Frascos tipo *Eppendorf* (Fig. 1G): assim como os criotubos, tem custo baixo e são facilmente encontrados em lojas de material de laboratório. Desvantagens: o formato cônico é inconveniente (são feitos para centrifugação) e o volume é pequeno (geralmente apenas 2 mL). As tampas não tem boa vedação. **Não** são recomendados.

Frascos inadequados (não use em hipótese alguma): frasco tipo penicilina; tubo falcon; frasco coletor de fezes e urina; frascos de perfume; tubos de ensaio etc. Existe uma infinidade de tipos de frasco. Se não está na lista dos recomendados acima, não use.

Álcool

Cupins devem sempre ser fixados em álcool etílico com concentração mínima de 70% e máxima de 85%. Com álcool mais diluído os espécimes não são bem preservados, ficando imprestáveis para estudo. O álcool mais concentrado desidrata os espécimes, que ficam deformados e quebradiços, tornando-se também imprestáveis. O mais recomendado é usar apenas álcool 80%.

Para diluir o álcool para a concentração correta o ideal é usar um alcoômetro Gay-Lussac, que é um densímetro graduado com a escala de concentração do álcool (Fig. 2D). A diluição

deve ser feita com água filtrada ou destilada. A concentração do álcool comercial pode apresentar muita variação e por isso a diluição com auxílio de alcoômetro é mais segura.

Na falta de um alcoômetro, a diluição deve ser feita por volume, usando uma proveta grande. Por exemplo, para obter álcool 80% a partir de álcool comercial 96° GL basta adicionar 200 mL de água para cada litro ou, para obter um litro, 830 mL de álcool (96° GL) + 170 mL de água. No caso de álcool absoluto o cálculo é mais simples: 800 mL de álcool + 200 mL de água.

Ferramentas

Pinças: São sempre necessárias para a coleta e manipulação dos espécimes. Os dois tipos mais usados são a pinça entomológica leve (Fig. 2B) e a pinça de tipo relojoeiro, de ponta fina e reta (Fig. 2C).

Caneta nanquim: Necessária para anotações e etiquetas (Fig. 2A). A tinta é indelével e resiste ao álcool depois de seca. **Não** use nenhum outro tipo de caneta para etiquetas.

Ferramentas para abrir ninhos e madeira e cavar o solo: picareta, machadinha, pá de jardinagem etc.

Aspirador entomológico: útil para coletar cupins de madeira; não recomendado para cupins de solo (o aspirador entope).

Licença de Coleta

Para coletar insetos para fins científicos no Brasil é necessário obter licença de coleta através do Sisbio/ICMBio. A obtenção da licença é de responsabilidade do coletor.

Técnicas de Coleta

Cupins vivem em colônias que podem estar em cupinzeiros epígeos (montículos ou murundus), arborícolas ou subterrâneos, ou dentro de madeira. Para abrir cupinzeiros e madeira é necessário usar picaretas, machados etc. Pedacos de ninhos e madeira podem ser colocados em bandejas plásticas para facilitar a triagem. Os cupins podem ser coletados com pinças, pinceis ou aspirador entomológico.

Cupins são insetos polimórficos e cada colônia possui indivíduos de tipos muito diferentes, chamados de castas: soldados, operários, imagos. Antes de iniciar a coleta é necessário aprender a reconhecer os indivíduos de castas diferentes.

Conteúdo de cada amostra

A amostra é um conjunto de espécimes representativos de **uma** colônia. Não misture indivíduos de ninhos diferentes num mesmo frasco. Cada amostra deve conter um bom número de indivíduos de cada casta presente na colônia: soldados, operários e imagos (alados, rainha, rei). Não basta apenas um de cada, porque sempre existe variação e o polimorfismo pode ser mais complexo do que parece para uma pessoa sem treino. Soldados são geralmente a casta mais importante para identificação e por isso devem ser incluídos em todas as amostras sempre que possível (exceto Apicotermatinae).

Os cupins da subfamília Apicotermatinae não possuem soldados e por isso as amostras geralmente contêm apenas operários. A maioria das espécies desse grupo vive no solo, os operários são sempre monomórficos (todos iguais) e o abdome é geralmente cinza fosco. São comuns em todas as regiões do Brasil.

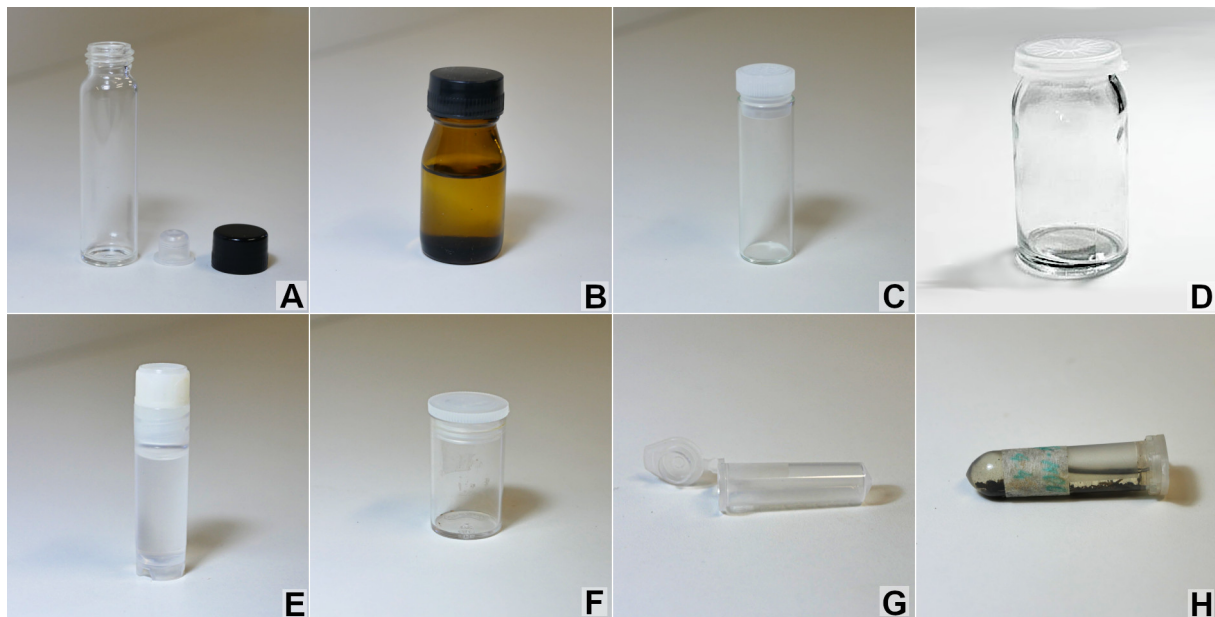


Figura 1: Frascos. A, frasco tubular de vidro transparente de 10 mL com tampa de rosca e batoque; B, frasco de vidro âmbar de 10 mL com tampa de rosca e batoque; C, frasco tubular de vidro (tipo *shell vial*) de 10 mL com tampa de pressão; D, frasco de vidro tipo *snap-cap* de 20 mL; E, criotubo de 2 mL (plástico); F, frasco plástico com tampa de pressão, de 10 mL (não recomendado); G, tubo tipo “Eppendorf” de 2 mL (não recomendado); H, exemplo de amostra com muitos **erros**: cheia de terra; etiqueta escrita com caneta comum que dissolve no álcool e colada no lado externo; frasco inadequado.

Fixação e Preservação

Os cupins devem ser fixados vivos diretamente no álcool. São insetos frágeis, de corpo mole, e devem ser manipulados com cuidado. O corpo de cada indivíduo deve ficar inteiro, com todos os apêndices, e não deve ser prensado, nem ficar deformado.

Limpeza das amostras

Todas as amostras devem passar por um processo de limpeza um ou dois dias depois da fixação. Para fazer a limpeza, despeje todo o conteúdo de cada frasco em uma placa de Petri. Descarte o álcool sujo e preencha o frasco com álcool limpo na mesma concentração (80%). Transfira os cupins de volta para o frascos, sem a sujeira. Para facilitar esse trabalho é possível usar flotação.

A limpeza é necessária porque a presença de solo, fragmentos de ninhos e de madeira prejudica a preservação dos espécimes e pode causar alteração da coloração. Solo com areia é abrasivo e pode causar perda de pelos e apêndices. Em alguns casos a sujeira tinge as etiquetas também.

Etiquetagem

Todas as amostras devem ser etiquetadas. As etiquetas devem ser pequenas, legíveis e resistentes ao álcool, e devem ser inseridas **dentro** do frasco, sem dobrar. **NÃO** cole a etiqueta no lado externo.

As etiquetas podem ser impressas com impressora laser sobre papel branco ou escritas manualmente com caneta nanquim. Não use impressora jato-de-tinta, nem outros tipos de caneta,

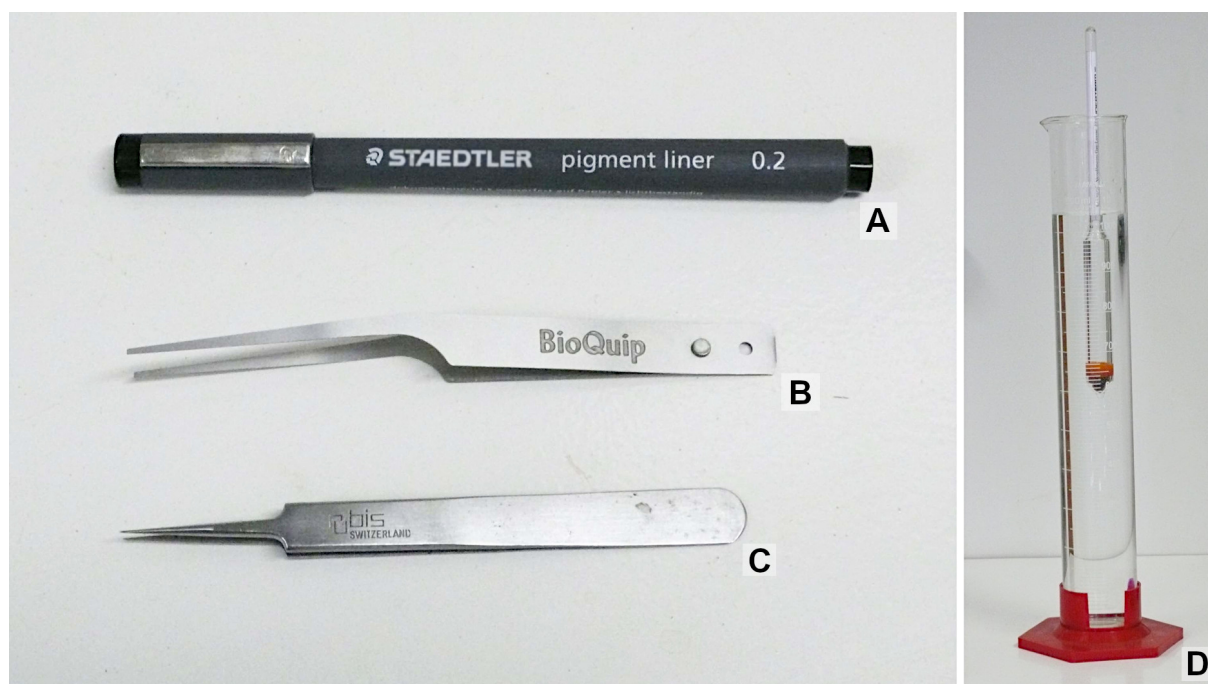


Figura 2: Materiais e ferramentas: A, caneta nanquim descartável, B, pinça entomológica leve; C, pinça de ponta fina (tipo relojoeiro); D, proveta com alcoômetro.

porque a tinta dissolve no álcool. Não use lápis, porque as etiquetas ficam pouco legíveis e elas tendem a apagar com a manipulação.

Para envio para identificação é essencial a numeração das amostras (exceto se for apenas uma). Os números de identificação devem ser únicos (sem repetição) e de fácil leitura. Uma forma tradicional é a seguinte: [iniciais do coletor][ano]-[número] (Fig. 3D). Exemplo: RC2020-001. Alternativamente, podem ser usadas iniciais do projeto, laboratório etc. Com esse esquema de numeração é possível preparar etiquetas impressas com antecedência, eliminando a necessidade de escrever etiquetas à mão no campo, o que representa perda de tempo e risco de erros. Esse número é vinculado ao caderno de campo, onde devem ser anotadas as informações detalhadas.

Tradicionalmente as etiquetas de coleta de insetos incluem as seguintes informações: local da coleta, data da coleta e nome do coletor (ver modelo na Fig. 3C) e esse é o tipo de etiqueta normalmente recomendado. Porém, se o objetivo é enviar as amostras para identificação, a etiqueta numerada é mais importante, porque sem um número identificador, como seria possível o envio da lista das espécies? Nesse caso as outras informações devem ser enviadas em uma planilha.

Envio de amostras para identificação

Tenha em mente que existem poucos taxonomistas e que eles são professores e pesquisadores com atribuições de ensino e pesquisa. Nenhum deles é contratado para realizar prestação de serviços de rotina de identificação. Não abuse da boa vontade do especialista.

Entre em contato com o especialista antes de enviar amostras e se possível antes de iniciar seu projeto.

Não envie amostras sujas, mal fixadas e desorganizadas. Isso é sinal de desleixo e desorganização, que são incompatíveis com trabalho científico. As amostras devem estar devidamente fixadas, etiquetadas, limpas e triadas.

É fortemente recomendável que seja realizado um trabalho prévio de identificação até nível

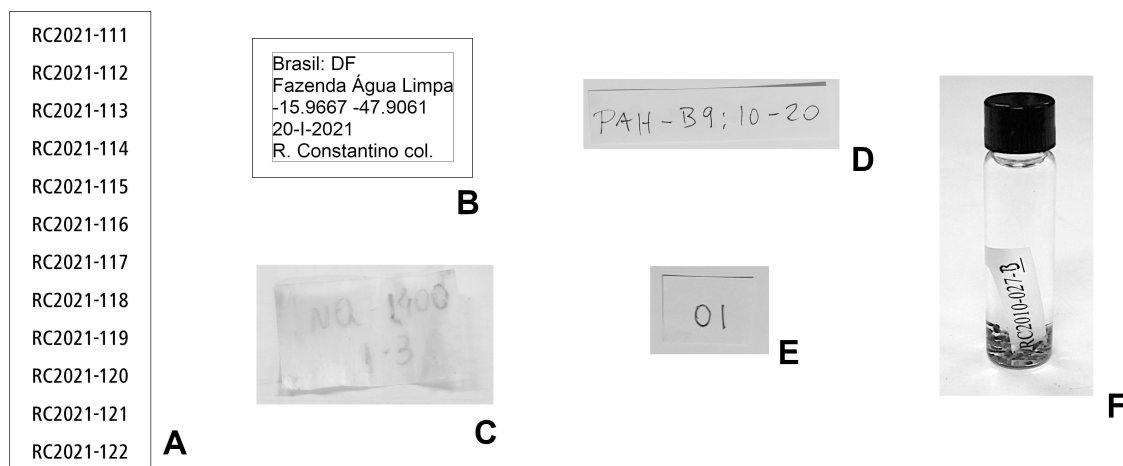


Figura 3: Etiquetas. A, etiquetas numeradas impressas; B, etiqueta padrão com os dados de coleta; C, etiqueta inadequada, escrita a lápis sobre papel vegetal; D, etiqueta com numeração confusa; E, etiqueta com numeração inadequada e ambígua (é 01 ou 10?); F, exemplo de amostra limpa, em frasco adequado e devidamente etiquetada.

de gênero e separação de morfoespécies. Existem várias chaves de identificação disponíveis para isso. Esse treinamento resultará também na melhoria da qualidade das coletas a partir do reconhecimento no campo dos gêneros e espécies mais comuns. Aprender um pouco de Taxonomia é sempre necessário, mesmo se o interesse do projeto seja outro.

Amostras de cupins podem ser enviadas pelo correio, desde que devidamente embaladas. Os problemas que devem ser evitados são o vazamento do álcool e a quebra dos frascos. Use frascos resistentes com boa vedação e envolva em sacos plásticos. Os frascos não devem ficar soltos dentro da caixa. Preencha os espaços vazios com flocos de isopor, papel picado ou outro material leve.

No caso de amostras enviadas apenas com numeração, é necessário enviar uma planilha com os dados das amostras. No caso de material enviado para o Laboratório de Termitologia da UnB, use a planilha disponível em <http://termitologia.net>.

Duplicatas e vouchers

Duplicatas têm duas finalidades: precaução contra acidentes (e.g. extravio de uma remessa) e organização de uma coleção de referência. Para criar duplicatas basta dividir cada amostra em dois frascos com a mesma numeração.

Envie apenas uma das duplicatas para identificação, mantendo a outra no laboratório de origem. Quando receber a identificação, adicione uma etiqueta com o nome da espécie em cada duplicata. Assim elas podem ser usadas para identificação de novas amostras por comparação.

Vouchers são amostras ou espécimes de referência depositados em uma coleção. A deposição de *vouchers* em coleções institucionais permanentes é considerada uma boa prática em qualquer trabalho de pesquisa que envolva animais e plantas, porque as amostras são parte dos dados, cuja preservação é responsabilidade dos autores. Essas amostras permitem reconferir a identificação no futuro, caso necessário. Para isso é essencial que as amostras sejam devidamente coletadas, fixadas e etiquetadas, preenchendo os requisitos mínimos para deposição em coleção institucional.

