

**AÇÃO DOS EXTRATOS DAS MADEIRAS DE PEROBA-ROSA,  
*Aspidosperma polyneuron* (APOCYNACEAE); CINAMOMO,  
*Melia* sp. (MELIACEAE); ITAÚBA, *Mezilaurus* sp. (LAURACEAE)  
E IPÊ, *Tabebuia* sp.(BIGNONIACEAE) NOS CUPINS-DE-  
MADEIRA-SECA, *Cryptotermes brevis* WALKER (ISOPTERA:  
KALOTERMITIDAE)**

**RICARDO RAMOS CABRERA**

Biólogo

Orientador: Prof. Dr. **EVÔNEO BERTI FILHO**

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências, Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Madeiras.

PIRACICABA

Estado de São Paulo - Brasil

Novembro - 2000

## ERRATA

**Página IX** – 5ª linha: onde se lê “13.3g”, leia-se “13,3g”.

**Página X** – 4ª linha: onde se lê “13,3g of sawdust of each wood species were extracted with 200ml of solvent”, leia-se “13.3g of sawdust for 200ml of the solvent of each wood species”.

**Página X** – 5ª linha: onde se lê “0,1g”, leia-se “0.1g”.

**Página X** – 7ª linha: onde se lê “for 30 day period”, leia-se “for a 30 day period”.

**Página X** – 11ª linha: onde se lê “fagoiinibidory”, leia-se “feeding inhibitory”.

**Página X** – 11ª linha: onde se lê “strongest”, leia-se “highest”.

**Página X** – 15ª linha: onde se lê “Termite symbionts were totally eliminated only the xilophagus symbionts”, leia-se “Termite symbionts were totally eliminated by the *Tabebuia* extracts, however extracts of other woods eliminated only the xylophagous symbionts (*Calonympha* sp. and *Devescovina* sp.)”.

**Página X** – 16ª linha: onde se lê “was unaffected”, leia-se “was not affected”.

**Página 1** – 2º parágrafo, 7ª linha: onde se lê “toxidez”, leia-se “toxicidade”.

**Página 10** – 1º parágrafo, 4ª linha: onde se lê “(Cupressaceae)”, leia-se “(Leguminoseae)”.

**Página 11** – 2º parágrafo, 2ª linha: onde se lê “extrativos”, leia-se “extratos”.

**Página 20** – 1º parágrafo, 2ª linha: onde se lê “Consumo do sustrato (g) = Peso após o ensaio (g) – Peso antes do ensaio (g)”, leia-se “Consumo do substrato (g) = Peso antes do ensaio (g) – Peso após o ensaio (g)”.

**Página 28** – Tabela 2: onde se lê “média do número de cupins mortos”, leia-se “média estimada do número de cupins mortos”.

**Página 32** – Tabela 3: onde se lê “valores médios do número de simbiontes”, leia-se “valores médios estimados do número de simbiontes”.

**Página 33** – Tabela 4: onde se lê “média dos valores obtidos”, leia-se “média estimada dos valores obtidos”.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - Campus "Luiz de Queiroz"/USP**

Cabrera, Ricardo Ramos

Ação dos extratos das madeiras de peroba-rosa, *Aspidosperma polyneuron* (Apocynaceae); cinamomo, *Melia* sp. (Meliaceae); itaúba, *Mezilaurus* sp. (Lauraceae) e ipê, *Tabebuia* sp. (Bignoniaceae) nos cupins-de-madeira-seca, *Cryptotermes brevis* Walker (Isoptera: Kalotermitidae) / Ricardo Ramos Cabrera. - - Piracicaba, 2000.

51 p.

Dissertação (mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2000.

Bibliografia.

1. Cinamomo 2. Cupim xilófago 3. Extrato de madeira 4. Ipê 5. Peroba-rosa I. Título

CDD 634.97372

**"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"**

**AÇÃO DOS EXTRATOS DAS MADEIRAS DE PEROBA-ROSA,  
*Aspidosperma polyneuron* (APOCYNACEAE); CINAMOMO,  
*Melia* sp. (MELIACEAE); ITAÚBA, *Mezilaurus* sp. (LAURACEAE)  
E IPÊ, *Tabebuia* sp.(BIGNONIACEAE) NOS CUPINS-DE-  
MADEIRA-SECA, *Cryptotermes brevis* WALKER (ISOPTERA:  
KALOTERMITIDAE)**

RICARDO RAMOS CABRERA

Aprovada em:

Comissão julgadora:

Prof. Dr. Evôneo Berti Filho

ESALQ/USP

Prof. Dr. Ivaldo Jankowsky

ESALQ/USP

Prof. Carlos Frederico Wilcken

UNESP

Prof. EVÔNEO BERTI FILHO

Orientador

Aos meus pais

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Evôneo Berti Filho, cuja orientação permitiu a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Tadeu de Lelis, pelo auxílio no trabalho.

À Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pelo auxílio financeiro.

Ao Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo (IPT), em especial aos Agrupamentos de Preservação de Madeira e Propriedades Básicas da Madeira.

Ao Prof. Dr. Mário Tomazello Filho, pelo intercâmbio com o Horto de Tupi, para a obtenção da madeira de cinamomo.

Ao Horto de Tupi, pela doação da madeira de cinamomo.

Ao Dr. Antonio Salatino, professor do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo, pela sugestão do solvente clorofórmio para a prática dos estudos.

Ao Prof. Dr. Odair Corrêa Bueno, pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao colega de trabalho, Décio Kazuo Suganuma, pelo auxílio em todo o trabalho.

À Adelaide Janizelli pelo incentivo e companherismo.

Ao meu pai, Clóvis Cabrera, pelo incentivo e revisão do documento.

Ao Sérgio Brazolin, chefe do Agrupamento de Preservação de Madeiras - IPT, pela revisão do documento e críticas ao trabalho.

Aos Professores Dr. Márcio Augusto Rabelo Nahuz e Dr. Ivaldo Jankowsky, pela revisão do documento e críticas ao trabalho.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS .....	vi
LISTA DE TABELAS .....	vii
RESUMO .....	ix
SUMMARY .....	x
1 INTRODUÇÃO .....	1
2 REVISÃO DA LITERATURA .....	3
2.1 Biodeterioração e preservação da madeira.....	3
2.2 Biologia dos cupins .....	4
2.3 Extrativos Vegetais .....	8
3 MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1 Cupins .....	14
3.2 Madeiras .....	14
3.3 Método de extração .....	16
3.4 Impregnação e pesagem dos corpos-de-prova .....	17
3.4.1 Corpo-de-prova .....	17
3.4.2 Impregnação .....	18
3.5 Testes de exposição aos cupins .....	18
3.5.1 Metodologia .....	18
3.5.1.1 Consumo e mortalidade .....	19
3.5.1.2 Simbiontes e muda .....	20
3.6 Avaliação .....	24
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	25
4.1 Consumo do substrato .....	25
4.2 Mortalidade dos cupins .....	27
4.3 Comparação dos resultados obtidos quanto ao consumo e mortalidade .....	28

4.4	Influência dos extratos nos simbiontes .....	31
4.5	Influência dos extratos na muda dos cupins .....	33
4.6	Discussão geral dos resultados .....	35
5	CONCLUSÃO .....	39
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	40
	ANEXOS .....	47
	ANEXO A. Metodologia desenvolvida e utilizada pelo IPT para testes de resistência natural de madeiras e/ou preservantes aos <i>Cryptotermes brevis</i> . .....	47
	ANEXO B. Resultado completo do teste de consumo e mor- talidade, incluindo a contagem dos simbiontes para os extratos clorofórmicos e etanólicos de Cinamomo, Ipê, Itaúba e Peroba-Rosa. ....	48
	ANEXO C. Resultado completo do teste para verificação dos simbiontes nos extratos clorofórmicos de Ipê e Itaúba. ....	50
	ANEXO D. Resultado completo do teste para verificação da muda nos extratos clorofórmicos de Ipê e Itaúba. ....	51



## LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Unidade de teste .....	19
Figura 2. Simbiontes intestinais encontrados em cupins-de- madeira-seca, <i>Cryptotermes brevis</i> . .....	21
Figura 3. Cupins da espécie <i>Cryptotermes brevis</i> coloridos com solução aquosa de nigrosina a 1%. .....	24
Figura 4. Quadro comparativo de consumo de substrato x mortalidade de cupins-de-madeira-seca, <i>Cryptotermes brevis</i> , após 30 dias de exposição em substratos impregnados com 0,15 ml de soluções de extratos de madeiras. Número de cupins por unidade = 10.....	29

## LISTA DE TABELAS

	Página
<p>Tabela 1. Média dos valores e seus respectivos desvios padrões obtidos para o consumo de substratos impregnados com 0,15 ml de soluções 0,1 g/ml de extratos, após 30 dias de exposição ao cupim <i>Cryptotermes brevis</i>. As letras em negrito correspondem a análise estatística Kruskal-Wallis..</p>	26
<p>Tabela 2. Média do número de cupins mortos e seus desvios padrões obtidos em cada série de substratos impregnados com 0,15 ml de soluções (0,1g/ml) de extratos de madeiras, após 30 dias de exposição. As letras em negrito correspondem a análise estatística Kruskal-Wallis.....</p>	28
<p>Tabela 3. Primeiro teste - Valores médios do número de simbioses por cupim – <i>Cryptotermes brevis</i>, após 30 dias de exposição a substratos impregnados com 1,0 ml de solução (0,1 mg/ml) de extratos de madeiras.....</p>	32
<p>Tabela 4. Segundo teste - Média dos valores obtidos para a quantidade de simbioses xilófagos, em soluções de 0,1g/ml, ao término de 07 dias, a <i>Cryptotermes brevis</i>.....</p>	33
<p>Tabela 5. Segundo teste - Média dos valores obtidos para a observação da muda, em soluções de 0,1g/ml, ao término de 07 dias, a <i>Cryptotermes brevis</i>.....</p>	34

Tabela 6. Quadro geral dos resultados obtidos, classificando qualitativamente dentro de cada modalidade de teste. ....	35
--	----

**AÇÃO DOS EXTRATOS DAS MADEIRAS DE *Aspidosperma polyneuron* (APOCYNACEAE, PEROBA-ROSA), *Melia* sp. (MELIACEAE, CINAMOMO), *Mezilaurus* sp. (LAURACEAE, ITAÚBA) E *Tabebuia* sp. (BIGNONIACEAE, IPÊ NOS CUPINS-DE-MADEIRA-SECA, *Cryptotermes brevis* WALKER (ISOPTERA: KALOTERMITIDAE)**

Autor: RICARDO RAMOS CABRERA

Orientador: Prof. Dr. EVÔNEO BERTI FILHO

## **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo verificar a ação de extratos de clorofórmio e etanol das madeiras de peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron*), cinamomo (*Melia* sp.), itaúba (*Mezilaurus* sp.) e ipê (*Tabebuia* sp.) nos cupins-de-madeira-seca (*Cryptotermes brevis*). Os extratos foram obtidos no destilador Soxhlet na proporção de 13.3g de pó-de-serra para 200ml de solvente, para cada tipo de madeira, e diluídos na concentração de 0,1g de extrato para 1ml dos respectivos solventes. Discos de papel-filtro receberam 0,15ml de extrato diluído e foram expostos aos cupins por 30 dias. Foram analisados o consumo do substrato (papel-filtro), mortalidade dos cupins (número de cupins mortos) e a influência destes extratos nos simbioses intestinais e na muda destes insetos. Os resultados foram analisados estatisticamente pelo método de Kruskal-Wallis. A maior fagoinibição foi obtida com os extratos de cinamomo, em solvente clorofórmio, e de itaúba e ipê, ambos em etanol. A maior toxicidade foi observada com os extratos de ipê, em ambos os solventes, e de itaúba, em etanol. Os extratos de ipê causaram eliminação total dos simbioses, enquanto que os extratos das outras madeiras eliminaram apenas os simbioses xilófagos (*Calonympha* sp. e *Devescovina* sp.). Os extratos estudados não tiveram ação na muda dos cupins. Conclui-se que as madeiras de peroba-rosa, cinamomo, itaúba e ipê apresentaram substâncias com propriedades fagoinibidoras e tóxicas aos cupins-de-madeira-seca.

**EFFECTS OF EXTRACTS OF THE WOODS *Aspidosperma polyneuron* (APOCYNACEAE), *Melia sp.* (MELIACEAE), *Mezilaurus sp.* (LAURACEAE) AND *Tabebuia sp.* (BIGNONIACEAE) AGAINST DRYWOOD TERMITES, *Cryptotermes brevis* WALKER (ISOPTERA: KALOTERMITIDAE)**

Author: RICARDO RAMOS CABRERA

Adviser: Prof. Dr. EVÔNEO BERTI FILHO

## **SUMMARY**

Wood samples of *Aspidosperma polyneuron*, *Melia sp.*, *Mezilaurus sp.* and *Tabebuia sp.* were extracted with chloroform or ethanol and tested for their activity against the drywood termite *Cryptotermes brevis*. The extracts were obtained in Soxhlet with 13,3g of sawdust of each wood species were extracted with 200ml of solvent. The extracts were diluted at a concentration of 0,1g per 1ml of solvent, prior to application to cellulose filter papers used to feed termites for 30 day period. Diluted extracts were applied at a rate of 0.15ml per filter paper. The following parameters were measured: substrate consumption, termite mortality and the effects of the extracts on the symbiont microbiota of termite guts. Results were statistically analyzed by the Kruskal-Wallis method. All extracts were either toxic or fagoinibidory to the termites. The strongest fagoinhibition occurred with the extracts from *Melia sp.* in chloroform, *Mezilaurus sp.* in ethanol and *Tabebuia sp.* in ethanol. *Tabebuia sp.* extracts with both solvents and ethanol extracts of *Mezilaurus sp.* caused the highest mortality of termites. Termite symbionts were totally eliminated only the xilophagus symbionts. Termite moult was unaffected by the extracts. In conclusion, chloroform and ethanol extracts of the four wood species contain compounds toxic to termites and their symbionts.

## 1 INTRODUÇÃO

Os cupins são insetos sociais de grande importância, tendo participação fundamental na reciclagem da matéria orgânica de origem vegetal. Existem, entretanto, algumas espécies que causam prejuízos ao homem, seja nos centros urbanos, danificando móveis e madeiras dos componentes das edificações, ou em regiões agrícolas, atacando lavouras como a de cana-de-açúcar. Outro problema bastante evidenciado na agricultura são os ninhos epígeos de algumas espécies (murunduns) que dificultam o manejo das culturas devido a sua estrutura ser muito resistente.

No interior das edificações das grandes cidades, muitas espécies de cupins encontram condições favoráveis para a sua sobrevivência, como por exemplo a grande disponibilidade de madeiras sem tratamento, o fácil acesso à água e os espaços que proporcionam proteção contra a luz e inimigos naturais. O método convencional de combate aos cupins tem como princípio a utilização de produtos químicos. Estes produtos, hoje em uso, principalmente organofosforados e piretróides, apresentam toxidez para o homem e outros seres vivos e risco de contaminação do meio ambiente. O tratamento curativo, ou seja, o controle destes insetos em lugares já infestados, exige grandes investimentos; por exemplo, para 240 edificações na cidade de São Paulo foi estimado US\$ 3.350.000,00. (Lelis, 1994). Frente à toxicidade dos inseticidas para o homem e o meio ambiente e o alto custo do controle das infestações, estão sendo desenvolvidas pesquisas, em vários países, com produtos e métodos alternativos para o combate desses insetos, como o uso de feromônios, análogos do hormônio juvenil, inibidores da

síntese de quitina, microrganismos patogênicos e extrativos vegetais. No caso de extrativos vegetais, os estudos não visam utilizá-los diretamente, mas sim conhecer os seus componentes químicos de ação tóxica ou repelente aos cupins e sintetizá-los para uso em grande escala.

O objetivo desta pesquisa foi verificar a ação dos extratos etanólicos e clorofórmicos das madeiras de peroba-rosa, *Aspidosperma polyneuron* (Apocynaceae); cinamomo, *Melia* sp. (Meliaceae); Itaúba, *Mezilaurus* sp. (Lauraceae); e ipê, *Tabebuia* sp. (Bignoniaceae) sobre o cupim-de-madeira-seca, *Cryptotermes brevis* (Kalotermitidae), em condições laboratoriais.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Biodeterioração e preservação da madeira

A deterioração pode ser provocada por agentes físicos, químicos ou biológicos, isoladamente ou em conjunto (Cavalcante, 1982). Os organismos que deterioram a madeira são principalmente fungos apodrecedores, insetos (várias espécies de cupins e de besouros dentre outros) e organismos marinhos (algumas espécies de crustáceos e moluscos). A madeira é degradada biologicamente porque esses organismos, denominados xilófagos, reconhecem os polímeros naturais da parede celular (celulose, hemiceluloses, lignina) como fonte de nutrição, e alguns deles possuem sistemas enzimáticos específicos capazes de metabolizá-los em unidade digeríveis (Oliveira et al., 1986).

Os fungos podem deteriorar profundamente a madeira em condições bem determinadas de umidade e temperatura, nutrindo-se dos diferentes componentes da parede celular. Os Coleópteros, conhecidos como brocas-de-madeira, procuram nesse substrato principalmente o amido, substância de reserva encontrada geralmente na região do alburno. Os cupins se alimentam principalmente da celulose, componente abundante na madeira, formado por moléculas de glicose. As madeiras imersas em meio marinho (águas salgadas ou salobras) podem ser atacadas por algumas espécies de crustáceos e moluscos, sendo os Teredos (moluscos) os responsáveis pelos maiores danos. (Deón, 1989)

Existem inúmeras maneiras de se retardar a ação de organismos deterioradores. O método mais amplamente adotado é o da impregnação da



madeira com substâncias tóxicas a esses organismos. Há vários processos de impregnação de madeira, bem como diferentes produtos que podem ser empregados. A escolha de cada processo e produto depende principalmente do ambiente em que a madeira vai ser utilizada (Cavalcante, 1982).

Graham (1973), citado por Cavalcante (1986), comenta que a prática de proteção de madeiras já vem de muito tempo. Civilizações antigas de Birmânia, China, Egito, Grécia e Itália procuravam proteger a madeira com óleos vegetais, animais e minerais. Gregos e romanos chegaram até a injetar estes óleos no interior da madeira através de orifícios previamente feitos.

A impregnação de madeiras pode ser feita por processos industriais, onde é usado autoclave que permite impregnação profunda ou por um tratamento mais superficial com a aplicação de uma solução inseticida por pincelamento ou pulverização. Como os produtos empregados nesses tratamentos são tóxicos ao homem e ao meio ambiente, isto tem levado a pesquisas de novos produtos para esta finalidade. No Brasil a preservação da madeira tem relevante importância, não só pela quantidade de madeira empregada, como também, e sobretudo, pelas condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento e à ação dos agentes biológicos que destróem a madeira. (Mascarenhas, 1989)

## **2.2 Biologia dos cupins**

Os cupins são responsáveis por até 50% do consumo da matéria vegetal depositada na superfície dos solos das florestas tropicais (Silva & Bandeira, 1997) e apenas algumas espécies causam prejuízos ao homem. Estes insetos constituem a ordem Isoptera que está dividida em sete famílias: Mastotermitidae, Hodotermitidae, Termopsidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae, Serritermitidae e Termitidae; sendo que as quatro últimas são encontrados no

Brasil. (Grassé, 1986)

A sociedade dos cupins é composta normalmente por três castas: Reprodutores, Operários e Soldados. Os Reprodutores, são os indivíduos destinados à reprodução, sendo a única casta fértil da colônia e podem ser primários (originados a partir de alados, indivíduos responsáveis pela fundação de novas colônias) ou secundários (originados a partir de ninfas ou operários, chegando em alguns casos a fundar novas colônias). Os Operários são os responsáveis pela alimentação de todas as outras castas e pela construção e manutenção do ninho e os Soldados executam a tarefa de proteção da colônia. (Kofoid, 1934).

O hábitat preferido dos cupins são locais quentes e úmidos, e por isso eles são predominantemente encontrados nas Regiões Tropicais. Dentre as espécies que constróem ninhos, este é constituído de terra, fezes e matéria orgânica, em diferentes proporções, e têm como aglomerante a saliva (Grassé, 1984). A nidificação ocorre nos mais variados locais. Existem espécies que constróem os ninhos em árvores (copa ou interior), no solo (na forma de montículos ou totalmente subterrâneos), ou com câmaras e galerias sob pedras e troncos de árvores (Forti & de Andrade, 1995). O alimento fundamental dos cupins é a celulose que está presente em grande quantidade na madeira, porém a maioria das espécies não consegue degradá-la por não possuir enzimas celulolíticas ou as produzem em baixa quantidade. Esta degradação é feita normalmente pelos simbiontes: protozoários flagelados e/ou bactérias, presentes no intestino posterior destes insetos, com exceção de algumas espécies, como é o caso da subfamília Macrotermitinae (família Termitidae) que se alimentam da matéria orgânica vegetal degradada por fungos que cultivam em suas colônias (Oliveira et al, 1986). Esta associação entre os cupins e os diferentes microrganismos constitui uma simbiose mutualística e é indispensável à sobrevivência desses insetos (Honigberg, 1970).

Os cupins ditos inferiores (famílias Mastotermitidae, Kalotermitidae, Termopsidae, Hodotermitidae, Serritermitidae e Rhinotermitidae)

possuem uma microfauna composta por bactérias e protozoários, enquanto que os cupins ditos superiores (família Termitidae) possuem apenas bactérias (Eaton & Hale, 1993). A espécie *Cryptotermes brevis* (Kalotermitidae), essencialmente xilófaga, possui uma grande diversidade de simbioses intestinais (protozoários) pertencentes às famílias **Calonymphidae**: *Calonympha grassi*, *Snyderella ypiranga*, *Devescovina striata*, *Foaina humilis* e *F.nana*; **Monocercomonadidae**: *Hexamastix conclaviger*, *H.disclaviger* e *Tricercomitus divergens*; e **Oxymonadidae**: *Oximonas brevis* (Krishna, 1961). Esses microrganismos são expelidos por ocasião da muda, quando o inseto elimina o seu conteúdo intestinal; entretanto esta fauna é rapidamente repostada pela trofalaxia, ou seja, a transferência de alimento elaborado entre os indivíduos, o que os torna dependentes entre si (Kirby, 1934). Assim, pelo fato dos cupins dependerem, total ou parcialmente, dos simbioses para digerir a celulose, uma redução significativa no número total de simbioses em uma colônia de cupins, poderia resultar na sua eliminação (Lelis, 1992)

Restringindo-se aos cupins que vivem no território brasileiro e às três famílias que causam prejuízos ao homem, podemos distinguir três graus de desenvolvimento desses insetos, particularmente no que se refere à diferenciação da casta dos operários (Noirot, 1982). A família **Kalotermitidae** não possui uma casta definida de operários, esta casta é formada por indivíduos da linhagem reprodutiva que ainda não se desenvolveram completamente e são denominados "pseudergates". A família **Rhinotermitidae** apresenta melhor definição dessa casta mas há ainda uma relativa plasticidade de diferenciação. Finalmente é na família **Termitidae** onde se encontram espécies com uma casta de operários típica, isto é, de indivíduos que ao atingir esse desenvolvimento não se diferenciam mais. Acrescenta-se a esta diferenciação dos operários, uma diferenciação das estruturas de defesa dos soldados. Na família Kalotermitidae a defesa é mecânica, feita principalmente pelas mandíbulas; na família Rhinotermitidae tem-se a conjugação de mandíbulas e arma química (secreção frontal), enquanto que na família Termitidae a arma química chega à sua maior

especialização, com espécies onde os soldados apresentam somente este tipo de arma e as mandíbulas são estruturas vestigiais (Deligne et al., 1981).

A espécie conhecida popularmente como cupim-subterrâneo, *Coptotermes havilandi* (Rhinotermitidae) é de origem asiática, tendo sido reportada pela primeira vez no Brasil em Santos no ano de 1923 e no Rio de Janeiro em 1934 (Araújo, 1970). Este cupins causam os maiores prejuízos ao meio urbano da região sudeste do país e geralmente são encontrados atacando os componentes das madeiras das edificações e chegando, muitas vezes, a danificar outros materiais não celulósicos, encanamentos, tubulações e condutores elétricos (Bonturi, 1998)

A espécie conhecida popularmente como cupim-de-madeira-seca, *Cryptotermes brevis* (Kalotermitidae), que segundo Bacchus (1987) citado em Bandeira et al.(1998) se distribui, atualmente, por todas as regiões zoogeográficas, é encontrada essencialmente no ambiente doméstico e que segundo Edwards & Mill (1986) citado em Bandeira et al. (1998) foi detectada inicialmente no Brasil nas regiões sudeste e norte. Seu dano mais frequente é no mobiliário, porém este ataque pode se estender aos componentes de madeira da edificação tais como o madeiramento de telhados e guarnições. Estes cupins têm como principal característica viver em madeiras com baixos teores de umidade (inferior à 30%), seu ninho se restringe às galerias escavadas na madeira; suas fezes são secas e peletizadas; e suas colônias possuem poucos indivíduos quando comparados com a espécie *Coptotermes havilandi*, ou seja, apenas algumas centenas de indivíduos.

Dentre as espécies nativas do Brasil, algumas são encontradas causando danos no meio urbano: *Nasutitermes globiceps* (Termitidae), ocorre, por exemplo, no Distrito de Artemis – pequeno aglomeramento urbano, próximo à cidade de Piracicaba / SP e *Heterotermes tenuis* (Rhinotermitidae) na Cidade e interior do Estado de São Paulo. Algumas espécies dos gêneros *Nasutitermes* e *Microcerotermes* (Termitidae) são encontrados na faixa litorânea do Estado de São Paulo. (Lelis, 1994; Observação pessoal).

No meio rural, a cana-de-açúcar é uma cultura muito atacada por cupins em todos os Estados do Brasil. Estes cupins causam redução de mais de 10 milhões de toneladas de cana por ano, com prejuízos anuais estimados em US\$ 200 milhões. Esses prejuízos são provocados principalmente por *H. tenuis*, espécie presente em praticamente todos os canaviais onde se efetuam levantamento termitico, e também por espécies da família Termitidae, pertencentes aos gêneros *Cornitermes*, *Syntermes*, *Nasutitermes*, *Procornitermes* e *Neocapritermes*. (Alves & de Almeida, 1995)

Para o controle dos cupins é necessário o conhecimento da sua biologia. Estes insetos possuem, por exemplo, táticas de defesa contra a introdução de substâncias repelentes e o comportamento de limpeza constante do ninho, chegando a ingerir ou enterrar os indivíduos mortos, evitando a proliferação de microrganismos patogênicos. Em testes realizados durante estágio do autor no IPT, observou-se que a espécie *Coptotermes havilandi* quando exposta a produtos químicos, tem o comportamento de isolar o local tratado, obstruindo os túneis que servem de via de passagem entre o ninho e o alimento. Em testes com a possibilidade de escolha de alimento, os insetos se concentraram na madeira menos resistente ou sem produto inseticida.

### 2.3 Extrativos Vegetais

Os extrativos vegetais são substâncias químicas, adicionais aos componentes da parede celular da madeira (celulose, hemicelulose e lignina), e que muitas vezes apresentam propriedades fungicidas e inseticidas. Seguindo o que se encontrou na literatura, o termo extrativo será utilizado genericamente, enquanto que o termo extrato será usado quando se tratar de um extrativo específico, como por exemplo, "*o extrato de ipê*".

Os primeiros inseticidas de origem vegetal utilizados foram a

nicotina, a rotenona e as piretrinas. Estas substâncias deixaram de ser utilizadas com o surgimento dos inseticidas organoclorados que mostravam ser mais eficientes e baratos. A retomada dos estudos deveu-se à necessidade de novos compostos para o uso no manejo de pragas sem o problema de contaminação ambiental, resíduos nos alimentos, efeitos prejudiciais sobre organismos benéficos e do aparecimento de insetos resistentes (Vendramim, 1997).

Os extratos vegetais mais divulgados são as Piretrinas, extraídas do *Chrysanthemum cinerariaefolium* (família Asteraceae) e que apresentam alta toxicidade aos insetos e baixa aos vertebrados (Giannotti, 1975). Nos insetos, os piretróides, sintéticos das Piretrinas, interferem na transmissão do impulso nervoso (Villa Nova et al., 1993) e de acordo com Carter (1984) citado por Lepage (1986), os piretróides mostraram ser bastante eficientes a cupins e a brocas-de-madeira em reduzidas concentrações.

As plantas com propriedades inseticidas constituem uma alternativa viável para o combate a insetos. Elas têm sido utilizadas de forma rotineira no controle de pragas de grãos armazenados, destacando-se as plantas das famílias Meliaceae, Labiatae, Umbeliferae, Compositae, Lauraceae, dentre outras (Oliveira, 1997). A preservação de madeiras com substâncias isoladas de extrativos vegetais é uma área do controle alternativo de cupins que tem como principal vantagem a baixa toxidez destas substâncias ao homem.

A cor da madeira, bem como sua durabilidade natural são propriedades que dependem da presença de extrativos. Os extrativos não são distribuídos de forma homogênea na madeira. A maior concentração dos extrativos ocorre nas partes externas do cerne e próximo à sua base, diminuindo em direção à medula e ao topo. No alburno praticamente não existem extrativos e, conseqüentemente, sua resistência natural ao ataque de organismos deterioradores é bastante baixa (Lepage, 1986). Em relação à composição química, os produtos do metabolismo primário, como açúcares solúveis, lipídeos e peptídeos, e os compostos armazenados na madeira, como o amido, fornecem o principal suprimento de fontes de carbono de fácil assimilação para os

organismos xilófagos. Os extrativos afetam o desenvolvimento de fungos de diferentes maneiras: podem servir como fonte de carbono e estimular ou inibir o crescimento. Dentre os extrativos responsáveis pela inibição do crescimento estão os terpenos e seus derivados, as tropolonas, e os compostos fenólicos, como flavonóides, estibenos, quinonas, lignanas e taninos (Monteiro, 1997).

Wardell (1987), citado em Wilcken & Raetano (1995), relata o uso de extrato aquoso de *Aloe graminicola* (Liliaceae) na proteção de mudas de plantas contra cupins-subterrâneos. O mesmo autor comenta o uso de folhas de *Cassia siamea* (Caesalpinaceae), *Leucaena leucocephala* (Cupressaceae), *Melia azedarach* (Meliaceae) e *Azadirachta indica* (Meliaceae) em viveiros florestais.

Segundo Jones et al. (1983), citado em Wilcken & Raetano (1995), os extratos obtidos da madeira de 6 espécies florestais brasileiras: *Carapa guianensis*, *Copaifera multijuga*, *Couropita subsessilis* e *Platymiscium ulei* mostraram possuir propriedades tóxicas, repelentes, fagoínibidoras e antiprotozoárias para *Reticulitermes flavipes* (Rhinotermitidae).

A maioria das pesquisas que estão sendo realizadas relatando a ação tóxica dos extrativos da madeira para os cupins são das seguintes espécies:

- **Família Annonaceae-** *Xilopia aethiopica* (Lajide et al., 1995)
- **Família Bignoniaceae-** *Tabebuia guayacan* (Grace et al., 1989) e *Tabebuia ochracea* (Grace et al., 1989)
- **Família Cupressaceae-** *Juniperus virginiana* (McDaniel, 1989)
- **Família Dipterocarpaceae-** *Dipterocarpus kerrii* (Richardson et al., 1989, 1991)
- **Família Leguminosae-** *Centrolobium* sp. (Grace et al., 1989), *Detarium microcarpum* (Lajide et al., 1995), *Lonchocarpus castilloi* (Reyes-Chilpa et al., 1995) e *Lysiloma seemanii* (Grace et al., 1989)
- **Família Meliaceae-** *Azadirachta indica* (Ishida et al., 1992) e *Melia azedarach* (Lin & Wang, 1988)
- **Família Pinaceae-** *Pinus pinaster* (Nagnan & Clement, 1990), *Pinus ponderosa* (Grace et al., 1989), *Pseudotsuga menziesii* (Grace et al., 1989),

*Chamaecyparis lawsoniana* (MacDaniel, 1989) e *Chamaecyparis formosensis* (Ando et al., 1994)

- **Família Rutaceae-** *Citrus* sp. (Primavesi, 1987), *Citrus natsudaikai* (Serit et al., 1991), *Phellodendron chinense* (Su et al., 1990) e *Phellodendron amurense* (Kawaguchi et al., 1989)
- **Família Taxodiaceae-** *Taxodium distichum* (Scheffrahn et al., 1988).

Os cupins utilizados em testes com extrativos, reportados na bibliografia, são:

- **Família Rhinotermitidae-** *Coptotermes formosanus* (Scheffrahn et al., 1988; MacDaniel et al., 1989; Lin & Wang, 1988), *Reticulitermes flavipes* (MacDaniel, 1989; MacDaniel et al., 1989), *Reticulitermes virginicus* (MacDaniel et al., 1989), *Reticulitermes hesperus* (Grace et al., 1989) e *Reticulitermes speratus* (Serit et al., 1991; Lajide et al., 1995)
- **Família Kalotermitidae-** *Neotermes dalbergiae* (Richardson et al., 1991), *Neotermes* sp. (Messer et al., 1990) e *Cryptotermes brevis* (Reyes-Chilpa et al., 1995).
- **Família Termopsidae-** A única espécie citada foi *Zootermopsis angusticollis* (Richardson et al., 1989), causadora de grandes prejuízos nos Estados Unidos.

A sobrevivência de indivíduos da espécie *Reticulitermes hesperus* (Rhinotermitidae) em papel filtro com extrativos de *Pseudotsuga menziesii* foi de 100% durante os primeiros cinco dias e 81-87% em 15 dias. No mesmo experimento foram testados extratos de *Lysiloma seemanii* e *Tabebuia ochracea*, apresentando alguma toxidez, e de *Pinus ponderosa* e *Tabebuia guayacan* que mostraram ser repelentes contra esta espécie de cupim (Grace et al., 1989).

Extratos metanólicos das frutas, folhas, casca e sementes de *Melia azedarach* testados com a espécie *Coptotermes formosanus* apresentaram, respectivamente, uma mortalidade de 100, 90, 85 e 65% em sete dias. (Lin et al.,



1988).

A substância Melianona, extraída do fruto de *Phellodendron chinense* mostrou ser muito eficiente quando testada com *Reticulitermes speratus* (Su et al., 1990).

Extratos de *Lonchocarpus castilloi*, obtidos com diferentes solventes (hexano, éter, acetona, metanol e água) apresentaram efetividade equivalentes quando expostos à quinze pseudergates de terceiro "instar" da espécie *Cryptotermes brevis*, em testes laboratoriais utilizando papéis-filtro impregnados, durante 36 dias. (Reyes-Chilpa et al., 1995)

Extratos de sementes de *Citrus natsudaïdai* aplicados em papel-filtro com uma dosagem de 500 a 2000 mg/papel apresentaram como resultado a inibição da alimentação em ninfas de *Reticulitermes speratus*. Três substâncias foram identificadas: obacunona, limonina e nomilina. A substância que apresentou melhor resultado foi a Obacunona em uma dosagem de 150 mg/papel, sendo duas vezes mais ativa que a Nomalina; Limonina teve efeito com uma dosagem superior a 1000 mg/papel (Serit et al., 1991).

A resina de *Dipterocarpus retusus* e *D.intricatus* sobre a espécie *Neotermes* (cf)*dalbergiae* (Fam.Kalotermitidae) ocasionou uma perda considerável dos protozoários simbiontes quando aplicada em papéis-filtro tratados com 12,5 mg e 25 mg de resina (Messer et al., 1990). A população anormal de protozoários em testes com extrativos resulta dos efeitos sub-letais dos extrativos sobre os cupins. (Carter et al., 1975)

O produto sintetizado Gamagurjunenol, derivado de *Dipterocarpus kerrii*, em ensaios com *Neotermes dalbergiae* apresentou uma mortalidade de 50% em sete dias (Richardson et al., 1991).

Primavesi (1987) afirma que para o tratamento de madeiramento e móveis pode-se aplicar uma pasta de cera de abelha, que se dissolve em banho-maria, com essência de Mexerica (*Citrus* sp.). Esta pasta é passada sobre os furos na madeira feitos pelos cupins e que segundo o autor, o óleo volátil da essência mata estes insetos.

Há diversas formas de se utilizar as plantas com propriedades inseticidas sendo mais comum o seu emprego na forma de pós secos, óleos, extratos aquosos e não aquosos: metanólico, etanólico, acetônico, clorofórmico, hexânico, etc. (Vendramim, 1997)

A obtenção de extrativos é feita por solventes orgânicos ou água. O sucesso das extrações sucessivas depende de fatores como a idade do vegetal, altura da árvore, método da extração e da sequência dos solventes utilizados. (Jensen et al, 1963)

Para a extração, MacDaniel (1989) utilizou uma sucessão de solventes (n-hexano; acetona e por último uma mistura de acetona, hexano e água na proporção de 54:44:2) por um período de três dias de extração, um solvente por dia, no destilador do tipo Soxhlet.

Silva & Assumpção (1970) estudando a ação fungicida de extrativos vegetais, submeteu as madeiras *Poecilanthe parviflora* (família Fabaceae), *Dalbergia nigra* (família Fabaceae), *Myroxylon balsamum* (família Fabaceae), *Astronium urundeuva* (família Anacardiaceae) e *Aspidosperma polyneuron* (família Apocynaceae), transformadas em pó-de-serra, ao destilador do tipo Soxhlet usando como solvente o Etanol, aproximadamente 1,5 litros de solvente para 100 gramas de pó-de-serra durante 24 horas. Posteriormente evaporou-se o solvente em balão de destilação até a obtenção do resíduo completamente seco.

De acordo com a revisão bibliográfica apresentada pode-se dizer que existem inúmeros trabalhos relatando a ação dos extratos de diferentes vegetais para os insetos, inclusive aos cupins. No entanto, os extratos são apenas indicadores de substâncias presentes em cada espécie de planta. Para estas substâncias serem utilizadas industrialmente para o controle de insetos, devem ser realizados testes com a substância individualmente e no fim sintetizá-la para a sua produção em escala comercial.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Cupins

A espécie de cupim utilizada neste estudo foi *Cryptotermes brevis* Walker (Kalotermitidae). Trata-se de uma das espécies mais frequentes na região sudeste do Brasil e fácil de ser coletada e mantida no laboratório. Os indivíduos foram fornecidos pelo Laboratório de Entomologia do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo S.A. (IPT), coletados de peças de madeira compensada mantidas em sala com temperatura e umidade ambiente.

#### 3.2 Madeiras

A escolha das quatro espécies de madeira foi direcionada na utilização de duas espécies com poder cupinicida reconhecido em publicações científicas, *Tabebuia sp.* (ipê) e *Melia azedarach* (cinamomo); uma espécie resistente aos cupins com base no conhecimento popular *Aspidosperma polyneuron* (peroba-rosa) e uma espécie comercial considerada de alta resistência à biodeterioração, *Mezilaurus sp.* (itaúba). As madeiras de peroba-rosa, ipê e itaúba foram adquiridas da Madeireira Amarante, empresa localizada na cidade de São Paulo, que forneceu a origem do material e a certeza de que não foram adicionados a elas nenhum tipo de produto químico, o que é feito na

maioria das madeiras para evitar fungos. Segundo a madeireira, a peroba-rosa foi coletada em Pontes e Lacerda (Mato Grosso), o ipê em Espigão D'Oeste (Rondônia) e a itaúba em Alta Floresta (Mato Grosso). O cinamomo foi doação do Horto de Tupi - Piracicaba.

A madeira de peroba-rosa, *Aspidosperma polyneuron* (Apocynaceae), possui, segundo Mainieri & Chimelo (1989), uma coloração do cerne que varia de róseo-amarelado ao amarelo-queimado levemente rosado, mais frequentemente vermelho-rosado; uma madeira pesada, uniforme ou com manchas escuras; grã direita ou revessa; textura fina; superfície sem lustre e lisa ao tato; cheiro imperceptível e gosto ligeiramente amargo. Os mesmos autores comentam que esta madeira demonstrou ter baixa resistência ao ataque de fungos e moderada aos insetos xilófagos. Quanto à tratabilidade, demonstrou ser de baixa permeabilidade às soluções preservantes por apresentar poros diminutos e parcialmente obstruído por óleo-resina e tilos. Suas principais aplicações são: vigas, caibros, ripas, portas, portões, assoalho, móveis pesados, degraus de escadas e dormentes.

A madeira de cinamomo, *Melia* sp. (Meliaceae), espécie exótica, que segundo Chudnoff (1979) apresenta no cerne uma coloração castanho-avermelhado, com estrias escuras, alburno branco-amarelado; grã direita; textura irregular; superfície lustrosa; cheiro e gosto imperceptíveis. O mesmo autor comenta que esta madeira demonstrou ser de alta resistência ao ataque de fungos e cupins.

A madeira de itaúba, *Mezilaurus* sp. (Lauraceae), apresenta, segundo Mainieri & Chimelo (1989), um cerne de coloração amarelo-oliváceo quando recém-polido, tornando-se pardo-havana-escuro; uma madeira muito pesada e uniforme; grã ondulada ou revessa; textura média; superfície irregularmente lustrosa e lisa ao tato; cheiro ligeiramente adocicado; e gosto imperceptível. Esta madeira, em condições adversas, é considerada de resistência muito alta ao ataque de organismos xilófagos. Quanto à tratabilidade, por apresentar poros diminutos e parcialmente obstruído por óleo-resina e tilos,

em tratamento sob pressão, deve apresentar, segundo os mesmos autores, muito baixa permeabilidade às soluções preservantes. Suas principais aplicações são: vigas, caibros, ripas, portas, portões, assoalho, móveis pesados, construção de veículos e implementos agrícolas, construção naval e defensas.

A madeira de Ipê, *Tabebuia* sp. (Bignoniaceae), apresenta, segundo Mainieri & Chimelo (1989), um cerne de coloração castanho-claro, com reflexos amarelados ou esverdeados, albarno estreito branco-amarelado; uma madeira muito pesada e muito dura ao corte; grã irregular a revessa; textura fina; superfície sem brilho e lisa ao tato; cheiro e gosto imperceptíveis. Os mesmos autores comentam que esta madeira, em ensaios de laboratório, demonstrou ser de alta resistência ao ataque de organismos xilófagos, com exceção dos perfuradores marinhos. Quanto a tratabilidade, demonstrou ser impermeável às soluções preservantes, em ensaios laboratoriais, por esta apresentar poros diminutos e parcialmente obstruído por óleo-resina e tilos. Suas principais aplicações são: estruturas, dormentes, cruzetas, lambris, peças torneadas, assoalhos, vagões, carrocerias, instrumentos musicais, acabamentos internos, artigos de esportes e cabos de ferramentas.

### 3.3 Método de extração

A extração foi realizada no Laboratório de Preservantes e Madeira Preservada do IPT. Os extratos foram obtidos segundo método adotado por Silva & Assumpção (1970) que submeteram madeiras a um destilador Soxhlet, usando solvente na proporção 1,5 litros para 100 gramas de pó-de-serra, durante 24 horas. Um rotavapor foi utilizado para a obtenção do extrato seco. Foram utilizados dois solventes com polaridades diferentes, o etanol PA - Carlo Erba (segundo os autores) e o clorofórmio PA - Carlo Erba . As madeiras, na forma de lascas recém-obtidas, foram transformadas em serragem utilizando-se o Micro-

moinho Valley.

Para a extração foram utilizados 8 balões de destilação, um para cada extrato, nos quais foram adicionados 200 ml de solvente. Em seguida, estes balões foram acoplados no interior do destilador. Em cada cartucho-de-extração (33 x 94 mm, Marca: Schleicher & Schuell), foram colocados 13,3 gramas de pó-de-serra em seguida tampados com algodão, para evitar que este pó caísse no fundo do balão de destilação. Quatro operações de extração foram realizadas para a obtenção de uma maior quantidade de extratos, ou seja, a cada 24 horas o destilador era desligado, o pó-de-serra retirado, colocado outros 13,3 gramas de pó recém-obtido e o solvente completado até a marcação previamente feita com caneta retroprojetora na altura dos 200 ml. Ao final das extrações cada balão de destilação foi acoplado ao rotavapor para obtenção do extrato seco. A quantidade total de extrato seco foi determinada por pesagem do balão de destilação, climatizado em estufa operando a 70°C antes e após a extração, e determinada pela fórmula: **Extrato seco = (Peso do Balão + Extrato seco)-(Peso do Balão)**, sendo todas as unidades expressas em gramas. Contudo não foi possível retirar todo o extrato seco dos balões, pois uma parte ficou aderida na parede do recipiente. Estes extratos foram pesados, guardados em frascos fechados e mantidos em ambiente escuro.

### 3.4 Impregnação e pesagem dos corpos-de-prova

#### 3.4.1 Corpo-de-prova

Os corpos-de-prova utilizados foram discos de papel-filtro (Whatman® nº42) de 3,4 cm de diâmetro, condicionados no Laboratório de Papel e Revestimentos (IPT) a uma temperatura de 22°C e umidade relativa do ar de 50%UR. Após a estabilização, cada corpo-de-prova foi pesado em balança

analítica, anteriormente e posteriormente a impregnação e após os testes de exposição aos cupins para determinar o consumo do substrato.

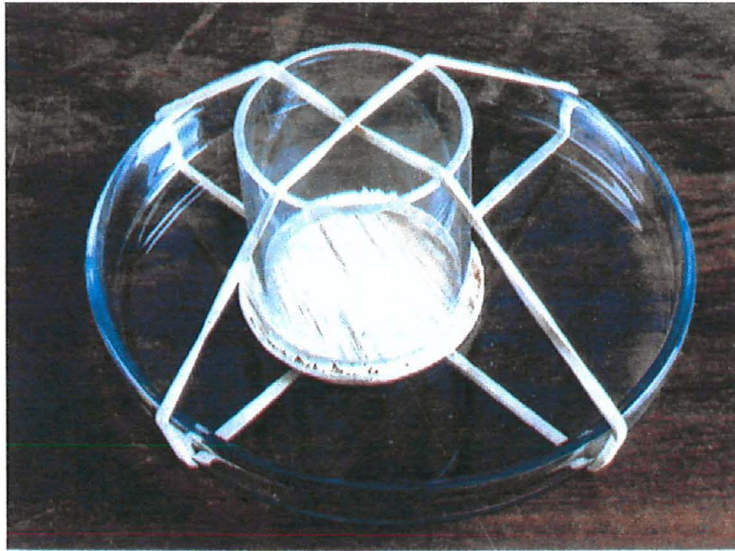
### **3.4.2 Impregnação**

A impregnação de cada corpo-de-prova foi feita com a solução contendo um tipo de extrato na concentração de 0,1 g/ml do respectivo solvente. Cada corpo-de-prova foi impregnado pipetando-se sobre ele 0,15 ml da solução e para as séries testemunhas foi colocado 0,15 ml do solvente. Todo o procedimento foi realizado no Laboratório de Papel e Revestimentos (IPT).

## **3.5 Testes de exposição aos cupins**

### **3.5.1 Metodologia**

A metodologia desenvolvida para estes testes teve como base o ensaio laboratorial para cupins-de-madeira-seca, utilizada pelo IPT (vide anexo A), o ensaio desenvolvido pelo autor deste trabalho durante estágio no IPT (não-publicado) e métodos utilizando outras espécies de cupins descritos na literatura. Cada unidade de ensaio consistiu em um tubo plástico (4 cm de altura e 2,5 cm de diâmetro interno), aberto em ambas extremidades e ajustado sobre o corpo-de-prova. Este conjunto foi colocado no interior de uma placa-de-petri e fixado com elástico (Figura 1).



**Figura 1. Unidade de teste**

Colocou-se no interior de cada tubo de plástico um grupo de 10 operários (pseudergates) da espécie *Cryptotermes brevis* e o conjunto foi colocado em câmara climática do Laboratório de Entomologia (IPT) operando a  $27 \pm 1^\circ\text{C}$  de temperatura e umidade relativa de aproximadamente  $70 \pm 4\%$ .

#### **3.5.1.1 Consumo e mortalidade**

Utilizou-se 120 corpos-de-prova, 12 para cada situação, exceto para os extratos de Cinamomo, para os quais foram utilizados 6 corpos-de-prova devido à quantidade reduzida de extrato seco obtido.

No total, formaram-se 11 séries, assim designadas:

- Testemunha do papel (substrato sem impregnação);
- Testemunha do clorofórmio;



- Testemunha do etanol;
- Cinamomo - clorofórmio;
- Cinamomo - etanol;
- Ipê - clorofórmio;
- Ipê - etanol;
- Itaúba - clorofórmio;
- Itaúba - etanol;
- Peroba-rosa - clorofórmio;
- Peroba-rosa - etanol

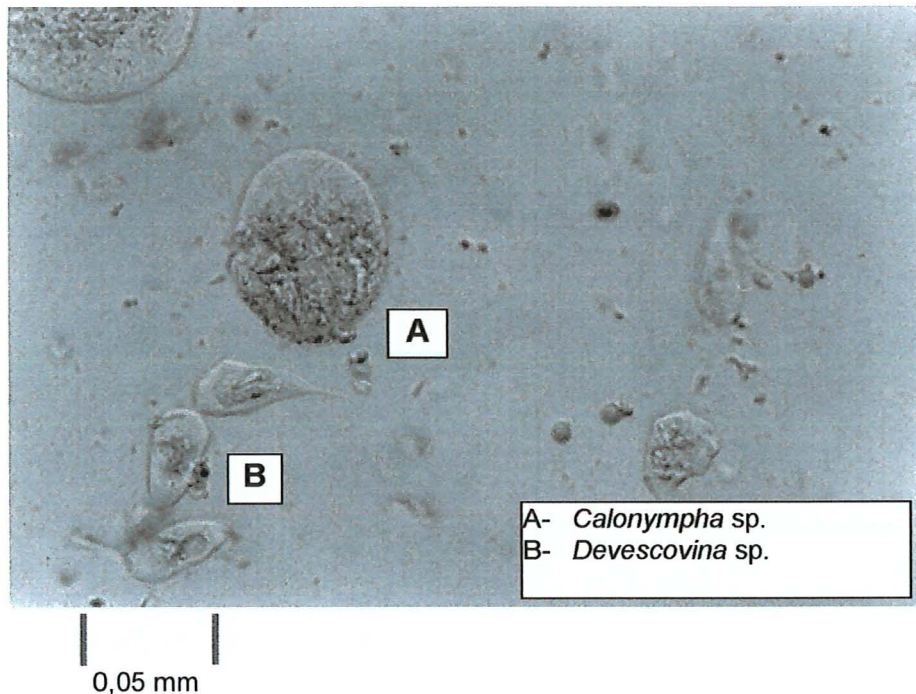
A determinação da quantidade total de substrato consumido foi feita pela fórmula: **Consumo do sustrato (g) = Peso após o ensaio (g) - Peso antes do ensaio (g)** e a avaliação dos testes foi feita pelo consumo dos corpos-de-prova e pela mortalidade (número de cupins mortos). O tempo de exposição aos cupins de 30 dias.

### 3.5.1.2 Simbiontes e muda

O estudo do efeito dos extratos sobre os simbiontes foi realizado em dois testes, e o efeito sobre a muda foi verificada apenas no segundo teste. Estes testes foram desenvolvidos com base no trabalho de Lelis (1992).

- **Teste 1: Efeito de todos os extratos**

Aproveitando os cupins sobreviventes do teste de consumo e mortalidade, verificou-se a quantidade de dois simbiontes xilófagos: *Calonympha* sp. e *Devescovina* sp. (Figura 2) e a presença ou a ausência de outros simbiontes intestinais.



**Figura 2. Simbiontes intestinais encontrados em *Cryptotermes brevis***

De cada unidade de teste foram coletados dois cupins sobreviventes, os quais foram submetidos ao seguinte procedimento:

1. Cada indivíduo foi colocado no interior de um vidro-de-relógio.
2. Com uma pinça entomológica, o cupim foi segurado pelo tórax e com outra pinça retirou-se todo o intestino, pressionando os últimos segmentos abdominais e em seguida puxando-os com cuidado.
3. Retirou-se o cupim, deixando apenas o seu intestino no vidro-de-relógio.
4. No vidro-de-relógio foi adicionado 20  $\mu$ l da solução tampão Sorensen ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  +  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  com pH de 7,2) e o intestino foi macerado com a pinça entomológica.
5. O macerado foi coletado com conta-gotas, colocado em uma lâmina de

Malassez (profundidade 0,2 mm) e coberto com uma lamínula.

6. Contou-se os simbioses intestinais em 10 quadrantes, em microscópio óptico comum - Zeiss (S10/0,22).

- **Teste 2: Efeito dos extratos mais tóxicos**

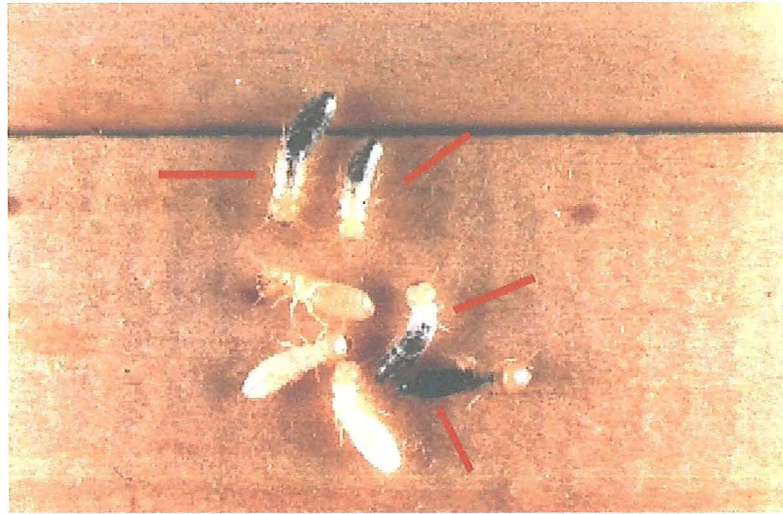
Este teste foi realizado somente com os extratos de Ipê-clorofórmio e Itaúba-clorofórmio, devido a alta mortalidade dos cupins e dos simbioses detectados no teste anterior. O objetivo foi determinar se este resultado foi causado por estes extratos apresentarem influência na muda, toxicidade aos simbioses ou fagoinibição. Os corpos-de-prova foram, anteriormente à exposição aos cupins, impregnados com uma solução aquosa de nigrosina a 1%, que quando ingerida cora o trato digestivo do inseto. Conforme Kirby (1934), o cupim que está entrando na fase de muda, esvazia todo o conteúdo intestinal e como consequência perde a sua coloração. Utilizou-se 60 corpos-de-prova, 48 impregnados com nigrosina e 12 não impregnados. Esta impregnação foi realizada mergulhando-se estes corpos-de-prova na solução aquosa de nigrosina durante 5 segundos, e em seguida foram deixados em repouso para secagem por 24 horas. Dos corpos-de-prova com nigrosina foram selecionados 12 para serem impregnados com clorofórmio; 12 para serem impregnados com extrato de ipê em solvente clorofórmio; e 12 para serem impregnados com extrato de Itaúba em solvente clorofórmio. Para cada unidade foram colocados 0,15 ml da solução.

No total, formaram-se 5 séries de 12 repetições, assim designadas:

- Testemunha do papel (substrato não colorido)
- Testemunha da nigrosina

- Testemunha do solvente (clorofórmio)
- Ipê-clorofórmio + nigrosina
- Itaúba-clorofórmio + nigrosina
- Sem substrato

A partir de então, dividiu-se cada série de 12 repetições em dois grupos de 6 repetições, um para a verificação dos simbiosites e outro para a verificação da muda. O tempo de exposição foi de 7 dias. Na série denominada **Sem substrato**, colocou-se 12 grupos de 10 cupins em placas-de-petri sem alimento. Esta série foi montada para verificar se o jejum por igual tempo de ensaio seria suficiente para causar uma eliminação no número de simbiosites ou uma mortalidade elevada dos cupins. Neste caso foram verificados os simbiosites após 7 e 30 dias. Quanto aos simbiosites, esta metodologia de colorir o substrato com o nigrosina foi utilizada para certificar que os indivíduos dissecados (coloridos) estavam com alimento no intestino e portanto teriam protozoários. Para o grupo dos simbiosites fez-se a contagem de dois simbiosites xilófagos (*Calonympha* sp. e *Devescovina* sp.) presentes no intestino dos indivíduos dissecados conforme o primeiro teste (2 cupins coloridos por unidade) no final de uma semana. Um outro fator analisado, nos testes de simbiosites, foi a ausência ou presença de outros protozoários no intestino destes cupins. Para o grupo da muda verificou-se se houve aumento do número de cupins na fase de mudas (efeito de indução à muda), contando-se os indivíduos descoloridos no final de uma semana (Figura 3). A mortalidade dos cupins foi determinada pelo total de indivíduos mortos após uma semana do início do ensaio.



**Figura 3. Cupins da espécie *Cryptotermes brevis* coloridos com solução aquosa de nigrosina a 1%.**

### 3.6 Avaliação

Os resultados de consumo de substratos e mortalidade dos cupins, no teste de exposição, foram analisados estatisticamente pelo método não-paramétrico de Kruskal-Wallis, utilizando o aplicativo Graph Pad Prisma. O nível de significância ( $\alpha$ ) foi de 5%.

Os resultados obtidos para os simbiotes e a muda foram avaliados comparando-se as médias de cada série com as testemunhas.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas e o gráfico a seguir apresentam os resultados médios obtidos para o consumo do substrato, mortalidade, toxicidade sobre simbiontes (eliminação) e influência sobre a muda dos insetos. As tabelas de resultados gerais, onde são apresentados todos os valores obtidos, encontram-se nos Anexos B e C. A opção pela estatística não-paramétrica deveu-se à grande variação de respostas observadas entre as repetições, provavelmente devido à heterogeneidade de distribuição dos extratos sobre o substrato.

### 4.1 Consumo do substrato

Observa-se (Tabela 1), quanto as séries clorofórmicas, que o extrato de Cinamomo foi o menos consumido, seguido do extrato de Ipê, Itaúba e Peroba-rosa. Nas séries etanólicas observa-se que o extrato de Itaúba foi o menos consumido, seguido pelo extrato de Ipê, Cinamomo e Peroba. Comparando as séries clorofórmicas com as séries etanólicas, pode-se dizer que os extratos de clorofórmio apresentaram os valores mais baixos em relação ao consumo, provavelmente por este solvente conseguir retirar das madeiras estudadas substâncias com maior ação fagoinibidoras aos cupins-de-madeira-seca ou em maior quantidade do que o solvente etanol.

**Tabela 1. Média dos valores e seus respectivos desvios padrões obtidos para o consumo (mg) de substratos (papel filtro) impregnados com 0,15 ml de soluções 0,1 g/ml de extratos, após 30 dias de exposição ao cupim *Cryptotermes brevis*. As letras em negrito correspondem a análise estatística Kruskal-Wallis.**

<b>SÉRIES</b>	<b>CONSUMO (mg)</b>
Testemunha do etanol (T-eta)	15,33 ± 5,52 <b>a</b>
Testemunha do clorofórmio (T-clo)	14,96 ± 5,14 <b>a</b>
Testemunha do papel (T-papel)	13,46 ± 3,25 <b>a</b>
Peroba – etanol (Per-eta)	5,57 ± 2,19 <b>a b</b>
Cinamomo – etanol (Cin-eta)	5,00 ± 6,29 <b>a b c</b>
Peroba – clorofórmio (Per-clo)	2,04 ± 1,45 <b>a b c</b>
Ipê – etanol (Ipe-eta)	1,33 ± 1,25 <b>b c</b>
Itaúba – clorofórmio (Ita-clo)	1,64 ± 0,69 <b>b c</b>
Ipê – clorofórmio (Ipe-clo)	0,25 ± 0,75 <b>c</b>
Itaúba – etanol (Ita-eta)	0,08 ± 0,29 <b>c</b>
Cinamomo – clorofórmio (Cin-clo)	0,00 ± 0,00 <b>c</b>

A análise estatística do consumo (Tabela 1) mostrou que as séries Ipê-etanol, Itaúba-clorofórmio, Ipê-clorofórmio, Itaúba-etanol e Cinamomo-clorofórmio obtiveram consumos estatisticamente diferentes das séries testemunhas; enquanto que as séries Peroba-etanol, Cinamomo-etanol e Peroba-clorofórmio tiveram um consumo estatisticamente semelhante às séries testemunhas. Podemos dizer, ainda, que as séries testemunhas (T-papel, T-etanol e T-cloroformio) obtiveram os maiores valores médios de consumo e que

as séries Cinamomo-clorofórmio, Itaúba-etanol e Ipe-clorofórmio, os menores consumos respectivamente. Não houve diferença estatística entre as testemunhas.

O maior consumo observado nas unidades 10 da peroba - clorofórmio e 3 do cinamomo - etanol (Anexo B) pode ter sido resultado de uma distribuição não-homogênea da solução sobre o substrato, permitindo que os cupins encontrassem partes do papel-filtro pouco ou não impregnadas. Variações de consumo entre as unidades de uma mesma série, excetuando-se os casos descritos acima, podem ser explicados como sendo uma ocorrência normal, uma vez que isto foi observado também nas séries testemunhas. Dois grupos de cupins, de mesmo número inicial de indivíduos, não necessariamente consomem igual quantidade de substrato no mesmo espaço de tempo. Vários fatores podem influir nessa diferença, como por exemplo a número de cupins mortos em cada unidade de teste e o número de indivíduos em muda (período no qual os cupins deixam de se alimentar).

#### **4.2 Mortalidade dos cupins**

Observa-se (Tabela 2) que ambos os extratos de Ipê (clorofórmico e etanólico) e o extrato etanólico de Itaúba foram os mais letais, seguido respectivamente dos extratos do extrato clorofórmico de Itaúba, extratos de Peroba-rosa e de Cinamomo. A análise estatística da mortalidade mostrou que os extratos clorofórmico e etanólico de Cinamomo, são estatisticamente semelhantes às séries testemunhas. Os extratos de Ipê e o extrato etanólico de Itaúba apresentaram uma grande mortalidade, pois eram estatisticamente diferente das testemunhas, e o extrato clorofórmico de Itaúba e os extratos de Peroba-rosa apresentaram mortalidade intermediária entre as séries de maior mortalidade e as testemunhas.



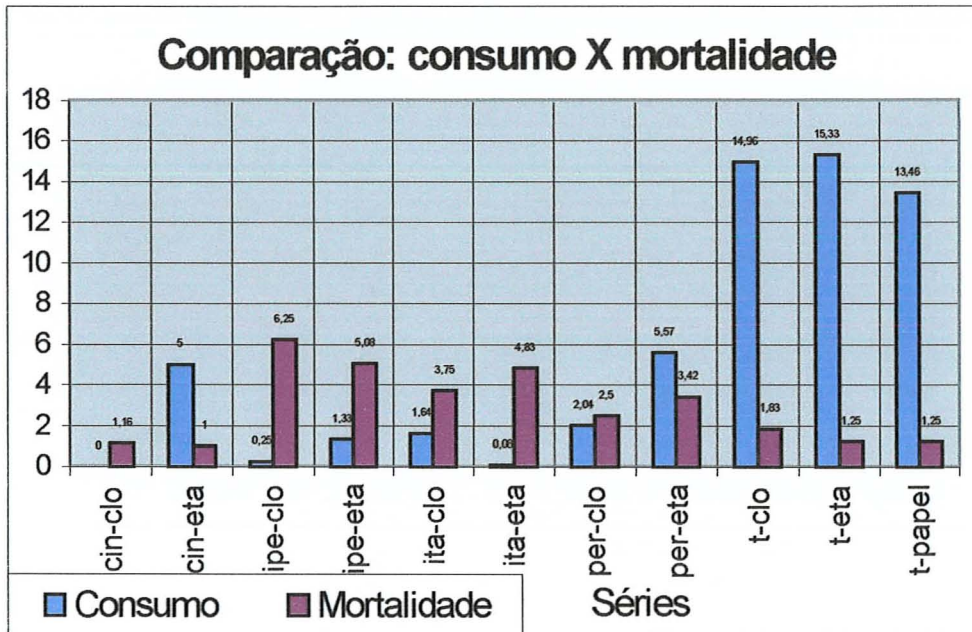
**Tabela 2. Média do número de cupins mortos (*Cryptotermes brevis*) e seus desvios padrões obtidos em cada série de substratos (papel filtro) impregnados com 0,15 ml de soluções (0,1g/ml) de extratos de madeiras, após 30 dias de exposição. As letras em negrito correspondem a análise estatística Kruskal-Wallis.**

<b>SÉRIES</b>	<b>MORTALIDADE (Nº)</b>
Ipê – clorofórmio (Ipe-clo)	6,25 ± 0,96 <b>a</b>
Ipê – etanol (Ipe-eta)	5,08 ± 1,62 <b>a</b>
Itaúba – etanol (Ita-eta)	4,83 ± 1,85 <b>a</b>
Itaúba – clorofórmio (Ita-clo)	3,75 ± 1,6 <b>a b</b>
Peroba – etanol (Per-eta)	3,42 ± 1,31 <b>a b</b>
Peroba – clorofórmio (Per-clo)	2,50 ± 1,38 <b>a b</b>
Testemunha do clorofórmio (T-clo)	1,83 ± 1,11 <b>b</b>
Testemunha do etanol (T-eta)	1,25 ± 0,86 <b>b</b>
Testemunha do papel (T-papel)	1,25 ± 1,21 <b>b</b>
Cinamomo – clorofórmio (Cin-clo)	1,16 ± 0,4 <b>b</b>
Cinamomo – etanol (Cin-eta)	1,00 ± 0,63 <b>b</b>

#### **4.3 Comparação dos resultados obtidos quanto ao consumo e mortalidade**

Registrou-se a comparação dos resultados obtidos em cada série, quanto ao consumo dos substratos e a mortalidade dos cupins (Figura 4).

**Figura 4. Quadro comparativo de consumo de substrato (mg) x mortalidade de cupins-de-madeira-seca (nº de cupins mortos), *Cryptotermes brevis*, após 30 dias de exposição em substratos (papel filtro) impregnados com 0,15 ml de soluções (0,1 mg/ml) de extratos de madeiras. Número de cupins por unidade = 10.**



- Legenda:**
- |         |        |                                     |
|---------|--------|-------------------------------------|
| cin-clo | (n=06) | Extrato clorofórmico de Cinamomo    |
| cin-eta | (n=06) | Extrato etanólico de Cinamomo       |
| ipe-clo | (n=12) | Extrato clorofórmico de Ipê         |
| ipe-eta | (n=12) | Extrato etanólico de Ipê            |
| ita-clo | (n=12) | Extrato clorofórmico de Itaúba      |
| ita-eta | (n=12) | Extrato etanólico de Itaúba         |
| per-clo | (n=12) | Extrato clorofórmico de Peroba-rosa |
| per-eta | (n=12) | Extrato etanólico de Peroba-rosa    |
| t-clo   | (n=12) | Testemunha do clorofórmio           |
| t-eta   | (n=12) | Testemunha do etanol                |
| t-papel | (n=12) | Testemunha do papel                 |

Com base na análise estatística dos resultados, elaborou-se uma classificação qualitativa dos extratos testados, assim designada:

- Consumo

Alto - resultado estatisticamente semelhante às séries testemunhas (Fagoinibição baixa).

Intermediário - resultado semelhante tanto à testemunha quanto das outras séries (Fagoinibição intermediária).

Baixo - resultado estatisticamente diferente das séries testemunhas (Fagoinibição alta).

- Mortalidade

Alta - resultado estatisticamente diferente das séries testemunhas (Mortalidade alta).

Intermediária - resultado semelhante tanto à testemunha quanto às outras séries (Mortalidade intermediária).

Baixa - resultado estatisticamente semelhante às séries testemunhas (Mortalidade baixa).

Pode-se observar (Figura 4) diferentes resultados de cada extrato das madeiras estudadas sobre os cupins-de-madeira-seca quanto ao consumo e a mortalidade, existindo extratos que foram fagoinibidores mas não letais; outros foram fagoinibidores e letais; e outros apresentaram consumo semelhante a testemunha e mortalidade intermediária. Em relação ao Cinamomo, pode-se dizer que não se detectou consumo para o seu extrato clorofórmico, e se este existiu foi muito baixo. Quanto a mortalidade, o extrato clorofórmico apresentou a segunda

menor mortalidade (Média= 1,16 cupins mortos), sendo semelhante às testemunhas. O extrato etanólico de Cinamomo apresentou um consumo intermediário e a menor mortalidade obtida nos testes (Média= 1 cupim morto). O Ipê apresentou resultados semelhantes entre os dois extratos (clorofórmico e etanólico) quanto ao consumo (Baixo) e a mortalidade (Alta). Quanto a Itaúba, pode-se dizer que o extrato clorofórmico apresentou baixo consumo e mortalidade intermediária e o extrato etanólico apresentou alto consumo (segundo maior consumo) e alta mortalidade. Com relação a Peroba-rosa, pode-se dizer que os dois extratos apresentaram mortalidade intermediária, diferenciando apenas no consumo; onde o extrato clorofórmico apresentou consumo intermediário e o extrato etanólico apresentou baixo consumo do substrato. Quanto as séries testemunhas pode-se dizer que estas foram bem semelhantes entre si em relação ao consumo (Alto) e a mortalidade (Baixa), demonstrando que os solventes não interferiram nos resultados dos testes.

#### **4.4 Influência dos extratos nos simbiosites**

A seguir serão apresentados os resultados referentes à ação dos extratos sobre os cupins-de-madeira-seca.

Nota-se (Tabela 3) que nas séries impregnadas com extratos não foi verificada a presença de simbiosites xilófagos (*Calonympha* sp. e *Devescovina* sp.), enquanto que nas testemunhas, inclusive dos solventes, foi verificado um grande número destes simbiosites. A presença de outros simbiosites intestinais foi verificada nas testemunhas e nos extratos, com exceção dos extrato de Ipê.

**Tabela 3. Primeiro teste - Valores médios do número de simbioses por cupim, *Cryptotermes brevis* (n=24), após 30 dias de exposição aos substratos impregnados com 0,15 ml de solução (0,1 mg/ml) de extratos de madeiras.**

SÉRIES	Simbioses		
	<i>Calonympha</i> sp. (nº de simbioses)	<i>Devescovina</i> sp. (nº de simbioses)	Outros (presença ou ausência)
Cinamomo – clorofórmio	0	0	Sim
Cinamomo – etanol	0	0	Sim
Ipê – clorofórmio	0	0	Não
Ipê – etanol	0	0	Não
Itaúba – clorofórmio	0	0	Sim
Itaúba – etanol	0	0	Sim
Peroba – clorofórmio	0	0	Sim
Peroba – etanol	0	0	Sim
Testemunha do clorofórmio	4800	20200	Sim
Testemunha do etanol	3200	19400	Sim
Testemunha do papel	2600	17000	Sim

Nota-se (Tabela 4) a ação diferenciada dos extratos clorofórmicos para os simbioses, pois foram dissecados indivíduos com o trato digestivo colorido, ou seja, comprovadamente não estando em muda (Vide Revisão Bibliográfica: Kirby (1934). No extrato de Ipê verifica-se perda total dos simbioses xilófagos, inclusive dos outros microrganismos; enquanto que no extrato de Itaúba verifica-se perda total apenas de *Calonympha* sp., uma grande perda de *Devescovina* sp. e a presença de outros simbioses intestinais. Pode-se comprovar que o corante nigrosina não interferiu na microfauna intestinal dos cupins, pois esta série apresentou resultados semelhantes às testemunhas. Na série **Sem alimentação**, onde foram deixados cupins sem substrato, verificou-se

que a falta de alimento, neste espaço de tempo (7 dias), não foi suficiente para causar perda dos simbiossitos.

**Tabela 4. Segundo teste - Média dos valores obtidos para a quantidade de simbiossitos xilófagos, em soluções de 0,1g/ml, ao término de 07 dias, a *Cryptotermes brevis*.**

Séries	<i>Calonympha</i>	<i>Devescovina</i>	Outros
Ipê-clorofórmico	0	0	Não
Itaúba-clorofórmico	0	800	Sim
Clorofórmico	2400	8800	Sim
Nigrosina	2400	9400	Sim
Papel	2000	9400	Sim
S/ alimento	2300	10700	Sim

#### 4.5 Influência dos extratos na muda dos cupins

Pode-se observar (Tabela 5) que os extratos clorofórmicos de Ipê e Itaúba não influenciaram na muda destes insetos, pois o número de indivíduos em muda, ou seja, indivíduos descoloridos, foi semelhante as séries testemunhas, incluindo as séries nigrosina e sem alimentação. Existem indicações que estes cupins, quando não alimentados inibem a muda, ou esta muda ocorre em maior espaço de tempo. Portanto 7 dias não foram suficientes para ser observado este efeito em particular para esta série.

**Tabela 5. Segundo teste - Média dos valores obtidos para a observação da muda, em soluções de 0,1g/ml, ao término de 07 dias, a *Cryptotermes brevis*.**

Séries	N.º de vivos	N.º de mudas
Ipe-clo	8	3,5
Ita-clo	9	4
Clo	10	3
Nigr	10	2
Papel	9	4
S/ alim	10	0,5

**Legenda:**    **ipe-clo = ipê + clorofórmio + nigrosina**  
                   **Ita-clo + Itaúba + clorofórmio + nigrosina**  
                   **Clo = testemunha do clorofórmio**  
                   **Nigr = testemunha da nigrosina**  
                   **Papel = testemunha do papel**  
                   **S/ alim = sem alimentação**

A duração do ensaio foi estabelecida em 7 dias, pois até este intervalo de tempo, os cupins permaneciam com o trato digestivo colorido. Após este período ocorria perda natural do corante, pois os cupins não estavam se alimentando, a nigrosina era eliminada pelas fezes e não ocorria a substituição deste corante. Como houve perda de simbioses e não houve aumento no número de muda pode-se considerar que os extratos clorofórmicos de Ipê e Itaúba devem ter agido diretamente sobre os simbioses intestinais.

#### 4.6 Discussão geral dos resultados

A tabela a seguir (Tabela 6) mostra o resultado geral da pesquisa sobre a ação dos extratos de madeira sobre os cupins-de-madeira-seca.

**Tabela 6. Quadro geral dos resultados obtidos, classificando qualitativamente dentro de cada modalidade de teste.**

Séries	Consumo	Mortalidade	Simbiontes xilófagos	Outros simbiontes
Cinamomo-clorofórmio	Baixo	Baixa	Não	Sim
Cinamomo-etanol	Intermediário	Baixa	Não	Sim
Ipê-clorofórmio	Baixo	Alta	Não	Não
Ipê-etanol	Baixo	Alta	Não	Não
Itaúba-clorofórmio	Baixo	Intermediária	Não	Sim
Itaúba-etanol	Baixo	Alta	Não	Sim
Peroba-clorofórmio	Intermediário	Intermediária	Não	Sim
Peroba-etanol	Alto	Intermediária	Não	Sim
Testemunha-clorofórmio	Alto	Baixa	Sim	Sim
Testemunha-etanol	Alto	Baixa	Sim	Sim
Testemunha-papel	Alto	Baixa	Sim	Sim

- **Cinamomo**

O Cinamomo apresentou baixo consumo para o solvente clorofórmico e consumo intermediário para o solvente etanol, e apresentou baixa mortalidade para os cupins. Quanto aos simbiontes, não foi observada a presença dos simbiontes xilófagos, mas verificou-se a presença de outros protozoários



intestinais. Portanto pode-se dizer que provavelmente existam substâncias repelentes no cerne do cinamomo e poderiam ser utilizadas, após sintetização, na preservação de madeiras.

A literatura relata vários exemplos da ação fagoinibidora da madeira de Cinamomo e de outras meliáceas aos insetos. Segundo Schoonhoven (1982), citado em Pizzamiglio (1991), as folhas de *Melia azedarach* contém substâncias que inibem a alimentação de *Schistocerca gregaria* (Orthoptera).

McMillian et al. (1969), citado em Lara (1991), observaram que a espécie *Melia azedarach* (Chinaberry) possui algumas substâncias que atuam como retardadora do desenvolvimento de *Heliothis zea* (Lepidoptera) e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera). As dietas contendo elevado teor de extrato reduzem em até 100% o desenvolvimento das lagartas das duas espécies, evidenciando a presença de algum tipo de inibidor.

Serit et al. (1992) comprovaram que o nim, substância extraída de *Azadirachta indica* (Meliaceae), apresenta grande inibição de alimentação para *Reticulitermes speratus* (Isoptera).

Segundo Schmutterer (1990), citado por Neves & Nogueira (1996), os insetos tratados com nim mostraram, em alguns casos, forte debilidade da atividade normal, encurtando o tempo de vida quando não há mortalidade aguda, desequilíbrio no acasalamento, devido à impotência do macho, e nas fêmeas, uma redução considerável de feromônios. Ainda, segundo o mesmo autor, a ação desta substância pode interromper os ínstares larvais, para chegar a fase adulta e, com isto, determinar alterações morfológicas, como a formação de asas e outros órgãos internos.

Substâncias isoladas de *Melia toosendan* (Meliaceae) apresentaram inibição de alimentação quando testadas em larvas do gênero *Spodoptera* (Nakatani, 1999).

Não foi encontrado na literatura consultada a ação tóxica à saúde humana de substâncias presentes no cerne de *Melia* sp.

- **Ipê**

Os extratos clorofórmico e etanólico do Ipê apresentaram baixo consumo e alta mortalidade, e não foram observados nenhum simbiote, inclusive os xilófagos. Em comparação com os outros extratos estudados neste trabalho, esta madeira mostrou ser mais tóxica aos cupins-de-madeira-seca, portanto esta madeira apresenta substâncias cupinícidas que poderiam ser utilizadas, após sintetização, para a preservação de madeiras.

Extratos metanólicos de *Tabebuia ochracea* apresentaram substâncias repelentes, inibidores de alimentação e tóxicos à *Reticulitermes hesperus* (Grace et al., 1989). A madeira de ipê apresentou uma grande resistência quando exposta à 45 operários de *Cryptotermes brevis* durante 45 dias, verificando uma mortalidade de 72,5% dos indivíduos (Cañedo & Lelis, 1985).

Esta madeira de *Tabebuia* sp., porém, pode causar certa toxicidade para o homem, onde casos de dermatite foram relatados por Cordero et al. (1951) e mencionados por Freise (1932) e Lewin (1928), todos os autores citados em Hausen (1981).

- **Itaúba**

A Itaúba apresentou baixo consumo, alta mortalidade no etanol e mortalidade intermediária no clorofórmio. Quanto aos simbios, os extratos causaram a eliminação dos simbios xilófagos. Todavia esta madeira apresenta substância cupinícidas e poderiam ser utilizadas, após sintetização, para a preservação de madeiras.

Extratos de *Mezilaurus itauba* apresentaram repelência e afetaram os simbios de *Reticulitermes flavipes* e *Coptotermes formosanus*,

provavelmente por uma ação sobre os simbioses ou pelo jejum. (Carter & Camargo, 1983)

Não foi encontrado na literatura consultada a ação tóxica à saúde humana de substâncias presentes no cerne de *Mezilaurus* sp.

- **Peroba-rosa**

A Peroba-rosa foi a madeira que apresentou mortalidade e consumo intermediários no clorofórmio e alto consumo no etanol. Nos intestinos destes cupins não se encontrou simbioses xilófagos, mas foi verificada a presença de outros simbioses. Portanto, esta madeira apresenta substâncias não indicadas para a preservação de madeiras.

Segundo Verpoorte et al. (1983), extratos de *Aspidosperma excelsum* apresentaram atividade anti-microbiana, podendo justificar a ausência de simbioses xilófagos nos testes com os cupins-de-madeira-seca.

A manipulação da madeira de recém-cortada e da serragem, de *Aspidosperma polyneuron* podem causar perturbações gerais como irritação do nariz, garganta, olhos, fraqueza, erupções de pele, câimbras e sonolência (Hausen, 1981). O mesmo autor comenta que todas as espécies de madeira da família Apocynaceae são suspeitas de apresentarem toxicidade a saúde humana.

- **Testemunhas**

As séries testemunhas foram bem semelhantes entre si em relação ao consumo (alto), mortalidade (baixa) e protozoários (presença de xilófagos e outros), portanto os solventes não interferiram no teste.

## 5 CONCLUSÃO

- Os extratos das madeiras de cinamomo (*Melia* sp.), ipê (*Tabebuia* sp.), itaúba (*Mezilaurus* sp.) e peroba-rosa (*Aspidosperma polyneuron*) apresentam substâncias com propriedades fago-inibidoras e tóxicas para a espécie *Cryptotermes brevis* (cupim-de-madeira-seca).
- Em relação ao consumo os extratos que causaram maior fago-inibição foram respectivamente: Cinamomo em solvente clorofórmio; Itaúba e Ipê (ambos em solvente etanol).
- Quanto a mortalidade aos cupins, os extratos que causaram maior toxicidade foram respectivamente Ipê em ambos os solventes e Itaúba em solvente etanol.
- Quanto aos simbiosomas, os extratos de ipê causaram sua eliminação total, enquanto que os extratos das outras madeiras causaram eliminação dos simbiosomas xilófagos (*Calonympha* sp. e *Devescovina* sp.).
- Não foi verificada a influência destes extratos na muda dos cupins.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, S.B. & ALMEIDA, J.E.M. Novas alternativas para o controle microbiológico de cupins. In: BERTI FILHO, E. & FONTES, L.R. **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**, Piracicaba: FEALQ, 1995, p.95-102.
- ANDO, M.; KIKUCHI, K.; ISOGAI, K.; ISHIWATARI, T.; HIRATA, N.; YAMAZAKI, H. Synthetic studies of sesquiterpenes with a cis-fused descalin system, 5<sup>1</sup>. A synthetic approach to the study of structure-activity relationships of the termiticidal norsesquiterpenoids, chamaecynone and related compounds. **Journal of Natural Products**, v.57, n.7, p.924-933, 1994.
- ARAÚJO, R.L. Termites of the Neotropical Region In: KRISHNA, K. & WEESNER, F.M. (Eds.) **Biology of termites**, New York: Academic Press, 1970. v.2, cap.12, p.527-576.
- BANDEIRA, A.G.; MIRANDA, C.S. & VASCONCELLOS, A. Danos causados por cupim em João Pessoa, Paraíba - Brasil In: FONTES, L.R. & BERTI FILHO, E. (Eds.) **Cupins: O desafio do conhecimento**. Piracicaba: FEALQ, 1998. p.75-85.
- BONTURI, D.A. O cupim nas instalações elétricas In: FONTES, L.R. & BERTI FILHO, E. **Cupins: O desafio do conhecimento**, Piracicaba: FEALQ, 1998. p. 99-107.
- CAÑEDO, M.D. & LELIS, A. T. Laboratory tests on natural resistance to *Cryptotermes brevis* (Walker) attack of native hardwoods for crossarms production. **The international research group on wood preservation**. Document IRG/WP/1266, Brasil, Guarujá, p.1-7, 1985.

- CARTER, F.L.; BEAL, R.H. & BULTMAN, J.D. Extraction of antitermitic substances from 23 tropical hardwoods. **Wood and fiber science**. vol.8, nº1, p.406-410, 1975
- CARTER, F.L. & CAMARGO, C.R.R. Testing antitermitic properties of brazilian woods and their extracts. **Wood and fiber science**. vol. 15, nº 4, p.350-357, 1983
- CAVALCANTE, M.S. **Deterioração biológica e preservação de madeiras** São Paulo, Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, comunicação técnica, nº 1211, p.1-41, 1982.
- CAVALCANTE, M.S. Histórico da Preservação de Madeiras. In: LEPAGE, E.S. (Coord.) **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas, nº 1637, vol. 1, cap.2, p. 9-21, 1986.
- CHUDNOFF, M. **Tropical timbers of the world**. EUA: Madson, 1979. parte 1, Africa, p.681-682.
- DELIGNE, J.; QUENNEDEY, A. & BLUM, M.S. The enemies and defense mechanisms of termites. In: H.R.Herman (ed). **Social Insects**. New York: Academic Press, 1981. vol.2, p.1-76.
- DÉON, G. **Manual de preservação de madeiras em clima tropical**. França: Centre Technique Forestier Tropical, 1989. p.1-109.
- EATON, R.A. & HALE, M.D.C. **Wood: Decay, pests and protection**. London: Chapman & Hall, 1993. cap.12, p.257-279.
- FORTI, L.C. & DE ANDRADE, M.L. Populações de cupins In: BERTI FILHO, E. & FONTES, L.R. (Eds.) **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**, Piracicaba: FEALQ, 1995. p.29-52.
- GIANNOTTI, O. Piretróides como inseticidas. **O Biológico**, 1975. vol41, p.279-282.
- GRACE, J.K.; WOOD, D.L.; FRANKIE, G.W. Behavior and survival of *Reticulitermes hesperus* Banks (Isoptera: Rhinotermitidae) on selected sawdusts and wood extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v.15, n.1, p.128-139, 1989.

- GRASSÉ, P-P. **Termitologia**: Fondation des sociétés - Construction. Paris: Masson 1984. vol 2, 613p.
- GRASSÉ, P-P. **Termitologia**. Anatomie-Physiologie-Biologie-Systématique des termites. Paris: Masson, 1986. vol 3, 716p.
- HAUSEN, B. **Woods injurious to human health**: A manual. Berlin: Walter de Gruyter, 1981, p.80 e 99-101.
- HONIGBERG, B.M. Protozoa associated with termites and their role in digestion In: KRISHNA, K. & WEESNER, F.M. **Biology of termites**, New York: Academic Press 1970. v.2, cap 1, p.1-36.
- ISHIDA, M.; SERIT, M.; NAKATA, K.; JUNEJA, L.R.; KIM, M.; TAKAHASHI, S. Several antifeedands from neem oil, *Azadirachta indica*, against *Reticulitermes speratus* Kolbe (Isoptera: Rhinotermitidae). **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.56, n.11, p.1835-1838, 1992. /Resumo/
- JENSEN, W.; FREMER, K.E.; SIERILA, P.; WARTIOVAARA, V. The chemistry of bark. In: BROWNING, B.L. (Edit.) **The chemistry of wood**, New York: NOBEL, 1963. cap.12, p.589-663.
- KAWAGUCHI, H.; KIM, M.; ISHIDA, M; AHN, Y.J.; YAMAMOTO, T.; KOZUKA, M.; GOTO, K.; TAKAHASHI, S. Several antifeedants from *Phelodendron amurense* against *Reticulitermes speratus*, **Agricultural and Biological Chemistry**, v.53, n.10, p.2635-2640, 1989. /Resumo/
- KRISHNA, K. A generic revision and phylogenetic study of the Family Kalotermitidae (Isoptera) **Bulletin of the American Museum of Natural History**. New York, v.122, article 4, p.389-399, 1961.
- KIRBY, H. Protozoa in termites. In: KOFOID, C.A. (edit.) **Termites and termite control**. Califórnia, University of California Press, 1934. v.1, chapter 7, p.89-98.
- KOFOID, C.A. Biological backgrounds of the termite problem In: KOFOID, C.A. (edit.), **Termites and termite control**. Califórnia, University of California Press, 1934. v.1, cap. 1, p.1-12.
- LAJIDE, L.; ESCOUBAS, P.; MIZUTANI, J. Termite antifeedant activity in

- Detarium microcarpum*. **Phytochemistry**, v.40, n.4, p.1101-1112, 1995.
- LARA, F.M. **Princípios de resistência de plantas a insetos**. São Paulo, Ícone, 1991. 2ª ed., cap.4, p.75-136.
- LELIS, A.T. The loss of intestinal flagellates in termites exposed to the juvenile hormone analogue (JHA) – methoprene. In: **Material und Organismem**. vol.27, cap.3, p.172-178, 1992.
- LELIS, A.T. **Termite problem in São Paulo City – Brazil**. Resumo no XII **Congress of the International Union for the Study of Social Insects (IUSSI)**. Paris, 1994.
- LEPAGE, E.S. Química da Madeira. In: LEPAGE, E.S. (Coord.) **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1986. nº 1637, 1v, cap.4, p. 69-98.
- LIN, T.S. & WANG, C.L. The anti-termite properties of extracts from *Melia azedarach* Linn. In: **Bulletin of the Taiwan Forestry Research Institute**. v.3, cap.4, p.255-261, 1988.
- MAINIERI, C. & CHIMELO, J.P. **Ficha de características das madeiras brasileiras**. São Paulo, , Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1989. Divisão de Madeiras, p.219-220, 225-226, 335-336.
- MASCARENHAS, A.C In: DÉON, G. **Manual de preservação de madeiras em clima tropical**. França, 1989, Centre Technique Forestier Tropical, p.V.
- MATHEWS, A.G.A. **Studies on termites from the Mato Grosso State, Brazil**. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 1977. cap.10, p.79-246.
- McDANIEL, C.A. Major termiticidal components of heartwood of Port-Orford-Cedar, *Chamaecyparis lawsoniana* (A.Murr.) Parl. **Material and Organismen**, v.24, n.1, p.1-15, 1989.
- McDANIEL, C.A.; KLOCKE, J.A.; BALANDRIN, M.F. Major antitermitic wood extractive components of Eastern redcedar, *Juniperus virginiana*. **Material and Organismen**, v.24, n.4, p.301-313, 1989.
- MESSER, A.; McCORMICK, K.; HAGEDORN, H.H.; TUMBEL, F.; MEINWALD, J. Defensive role of tropical tree resins: Antitermitic sesquiterpenes from



southeast asian dipterocarpaceae. **Journal of Chemical Ecology**, v.16, n.12, p.3334-3352, 1990.

- MONTEIRO, M.B.B. **Método alternativo de ensaio acelerado para avaliação da resistência natural de madeiras ao ataque de fungos apodrecedores**, Piracicaba: 1997, USP, ESALQ / dissertação de mestrado, p1-50.
- NAGNAN, P. & CLEMENT, J.L. Terpenes from the maritime pine *Pinus pinaster* toxins for subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera: Rhinotermitidae). **Biochemical Systematics and Ecology**. 1990, vol.18, cap.1, p.13-16.
- NAKATANI, M. Limonoids from *Melia toosendan* (Meliaceae) and their antifeedant activity. **Heterocycles**. vol.50, cap.1, p.595-609, 1999.
- NEVES, B.P. & NOGUEIRA, J.C.M. **Cultivo e utilização do nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss)**. Goiânia, Embrapa, 1996. 31p.
- NOIROT, C. La caste des ouvriers, element majeur du succès evolutif des termites. **Revista de Biologia**. vol. 75, cap.2, p.157-195, 1982.
- OLIVEIRA, A.M.F; LELIS, A.T.; LEPAGE, E.S; LOPEZ, G.A.C.; OLIVEIRA, C.de S; CAÑEDO, M.D.; MILANO, S. Agentes destruidores da madeira. In: LEPAGE, E.S. (Coord.) **Manual de preservação de madeiras**. São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológica, 1986. nº 1637, 1v, cap.5, p. 99-278.
- OLIVEIRA, J.V. de. Controle de pragas de grãos armazenados com substâncias de origem vegetal. In: **16º Congresso Brasileiro de Entomologia: VII Encontro Nacional de Fitossanitaristas**, Salvador, 1997, p.10/Resumos
- PIZZAMIGLIO, M.A. Ecologia das interações inseto/planta. In: PANIZZI, A.R. & PARRA, J.R.P. (edit.) **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Malone, 1991. cap.4, p.101-130.
- PRIMAVESI, A. **Manejo ecológico de pragas e doenças** São Paulo: Nobel, 1987. 137p.
- REYES-CHILPA, R.; VIVEROS-RODRÍGUEZ, N.; GÓMEZ-GARIBAY, F.; ALAVEZ-SOLANO, D. Antitermitic activity of *Lonchocarpus castilloi* flavonoids and heartwood extracts. **Journal of Chemical Ecology**, v.21, n.4, p.455-

463, 1995

- RICHARDSON, D.P.; MESSER, A.C.; GREENBERG, S.; HAGEDORN, H.H.; MEINWALD, J. Defensive sesquiterpenoids from a dipterocarp *Dipterocarpus kerrii*. **Journal of Chemical Ecology**, v.15, n.2, p.730-747, 1989
- RICHARDSON, D.P.; MESSER, A.C.; NEWTON, B.A.; LINDEMAN, N.I. Identification and preparation of antiinsectan dienols from *Dipterocarpus kerrii* tree resins. **Journal of Chemical Ecology**, v.17, n.3, p.663-685, 1991.
- SCHEFFRAHN, R.H.; HSU, R-C; SU, N-Y; HUFFMAN, J.B.; MIDLAND, S.L.; SIMS, J.J. Allelochemical resistance of bald cypress, *Taxodium distichum*, heartwood to the subterranean termite, *Coptotermes formosanus*. **Journal of Chemical Ecology**, v.14, n.3, p.764-776, 1988.
- SERIT, M.; ISHIDA, M.; KIM, M.; YAMAMOTO, T.; TAKAHASHI, S. Antifeedants from *Citrus natsudaoidai* (Hayata) against termite *Reticulitermes speratus* (Kolbe). **Agricultural and Biological Chemistry**, v.55, n.9, p.2381-2385, 1991.
- SERIT, M.; ISHIDA, M.; MAKATA, K.; KIM, M; TAKAHASHI, S. Antifeeding potency of neem (*Azadirachta indica*) extractives and limonoids against termite (*Reticulitermes speratus*). **Journal of Pesticide Science**, v.17, n.4, p.267-273, 1992.
- SHARMA, S; VASUDEVAN, P.; MADAN, M. Inseticidal value of castor *Ricinus communis* against termites. **International Biodeterioration**, v.27, n.3, p.249-254, 1990. /Resumo/
- SILVA, S.M.K. & ASSUMPÇÃO, R.M.V. **Contribuição ao estudo dos princípios antifúngicos obtidos de madeiras brasileiras** São Paulo: Instituto de Pesquisas Tecnológicas, 1970. n° 799, p.101-120.
- SILVA, E.G. & BANDEIRA, A.G. Cupins de solo na Mata Atlântica, João Pessoa, Paraíba: distribuição vertical e abundância. In: **16° Congresso Brasileiro de Entomologia: VII Encontro Nacional de Fitossanitaristas**, Salvador, 1997, p.210/Resumos
- SU, R.H.; KIM, M.; YAMAMOTO, T.; TAKAHASHI, S. Antifeeding constituents of

*Phellodendron chinense* fruit against *Reticulitermes speratus* **Journal of Pesticide Science**, v.15, n.4, p.567-672, 1990. /Abstract/

VERPOORTE, R., KOSKUYCK, E., TSOI, A.T.A., RUIGROK, C.L.M., DEJONG, G. & SVENDSEN, A. B. Medicinal plants of Surinam .3. antimicrobially active alkaloids from *Aspidosperma excelsum*. **Planta medica**, vol.48, nº 4, p.283-289, 1983

VENDRAMIM, J.D. Plantas inseticidas. In: **16º Congresso Brasileiro de Entomologia: VII Encontro Nacional de Fitossanitaristas**, Salvador, 1997, p.10/Resumos

VILLA NOVA, A.; FRANCO, H.C. & JONES-COSTA, M. **Parâmetros técnicos para o uso de praguicidas em saúde**. São Paulo: DowElanco, 1993.

WILCKEN, C.F. & RAETANO, C.G. Controle de cupins em florestas In: BERTI FILHO, E. & FONTES, L.R. **Alguns aspectos atuais da biologia e controle de cupins**, Piracicaba, FEALQ, 1995. p.141-154.

## ANEXOS

## ANEXO A. Metodologia desenvolvida e utilizada pelo IPT para testes de resistência natural de madeiras e/ou preservantes aos *Cryptotermes brevis*.

 Publ. IPT Nº 1157	<b>MÉTODOS DE ENSAIOS E ANÁLISES EM PRESERVAÇÃO DE MADEIRAS</b>	Parte D	D2
	<b>ENSAIO ACELERADO DE LABORATÓRIO DA RESISTÊNCIA NATURAL OU DE MADEIRA PRESERVADA AO ATAQUE DE TÉRMITAS DO GÊNERO CRYPTOTERMES (FAM. KALOTERMITIDAE) (*)</b>	<b>DIMAD - 1980</b>	

### 1. OBJETIVO

Avaliar a resistência da madeira in natura ou preservada, ao ataque de *Cryptotermes spp* (fam. Kalotermitidae). Sob as condições prescritas no método, é possível avaliar nos mesmos termos a resistência de derivados da madeira sujeitos à exposição a esses insetos.

### 2. RESUMO DO MÉTODO

Expor pares de corpos de prova durante 45 dias à ação de 40 cupins, mantidos em mangas de vidro acopladas aos corpos de prova.

### 3. CUPINS UTILIZADOS

Utilizar térmitas, do grupo dos cupins-de-madeira-seca, do gênero *Cryptotermes* (fam. Kalotermitidae) obtidos a partir de amostras de madeiras, ou árvores atacadas, ou ainda de culturas de laboratório.

### 4. CORPOS DE PROVA

Da madeira a ser ensaiada, são obtidos corpos de prova de 2,3cm x 0,6cm x 7,0cm sendo a dimensão de 7,0cm paralela à grã, livres de nós ou quantidades anormais de resina. No caso do ensaio de compensados e aglomerados, deverão ser cortados, também, corpos de provas em bisel de modo a expor além da superfície, o miolo da amostra. Finda neste caso conserva-se como espessura do corpo de prova aquela do compensado. Além dos corpos de prova de ensaio, montar também,

uma série testemunha de *Araucaria angustifolia* ou *Pinus spp*, a qual é submetida às mesmas condições.

### 5. MONTAGEM DOS CORPOS DE PROVA E EXPOSIÇÃO AOS INSETOS

Os corpos de prova são unidos aos pares pelas arestas de 7,0cm e, sobre eles e em posição central, são fixadas com parafina, mangas de vidro de 3,5cm de diâmetro interno de 8,0cm de altura. Para cada espécie de madeira ou produto, são montados seis desses conjuntos. Colocar dentro de cada manga 40 cupins, sendo 38 ninfas e 2 soldados. Manter os conjuntos montados em Câmara climática, operando a  $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$  de temperatura e umidade relativa de  $(70 \pm 4)\%$  durante 45 dias.

### 6. AVALIAÇÃO DOS RESULTADOS

Retirar as mangas e calcular a porcentagem de cupins mortos ao fim de 45 dias. Além disso, anotar a quantidade de orifícios e o desgaste ocorrido em cada corpo de prova. São considerados como orifícios, apenas aqueles que transpassam o corpo de prova.

Avaliar o desgaste comparativamente com a série testemunha da seguinte forma:

Nota	Avaliação
0	Nenhum desgaste
1	Desgaste superficial
2	Desgaste moderado
3	Desgaste acentuado
4	Desgaste profundo (semelhante à série testemunha)

(\*) Método desenvolvido e utilizado pela Divisão de Madeiras do IPT.

**ANEXO B. Resultado completo do teste de consumo e mortalidade, incluindo a contagem dos simbiontes para os extratos clorofórmicos e etanólicos de Cinamomo, Ipê, Itaúba e Peroba-rosa.**

Solventes	extratos	Unidade	consumo	Número mortos	<i>Calonympha</i>		<i>Devescovina</i>		Outros protozoários	
clorof.	cinamomo	1	0,00	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	cinamomo	2	0,00	1	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	cinamomo	3	0,00	1	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	cinamomo	4	0,00	1	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	cinamomo	5	0,00	1	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	cinamomo	6	0,00	1	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	ipe	1	0,00	5	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	2	0,00	6	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	3	0,00	7	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	4	1,00	7	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	5	1,00	7	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	6	0,00	7	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	7	0,00	5	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	8	1,00	6	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	9	0,00	6	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	10	0,00	5	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	11	0,00	6	0	0	0	0	não	não
clorof.	ipe	12	0,00	8	0	0	0	0	não	não
clorof.	itauba	1	1,00	4	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	2	0,00	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	3	1,00	4	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	4	1,00	5	0	0	0	0	não	não
clorof.	itauba	5	2,50	4	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	6	2,00	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	7	1,00	3	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	8	1,00	3	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	9	1,00	8	0	0	0	0	sim	não
clorof.	itauba	10	1,00	4	0	0	0	0	não	sim
clorof.	itauba	11	1,00	3	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	itauba	12	0,00	3	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	1	2,00	1	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	2	1,50	4	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	3	1,50	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	4	2,00	0	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	5	1,50	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	6	2,00	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	7	2,00	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	8	1,00	3	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	9	2,00	5	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	10	6,50	2	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	11	1,50	4	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	peroba	12	1,00	3	0	0	0	0	sim	sim
clorof.	testem	1	9,50	1	17	12	58	58	sim	sim
clorof.	testem	2	14,00	3	15	17	49	52	sim	sim
clorof.	testem	3	18,00	2	15	9	50	48	sim	sim
clorof.	testem	4	16,00	0	15	13	50	60	sim	sim
clorof.	testem	5	22,00	3	14	10	59	51	sim	sim
clorof.	testem	6	16,00	2	10	10	53	43	sim	sim
clorof.	testem	7	9,00	2	12	26	49	64	sim	sim
clorof.	testem	8	20,50	0	15	17	64	63	sim	sim
clorof.	testem	9	4,50	3	10	6	44	34	sim	sim
clorof.	testem	10	19,00	3	7	5	57	45	sim	sim
clorof.	testem	11	17,50	2	11	8	40	34	sim	sim
clorof.	testem	12	13,50	1	4	5	44	47	sim	sim
etanol	cinamomo	1	2,00	1	0	0	0	0	sim	sim
etanol	cinamomo	2	7,00	1	0	0	0	0	sim	sim
etanol	cinamomo	3	17,00	0	0	0	0	0	sim	sim
etanol	cinamomo	4	2,00	1	0	0	0	0	sim	sim
etanol	cinamomo	5	1,00	1	0	0	0	0	sim	sim
etanol	cinamomo	6	1,00	2	0	0	0	0	sim	sim

(continua)

(Continuação)

Solventes	extratos	Unidade	consumo	Número mortos	<i>Calonympha</i>		<i>Devescovina</i>		Outros protozoários	
etanol	ipe	1	2,00	4	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	2	1,50	5	2	0	0	0	sim	não
etanol	ipe	3	0,00	8	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	4	1,00	5	1	0	0	0	sim	não
etanol	ipe	5	1,00	5	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	6	2,50	3	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	7	2,00	7	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	8	4,00	5	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	9	0,00	5	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	10	0,00	6	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	11	0,00	6	0	0	0	0	não	não
etanol	ipe	12	2,00	2	0	0	0	0	não	não
etanol	itauba	1	0,00	2	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	2	0,00	3	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	3	0,00	5	0	0	0	0	não	não
etanol	itauba	4	0,00	8	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	5	0,00	4	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	6	0,00	3	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	7	0,00	6	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	8	1,00	7	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	9	0,00	6	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	10	0,00	5	0	0	0	0	não	sim
etanol	itauba	11	0,00	6	0	0	0	0	sim	sim
etanol	itauba	12	0,00	3	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	1	5,50	3	0	6	0	0	sim	sim
etanol	peroba	2	8,50	2	5	5	0	0	sim	sim
etanol	peroba	3	5,50	4	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	4	6,00	4	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	5	2,00	5	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	6	4,00	3	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	7	7,00	3	0	4	0	0	sim	sim
etanol	peroba	8	6,50	2	3	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	9	8,00	4	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	10	6,50	1	0	3	0	0	sim	sim
etanol	peroba	11	2,00	5	0	0	0	0	sim	sim
etanol	peroba	12	3,00	5	0	0	0	0	sim	sim
etanol	testem	1	21,00	2	9	11	51	41	sim	sim
etanol	testem	2	20,00	1	5	5	28	38	sim	sim
etanol	testem	3	20,00	1	4	10	62	48	sim	sim
etanol	testem	4	18,50	0	14	1	54	74	sim	sim
etanol	testem	5	25,50	1	17	11	21	41	sim	sim
etanol	testem	6	13,00	2	1	8	45	63	sim	sim
etanol	testem	7	13,00	1	3	13	44	55	sim	sim
etanol	testem	8	9,50	3	11	7	35	50	sim	sim
etanol	testem	9	8,00	2	5	6	49	50	sim	sim
etanol	testem	10	11,00	1	5	9	77	43	sim	sim
etanol	testem	11	10,00	1	12	2	46	44	sim	sim
etanol	testem	12	14,50	0	8	13	53	53	sim	sim
papel	testem	1	14,00	0	8	1	27	53	sim	sim
papel	testem	2	16,50	2	12	2	8	52	sim	sim
papel	testem	3	12,50	3	22	3	8	56	sim	sim
papel	testem	4	17,00	0	17	3	48	48	sim	sim
papel	testem	5	14,50	0	4	6	59	36	sim	sim
papel	testem	6	10,00	3	4	5	53	51	sim	sim
papel	testem	7	20,00	2	5	4	48	37	sim	sim
papel	testem	8	13,50	2	4	5	72	39	sim	sim
papel	testem	9	10,50	1	9	8	64	43	sim	sim
papel	testem	10	13,00	2	6	9	38	17	sim	sim
papel	testem	11	8,50	0	2	6	58	15	sim	sim
papel	testem	12	11,50	0	3	7	45	47	sim	sim

**ANEXO C. Resultado completo do teste para verificação dos simbiosites nos extratos clorofórmicos de Ipê e Itaúba.**

Séries	<i>Calonympha</i>		<i>Devescovina</i>		Outros protozoários		Mortalidade
Ipe-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) não	2) não	1
Ipe-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) não	2) não	1
Ipe-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) não	2) não	1
Ipe-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) não	2) não	2
Ipe-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) não	2) não	0
Ipe-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) não	2) não	0
Ita-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 5	1) sim	2) sim	1
Ita-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) sim	2) sim	0
Ita-clo	1) 0	2) 3	1) 19	2) 7	1) sim	2) sim	2
Ita-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 0	1) sim	2) sim	1
Ita-clo	1) 0	2) 0	1) 5	2) 0	1) sim	2) sim	1
Ita-clo	1) 0	2) 0	1) 0	2) 13	1) sim	2) sim	0
clorofórmio	1) 13	2) 16	1) 47	2) 41	1) sim	2) sim	0
clorofórmio	1) 15	2) 17	1) 61	2) 49	1) sim	2) sim	0
clorofórmio	1) 11	2) 11	1) 42	2) 52	1) sim	2) sim	0
clorofórmio	1) 10	2) 13	1) 41	2) 30	1) sim	2) sim	0
clorofórmio	1) 20	2) 8	1) 52	2) 46	1) sim	2) sim	0
clorofórmio	1) 8	2) 6	1) 33	2) 39	1) sim	2) sim	0
nigrosina	1) 7	2) 11	1) 32	2) 40	1) sim	2) sim	1
nigrosina	1) 10	2) 15	1) 43	2) 44	1) sim	2) sim	1
nigrosina	1) 10	2) 11	1) 49	2) 46	1) sim	2) sim	0
nigrosina	1) 8	2) 13	1) 43	2) 54	1) sim	2) sim	0
nigrosina	1) 19	2) 15	1) 47	2) 57	1) sim	2) sim	0
nigrosina	1) 10	2) 13	1) 62	2) 47	1) sim	2) sim	0
papel	1) 16	2) 11	1) 51	2) 70	1) sim	2) sim	1
papel	1) 11	2) 13	1) 38	2) 48	1) sim	2) sim	1
papel	1) 10	2) 10	1) 49	2) 57	1) sim	2) sim	0
papel	1) 13	2) 11	1) 63	2) 62	1) sim	2) sim	0
papel	1) 14	2) 11	1) 59	2) 54	1) sim	2) sim	0
papel	1) 8	2) 10	1) 40	2) 51	1) sim	2) sim	1
s/ alimento	1) 8	2) 13	1) 49	2) 45	1) sim	2) sim	0
s/ alimento	1) 10	2) 17	1) 60	2) 33	1) sim	2) sim	0
s/ alimento	1) 10	2) 7	1) 47	2) 42	1) sim	2) sim	0
s/ alimento	1) 11	2) 10	1) 48	2) 57	1) sim	2) sim	0
s/ alimento	1) 7	2) 8	1) 51	2) 49	1) sim	2) sim	0
s/ alimento	1) 12	2) 7	1) 48	2) 39	1) sim	2) sim	0

**ANEXO D. Resultado completo do teste para verificação da muda nos extratos clorofórmicos de Ipê e Itaúba.**

Séries	Mudas	Exúvias	Mortalidade
Ipe-clo	4	1	1
Ipe-clo	4	2	1
Ipe-clo	4	4	3
Ipe-clo	6	3	2
Ipe-clo	4	5	2
Ipe-clo	3	0	1
Ita-clo	5	2	0
Ita-clo	4	5	2
Ita-clo	4	2	1
Ita-clo	4	1	0
Ita-clo	4	1	1
Ita-clo	2	3	0
clorofórmio	3	2	0
clorofórmio	3	1	0
clorofórmio	2	0	0
clorofórmio	2	0	0
clorofórmio	5	0	0
clorofórmio	4	2	0
nigrosina	2	1	0
nigrosina	2	0	0
nigrosina	1	0	0
nigrosina	4	1	1
nigrosina	3	0	0
nigrosina	2	0	0
papel	4	0	0
papel	5	0	0
papel	2	2	2
papel	3	3	2
papel	3	2	2
papel	5	0	0
s/ alimento	0	0	0
s/ alimento	2	0	1
s/ alimento	0	0	0
s/ alimento	0	0	0
s/ alimento	1	0	0
s/ alimento	0	0	0