

**TOXICIDADE DE *Lantana camara* (VERBENACEAE) EM  
OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

ANDRIGO MONROE PEREIRA

Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Estadual  
Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus  
de Rio Claro, para a obtenção do título de  
Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia).

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Outubro de 2005

**TOXICIDADE DE *Lantana camara* (VERBENACEAE) EM  
OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE)**

**ANDRIGO MONROE PEREIRA**

**Orientador: Prof. Dr. JOSÉ CHAUD NETTO**

**Dissertação apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia da Universidade Estadual  
Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus  
de Rio Claro, para a obtenção do título de  
Mestre em Ciências Biológicas (Zoologia)**

Rio Claro  
Estado de São Paulo – Brasil  
Outubro de 2005



# I INSTANTE

Uma semente engravidava a tarde.  
Era o dia nascendo, em vez da noite.  
Perdia amor seu hálito covarde,  
e a vida, corcel rubro, dava um coice,

mas tão delicioso, que a ferida  
no peito transtornado, aceso em festa,  
acordava, gravura enlouquecida,  
sobre o tempo sem caule, uma promessa.

A manhã sempre-sempre, e docia stutos  
eus caçadores a correr, e as presas  
num feliz entregar-se, entre soluços.

E que mais, vida eterna, me planejas?  
O que se desatou num só momento  
não cabe no infinito, e é fuga e vento.

Carlos Drummond de Andrade

Aos meus pais que em momento algum  
deixaram de estender seus braços para  
me confortar e contar seus sonhos...  
e lutar para que eu realizasse os meus...



# A AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre está do nosso lado. Basta termos olhos e paciência para entendermos sua manifestação (e presença).

Ao professor mas, antes de tudo, amigo Chaud que, com a paciência de um pai e com sabedoria do mestre, ajudou-me na minha construção acadêmica. Sempre indicando os caminhos e mostrando a melhor forma de encarar os obstáculos.

Ao Professor Marcos Pizzano, pelos conselhos os quais foram imprescindíveis para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos técnicos de laboratório (e também grandes amigos) Sérgio Pascon (apiário) pela ajuda na coleta das abelhas, e Anderson (biologia molecular) pelas sugestões e ajuda durante as extrações.

Aos funcionários e professores do Departamento de Biologia pela ajuda e incentivo.

Aos amigos Zé, Bob, Kleber, Giuliano, Cris, Márcia, Tati, Thais, Lucy, Talita, Alberto, Rogilene, Leandro e Felipe muito obrigado pela compreensão e diversão.

A Maria Fernanda, esta pessoa maravilhosa que sempre esteve do meu lado me ajudando com suas sugestões e críticas mas principalmente pelo seu carinho.

Aos meus pais (Sebastião Célio e Maria do Carmo) e ao meu irmão (Juliano) aos quais dedico minha vida pois me ensinaram o que é uma verdadeira família. Além de não ter preço, isto é fundamental para a construção do indivíduo.

A todos meus familiares e amigos que me apoiaram e incentivaram.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

# SUMÁRIO

RESUMO.....	01
ABSTRACT .....	03
INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA.....	05
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>10</b>
CAPÍTULO 1 .....	13
<b>Introdução .....</b>	<b>14</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>19</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>20</b>
<b>Resultados e Discussão .....</b>	<b>23</b>
<b>Conclusão.....</b>	<b>33</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>34</b>
CAPÍTULO 2 .....	37
<b>Introdução .....</b>	<b>38</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>42</b>
<b>Material e Métodos.....</b>	<b>43</b>
<b>Resultados e Discussão .....</b>	<b>45</b>
<b>Conclusão.....</b>	<b>55</b>
<b>Referências Bibliográficas .....</b>	<b>56</b>
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	58

# RESUMO

Além de estruturas físicas como tricomas, espinhos e tecidos rígidos, algumas substâncias secundárias produzidas pelas plantas protegem-nas contra animais herbívoros e insetos fitófagos. Embora alguns destes animais consigam contornar estas barreiras, outros não apresentam nenhum mecanismo eficiente para superar estes obstáculos. O conhecimento da composição química e da atividade destas substâncias é uma importante ferramenta para a elaboração de inseticidas naturais que sejam específicos e de baixo impacto ambiental.

*Lantana camara* (Verbenaceae) é uma planta subarborescente com ampla distribuição geográfica, cuja ingestão pode provocar intoxicação em ruminantes. Também foi observada ação inseticida e/ou repelente de seus extratos foliares em diversos organismos.

No presente estudo avaliou-se o efeito do macerado floral e de extratos foliares de *L. camara* em operárias de *Apis mellifera*. Abelhas africanizadas recém-emergidas foram coletadas e marcadas, sendo posteriormente introduzidas em um núcleo contendo 3 favos cobertos por abelhas adultas e apresentando boa quantidade de mel e pólen. Dois desses favos possuíam um grande número de operárias em diferentes fases de desenvolvimento. Sete dias após a marcação as abelhas foram transferidas para caixas de laboratório mantidas em estufa bacteriológica a  $34^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  e umidade relativa de  $60 \pm 5\%$ . Nas primeiras séries de bioensaios, em que foi testado o macerado floral, os grupos experimentais receberam pasta-cândi acrescida do macerado em concentrações variadas (30%, 10%, 7,5%, 5% e 2,5%), enquanto as abelhas dos grupos-controle receberam somente cândi. Os resultados das análises de sobrevivência indicaram que as abelhas alimentadas com cândi

acrescido do macerado floral a 30%, 10% e 7.5% apresentaram uma menor longevidade ( $P < 0,0001$ ), em relação às operárias dos grupos-controle. Estes resultados sugerem a existência de alguma substância tóxica no macerado floral de *L. camara* capaz de diminuir a longevidade das operárias.

Na segunda série de bioensaios, as operárias receberam, por meio de aplicação tópica na região do pronoto, 2 $\mu$ L do extrato metanólico das folhas de *L. camara* nas concentrações de 0,0888 mg/abelha, 0,0444 mg/abelha e 0,0222 mg/abelha, enquanto que as abelhas do grupo controle receberam somente metanol. As análises de sobrevivência revelaram que os extratos de *L. camara* não interferiram na longevidade das operárias.

# ABSTRACT

Besides physical structures as trichomas, thorns and rigid tissues, some secondary substances produced by plants protect them against herbivorous animals and phytophagous insects. Although some of these animals get to outline these barriers, others do not present any efficient mechanism to overcome these obstacles. The knowledge of the chemical composition and the activity of these substances is an important tool for the elaboration of natural insecticides that are specific and cause low environmental impact.

*Lantana camara* (Verbenaceae) is a shrubby plant with wide geographical distribution, whose ingestion can originate intoxication in ruminants. It was also observed that foliage extracts have insecticide and/or repellent action.

In this study the effect of the floral crushed and foliage extracts of *L. camara* in *Apis mellifera* workers was evaluated. Newly-emerged Africanized honeybee workers were collected and marked, being later introduced in a beehive containing three frames covered with bees and presenting good amount of honey, pollen and a great number of workers in different phases of development. Seven days after, the bees were transferred to laboratory boxes maintained in a bacteriological stove at  $34^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$  and relative humidity of  $60 \pm 5\%$ . In the first series of bioassays the honeybee workers of the experimental groups received candy plus floral crushed of *L. camara* in variable concentrations (30%, 10%, 7.5%, 5% and 2.5%), while the bees of the control groups were fed only with candy. The survival analyses indicated that bees fed with candy plus the floral crushed at 30%, 10% and 7.5% have a shorter life time ( $P < 0,0001$ ), in relation to the workers of the control groups. These results suggest the presence of some toxic substance in the floral crushed of *L. camara*, able to diminish the life time of adult workers.

In the second series of bioassays the honeybee workers received, by topical application on the pronotum, 2 $\mu$ L of methanolic extracts of *L. camara* leaves in the concentrations of 0,0888 mg/bee, 0,0444 mg/bee and 0,0222 mg/bee, while the workers of the control groups received only methanol. The survival analyses revealed that the extracts of *L. camara* did not affect the worker's longevity.

# INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

O aparecimento de um determinado grupo de plantas em muitos casos foi acompanhado pelo surgimento paralelo de um grupo de insetos que, posteriormente, passaram a explorá-las, para sua própria sobrevivência (Prokopy e Owens, 1983). Um exemplo bem conhecido deste tipo de coevolução refere-se às interações entre as plantas e os animais polinizadores, principalmente os insetos, que constituíram a força motriz na evolução das angiospermas (Stanton et al., 1986).

Além das estruturas físicas como tricomas, espinhos e tecidos rígidos, algumas substâncias secundárias produzidas pelas plantas auxiliam-nas a se defenderem contra a ação de insetos fitófagos. Muitos insetos podem superar essas defesas e até utilizá-las em seu próprio benefício. Contudo, outros não conseguem evitá-las e acabam sucumbindo quando entram em contato com essas substâncias, ou quando as ingerem (Pizzamiglio, 1991).

Embora os efeitos de alguns inseticidas vegetais como a nicotina, as rotenomas e as piretrinas sejam bem conhecidos, pouco se sabe sobre outras toxinas de origem vegetal que interferem na vida dos insetos (Bueno et al., 1990).

Ao contrário das substâncias essenciais ao metabolismo primário, que participam da atividade celular de praticamente todos os seres vivos, desde os organismos unicelulares até o homem, existem substâncias que atuam no metabolismo secundário. Estes compostos são encontrados apenas em grupos restritos de organismos (alguns deles são encontrados em uma única espécie) e geralmente não estão envolvidos em funções primárias das plantas como a fotossíntese, respiração e crescimento (Price, 1984).

Os produtos do metabolismo secundário constituem o que os químicos

chamam de “produtos naturais” e apresentam estrutura e características químicas muito variadas e, às vezes, bem complexas. Muitos deles são extraídos e usados como remédios, corantes, perfumes e inseticidas. Durante muito tempo acreditou-se que os metabólitos secundários não teriam nenhuma função específica no organismo em que são formados e seriam, simplesmente, produtos finais de algumas reações. Em alguns casos, foram até mesmo considerados como algum tipo de anomalia. Atualmente sua importância para o desenvolvimento fisiológico das plantas e seu papel como mediadores das interações entre as plantas e outros organismos são amplamente reconhecidos (Dias, 2000).

Várias pesquisas revelaram que os princípios ativos dos “inseticidas naturais” são compostos resultantes do metabolismo secundário das plantas, sendo acumulados em pequenas proporções em determinados tecidos. Atualmente existe um mercado promissor para os inseticidas naturais. A produção de compostos químicos deste tipo representa 7,5% do mercado de produtos químicos, farmacêuticos, veterinários e de proteção de plantas de interesse econômico (Fazolin, 2005).

Segundo Kogan (1986), estas substâncias podem atuar como caïromônios, atraindo várias espécies de insetos, ou como alomônios, agindo como repelentes, supressantes, incitantes, estimulantes e deterrentes ou, até mesmo, como toxinas.

A toxicidade de uma planta é o efeito deletério que um determinado vegetal pode causar em outras plantas ou em determinados animais, por meio da liberação de substâncias químicas. Estes compostos podem estar uniformemente distribuídos pela planta ou concentrados em diversas partes (raízes, caule, ramos, folhas e frutos). Fatores abióticos, tais como clima, altitude e tipo de solo, podem interferir na produção destas substâncias. Algumas espécies de plantas apresentam substâncias tóxicas durante todo ciclo de vida, enquanto outras são tóxicas somente quando estão na fase de florescimento (Bueno et al., 1990).

O sistema de defesa das plantas está sujeito a alterações provocadas pelo estresse físico (por exemplo, seca, solos deficientes, poluição e competição com outras plantas), mas também pode ser estimulado pelo ataque de herbívoros e organismos patógenos (Rhoades, 1983).

É cada vez mais significativo o número de estudos visando a identificação e utilização de derivados de plantas com ação pesticida, que possam representar uma alternativa menos dispendiosa, com um impacto tóxico menor e que sejam facilmente biodegradáveis (Pal et al., 2002).

O gênero *Lantana* (Verbenaceae) foi inicialmente estudado por Linnaeus, em 1753, que descreveu 7 espécies, sendo 6 originárias da América do Sul e uma da Etiópia. Esse gênero é nativo da América subtropical e tropical, mas alguns táxons se originaram na Ásia e África. Atualmente está presente em aproximadamente 50 países. Estima-se que o número atual aproximado

de espécies é 150 (Munir, 1996 apud Ghisalberti, 2000). Existem dificuldades para a classificação taxonômica do gênero devido à grande hibridização e mudança da forma da inflorescência e da coloração com a idade e maturação da planta (Munir, 1996 apud Ghisalberti, 2000; Tokarnia et al., 2000).

*L. camara* L. (figuras 1 e 2) é a espécie que apresenta maior distribuição geográfica, ocupando regiões tropicais, sub-tropicais, temperadas e até mesmo acima de 2000 metros de altitude. É uma planta que se desenvolve em áreas abandonadas, competindo com as gramíneas pela dominância ecológica (Sharma e Sharma, 1989). Supõe-se que ela teria sido introduzida como planta ornamental em outros países com clima semelhante, onde se difundiu (Seawright, 1963, 1965; Aluja, 1971).

No Brasil, *L. camara* é conhecida por diversos nomes populares: chumbinho, erva-chumbinho, cambará-de-espinho, cambará, cambará-de-duas-cores, cambará-juba, cambará-de-cheiro, cambará-de-chumbo, cambará-vermelho, cambará-verdadeiro, cambará-miúdo, cambará-de-folha-grande, lantana, lantana-espinhosa, camará, camará-miúdo, camará-branco, camará-verdadeiro, camará-de-espinho, camará-de-chumbo, capitão-do-campo, bem-me-quer e mal-me-quer (Lorenzi, 1982; Tokarnia et al., 2000). Sinônimos: *L. aculeata* L., *L. scabrida* Ait (Lorenzi, 1982).

Características gerais: planta perene, subarborescente, ereta, com reprodução por sementes. As folhas são opostas e têm de 3 a 7 cm de comprimento. A planta apresenta inflorescências axilares e terminais em capítulos longo-pedunculados com muitas flores de coloração amarela e vermelha. O fruto é uma baga globosa, negro-arroxeadado, de 3 a 4 mm de diâmetro (Lorenzi, 1982).

As folhas de *Lantana* são ásperas e, por contato, podem causar irritação da pele, além de apresentarem um cheiro forte que pode provocar dor de cabeça e vertigem (Mello et al., 2003).

A literatura sobre a toxicidade das plantas desse gênero se refere, sobretudo, a *L. camara* L. e suas variedades, mas também são citadas algumas outras espécies consideradas tóxicas. A capacidade de intoxicar não está necessariamente relacionada à cor das flores. É importante considerar que nem todas as espécies de *Lantana* e nem todos os taxa de *L. camara* são tóxicos (Tokarnia et al., 2000).

É uma importante planta daninha tropical, estando presente em áreas cultiváveis, pastagens e terrenos abandonados, tanto em regiões secas quanto úmidas e que, freqüentemente, cresce em vales e encostas. Cerca de 47 países relataram a ocorrência de sérios problemas com esta planta em áreas cultivadas. Entre eles podemos citar o Caribe, África do Sul, Austrália, além de países do Leste da África, sudeste da Ásia e Ilhas do Pacífico. É uma das três principais plantas daninhas nas plantações da Indonésia e a principal na Nigéria, Fiji, Trinidad-Tobago, Turquia, Samoa, Índia, Malásia e Nicarágua. Também causa problemas graves em pastagens da Austrália, leste da África,



Figura 1: Aspecto geral de um exemplar de *Lantana camara* destacando-se um capítulo floral com flores mais jovens no centro (coloração amarelada) e mais velhas na periferia (coloração púrpura)



Figura 2: Aspecto geral de um exemplar de *Lantana camara* destacando-se a disposição dos ramos e capítulos florais

Índia, Fiji, Filipinas e Zâmbia. Chegou a ocupar 4 milhões de hectares na Austrália e 160.000 no Hawaí. É dispersa por sementes, principalmente por pássaros que são capazes de carregá-las por longas distâncias. Floresce o ano todo em muitos países de clima quente e é muito tolerante à luminosidade reduzida. Ela serve de abrigo para diversos insetos, ratos, porcos do mato e também é um reservatório para organismos transmissores de várias doenças. No leste da África representa um abrigo natural para a mosca tsé-tsé (Holm et al., 1977).

Na Austrália, *L. camara* é considerada uma das plantas tóxicas mais importantes, especialmente na costa de Queensland, onde já foi responsável pela morte de 1000 a 1500 bovinos por ano. Além dessa particularidade, também se destaca como planta invasora. Naquele continente a planta encontrou ambiente tão favorável que passou a ocupar extensas áreas, tornando-as não utilizáveis pelo homem (Seawright, 1965).

No Brasil são encontradas diferentes variedades de *Lantana* desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul, em agrupamentos maiores ou menores, que não constituem vegetação dominante como no caso da Austrália. A diferença na maneira de difusão de *Lantana* ssp. no Brasil e na Austrália, levou técnicos deste último país a deduzirem que, no Brasil, deveriam existir inimigos naturais que controlariam a proliferação da planta e que, por ocasião de sua exportação para a Austrália, não foram transportados concomitantemente. Por constituir um grave problema como planta invasora, o governo australiano desenvolveu diversas pesquisas cujo objetivo era determinar os principais inimigos naturais da planta nos países de origem, para introduzi-los na Austrália, a fim de controlar sua propagação indiscriminada (Tokarnia et al., 2000).

*L. camara* apresenta várias propriedades medicinais: tônica, sudorífera, balsâmica, emoliente, expectorante e febrífuga. É útil contra doenças das vias respiratórias, rouquidão e bronquite (Lorenzi, 1982), sendo muito utilizada na medicina popular por causa de seus efeitos antipiréticos, e antimicrobianos. O macerado das folhas é utilizado para tratamento de ferimentos e contusões, enquanto que o chá é usado para lavar áreas afetadas no caso de dermatites, eczemas, furúnculos, úlceras, malária e reumatismo (Begun et al., 1995; Barre et al., 1997).

Produtos como lancamarone, um esteróide das folhas, apresentam propriedades cardiotônicas, enquanto que a lantanina, um alcalóide do caule e raízes, possui atividade antipirética e antiespasmódica. Estudos relataram a existência de esteróides, terpenos e alcalóides (Begun et al., 1995). Estudando as partes aéreas de *L. camara*, estes mesmos autores isolaram 2 novos triterpenóides: o ácido camarílico e o ácido camaracínico, além de cinco conhecidos triterpenóides pentacíclicos: ácido oleanônico, ácido ursônico, lantadene A, ácido betulínico e ácido oelanólico.

O princípio ativo encontrado na planta pode apresentar características

variáveis conforme a região, condições climáticas e espécie considerada.

Análises fitoquímicas de *L. camara* mostraram os seguintes triterpenos: ácidos ursólico, lântico, lantanólico, oleanólico, aleanônico e seus derivados, além de alguns componentes fenólicos (Barre et al., 1997). Um derivado do ácido oleanônico apresentou toxicidade em ruminantes. Este ácido é um produto metabólico da lantadene A que age no fígado destes animais (Pass, 1991).

Barre et al. (1997) fizeram extração, em clorofórmio, de folhas desidratadas de *L. camara* e isolaram alguns compostos conhecidos: ácido lântico, ácido lantanólico e seus derivados, e um novo composto: o ácido 22 $\beta$ -acetoxilântico. Os autores também mencionaram a existência de ácido hedera-gônico, camarosídeos e compostos fenólicos.

# R REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALUJA, A. S. Further investigation regarding the toxicity of members of the genus *Lantana* in Mexico. **XIX Congr. Mundial de Veterinaria, Mexico**, v. 1, p. 327 – 331, 1971.

BARRE, J. T.; BOWDEN, B. F.; COLL, J. C.; DE JESUS, J. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 2, p. 321 – 324, 1997.

BEGUN, S.; RAZA, S. M.; SIDDIQUI, B. S.; SIDDIQUI, S. Triterpenoids from the aerial parts of *Lantana camara*. **Journal of Natural Products**, v. 58, n. 10, p. 1570 – 1574, 1995.

BUENO, O. C.; HEBLING-BERALDO, M. J. A.; AULINO DA SILVA, O.; PAGNOCCA, F.; FERNANDEZ, J. B.; VIEIRA, P. C. Toxicity effect of plants on leaf-cutting ants and their symbiotic fungus, In: R. K. V. MEER; K. JAFFE; A. CEDENO (Eds.) **Applied myrmecology: a world perspective**. Oxford: Westview Press, 1990. p. 420 - 426.

DIAS, S. M. C. Interações entre plantas, insetos e outros seres. **eSabio** Disponível em <http://geocities.com/~esabio/interacao/principal.htm>. Revisado em 28 mar. 2005. Acesso em: 30 mar. 2005.

FAZOLIN, M. Cientistas tentam desenvolver inseticidas naturais a partir de plantas da Amazônia. **Canal Ciência**. Disponível em: [http://www.canalciencia.ibct.br/pesquisas/pesquisa.php?ref\\_pesquisa=188](http://www.canalciencia.ibct.br/pesquisas/pesquisa.php?ref_pesquisa=188). Acesso em: 10 mar. 2005.

GHISALBERTI, E. L. *Lantana camara* L. (Verbenaceae). **Fitoterapia**, v. 71, n. 5, p. 467 - 486, 2000.

KOGAN, M. Plant defense strategies and host-plant resistance. In: KOGAN, M. **Ecological theory and integrated pest management practice**. New York, J. Wiley & Sons, Inc., p. 83 – 133, 1986.

HOLM, L. G.; PLUCKNETT, D. L.; PANCHO, J.V.; HERBERGER, J. P. **The world's worst weeds: distribution and biology**. Honolulu: The University Press of Hawaii, 1977. 609 p.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. Nova Odessa: Franciscana, 1982. 608 p.

MELLO, F. B.; JACOBUS, D.; CARVALHO, K. C. S.; MELLO, J. R. B. Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on rat fertility. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 20 – 23, 2003.

PAL, S.; KOLEY, K. M.; PATHAK, A. K. Molluscicidal activity of *Azadirachta indica* leaves and *Lantana camara* leaves powders against *Indoplanorbis exustus*. **Journal of Animal Sciences**, v. 72, n. 7, p. 561 – 562, 2002.

PASS, M. A. **Toxicology of plants and fungal toxins: a Handbook of natural toxins**. In: KEEBA; R. F. Australia: Marcel Debba Inc., 1991. p. 297 – 311.

PIZZAMIGLIO, M. A. Ecologia das interações inseto/planta. In: PANIZZZI, A. R.; PARRA, J. R. P. (Eds.). **Ecologia nutricional de insetos e suas implicações no manejo de pragas**. São Paulo: Malone, 1991. Cap. 4, p. 101 – 129.

PRICE, P. W. **Insect Ecology**. New York: Wiley-interscience, 1984.

PROKOPY, R. J.; OWENS, E.D. Visual detection of plants by herbivorous insects. **Annual Review of Entomology**, v. 28, p. 337 - 364, 1983.

RHOADES, D. F. Herbivore population dynamics and plant chemistry. In: DENNO, R. F.; McCLURE, M. S. **Variable plants and herbivores in natural and managed systems**, New York: Academic Press, 1983. p. 155 – 220.

SEAWRIGHT, A. A. Studies on experimental intoxication of sheep with *Lantana camara*. **Australian Veterinary Journal**, v. 39, p. 340 – 344, 1963.

SEAWRIGHT, A. A. Toxicity of *Lantana* spp. in Queensland. **Australian Veterinary Journal**, v. 41, p. 235 – 238, 1965.

SHARMA, O. P.; SHARMA, P. Natural products of the *Lantana* plant – the present and prospects. **Journal of Science & Industrial Research**, v. 48, p. 471 – 478, 1989.

STATON, M. L.; SNOW, A. A.; HANDEL, S. N. Floral evolution: attractiveness to pollinators increases male fitness? **Science**, v. 232, p. 1625 – 1627, 1986.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil**, Rio de Janeiro: Helianthus, 320 p., 2000.

EFEITO DO  
MACERADO  
FLORAL DE  
*Lantana camara* NA  
SOBREVIVÊNCIA  
DE OPERÁRIAS  
DE *Apis mellifera*  
MANTIDAS EM  
CONDIÇÕES DE  
CONFINAMENTO

C  
Capítulo 1

# I INTRODUÇÃO

*Lantana* é uma planta tóxica que tem como princípio ativo a lantanina, que age diretamente no fígado dos animais, causando uma fotossensibilização da pele que fica inchada e quebradiça. A ingestão de 2 g de folhas/kg corporal é suficiente para causar intoxicação em bovinos (Lorenzi, 1982).

Tokarnia et al. (2000), em seu livro sobre plantas tóxicas de interesse pecuário, classificaram a *Lantana* ssp como sendo uma planta fotossensibilizante hepatógena, tendo como princípio ativo os triterpenos lantadene A e lantadene B, o último com aproximadamente 1/3 da toxicidade do primeiro, ocorrendo em todo o território brasileiro.

No Brasil, a intoxicação experimental com *Lantana* ssp tem sido provocada em bovinos (Tokarnia et al., 1984), ovinos (Brito e Tokarnia, 1995), búfalos (Laú, 1990) e coelhos (Brito, 1995).

Por serem plantas bem conhecidas, com frequência as lantanas têm sido acusadas, de forma indevida, como responsáveis por casos de fotossensibilização em herbívoros (Tokarnia et al., 2000). Com base em observações obtidas no Brasil e nos dados fornecidos pela literatura de outros países, estes autores concluíram que, em geral, são necessários dois fatores para que ocorra a intoxicação natural por *Lantana* ssp. Primeiramente é necessário que os animais estejam com fome e sendo transferidos de pasto ou região. Também deve ser considerada a espécie ou variedade tóxica de *Lantana* e que esta exista em quantidades suficientes no local para onde os animais estão sendo transferidos. Devido a estas condições, a intoxicação por *Lantana* não é comum, mas quando ocorre, tem alto índice de morbidade e letalidade.

Sharma et al. (1980) e Sharma et al. (1989) também estudaram a relação entre intoxicação com *Lantana* e o transporte dos animais.

São tóxicas para os animais as folhas, tanto frescas como dessecadas. A planta não perde a toxicidade durante o processo de dessecação e a mantém durante, pelo menos, um ano (Brito e Tokarnia, 1995). Os sintomas são alterações do sistema digestório – meteorismo moderado, movimentos ruminais diminuídos, perda de apetite, apatia, fezes amolecidas contendo sangue, fraqueza e lesões de fotossensibilização, principalmente nas regiões inguinal e cervical dorsal (Lorenzi, 1982). Em experimentos desenvolvidos por Tokarnia et al. (1984) em bovinos, os sintomas observados variaram de algumas horas a alguns dias, dependendo da forma como ocorreu a ingestão, se em dose única ou em doses sucessivas. Em geral, os animais morrem entre 3 dias e algumas semanas.

Tokarnia et al. (1984) observaram que os sintomas de intoxicação são bastante uniformes tanto em ovinos quanto em bovinos, iniciando-se com anorexia e redução ou parada dos movimentos do rúmen. Quando colocados ao sol, os animais procuram a sombra e apresentam manifestações de fotossensibilização sob forma de eritema, edema e necrose das partes despigmentadas da pele. Seguem-se inquietação, icterícia, urina de coloração amarelo-escura até marrom, fezes ressequidas e em pequena quantidade. Os animais também podem apresentar fendas cutâneas com desprendimento de pedaços da pele (gangrena seca, mumificação), resultando em feridas abertas e mau cheiro. O fígado dos animais geralmente apresenta coloração alaranjada e, os rins, tons esverdeados. No fígado ocorre moderada proliferação das células epiteliais dos ductos biliares. As células hepáticas mostram-se intumescidas, com núcleos vesiculares e cromatina marginada, ocorrendo também necrose dos hepatócitos. Nos rins, as células epiteliais apresentam alterações degenerativas, com evolução para lise e presença de cilindros hialinos no córtex e na medula.

Com o propósito de avaliar o grau de toxicidade das lantanais na Austrália, Seawright (1965) testou as reações de diversas amostras de *L. camara* (flores vermelhas, róseas, brancas e purpúreas) e uma amostra de *L. montevidensis* em carneiros. Concluiu que a toxicidade varia, sobretudo de acordo com os taxa (grau de parentesco) e, em menor escala, com a procedência da planta.

Brito et al. (2004) verificaram, dentre as lantanais existentes no Brasil, quais são tóxicas para ovinos e qual é o seu grau de toxicidade. Para isso, os referidos autores coletaram amostras em diversas regiões brasileiras e realizaram vários testes, tendo concluído que não é possível estabelecer uma correlação entre a cor das inflorescências das lantanais e sua toxicidade, confirmando assim a constatação de Seawright (1963). Também observaram que as lantanais advindas de algumas regiões são tóxicas, enquanto que as provenientes de outros locais não produzem sintomas de toxicidade. Nas que apresentaram atividade tóxica, a dose letal foi semelhante para todos os exemplares (40 g/kg), com exceção da *Lantana* procedente de Canoinhas (SC) que apresentou toxicidade na concentração 10 g/kg.

Thirunavukkarasu et al. (2001) realizaram um experimento, comparando a toxicidade de *L. camara* de flores vermelhas, advindas da região de Nilgiris de Tami (Nadu), e *L. camara* da variedade rosa, proveniente dos arredores de Chennai, duas localidades da Índia. Foram utilizados doze bezerros de mesma idade, divididos em 2 grupos. Cada grupo foi alimentado com uma variedade de *Lantana* (desidratada e em pó) na proporção 20g/kg. Todos os animais do primeiro grupo morreram entre o 7º e 12º dias do experimento. Os sintomas observados foram parecidos com os relatados por Tokarnia et al. (2000), ressaltando-se o distendimento e inflamação da bexiga urinária. Segundo Thirunavukkarasu et al. (2001), *Lantana* afeta especificamente os hepatócitos, resultando na inibição da secreção do canal biliar. A alteração na membrana do referido canal foi a principal alteração no fígado. Este órgão provavelmente deve ser o primeiro alvo das toxinas. Os autores relataram também que, quando um animal desidratado é exposto às toxinas, os efeitos nocivos são mais pronunciados. A provável causa da morte refere-se à insuficiência do fígado e falência dos rins. Em alguns animais também foram observados danos no miocárdio e paralisia intestinal. Em vista disso, concluíram que a variedade de flores vermelhas de *Lantana* (presente em regiões de colina) é mais tóxica quando comparada com a variedade de flores de cor rosa (presente em regiões planas).

Mandial et al. (2000) observaram alterações em amostras de fígado, rins, rúmen, jejuno, coração, baço, pulmão e bexiga de búfalos alimentados com *L. camara* (variedade de flores vermelhas) na concentração de 6g/kg.

Reddy et al. (2002) estudaram o grau de intoxicação em ovelhas de diversas idades e constataram que os sintomas de morbidez e mortalidade foram mais freqüentes em animais entre 6 e 12 meses de idade. Além dos sintomas já citados anteriormente, os referidos autores observaram perda da visão com aparente mudança na córnea. Ressaltaram também que os casos de intoxicação por *Lantana*, na Índia, são mais freqüentes nos meses de julho, agosto e setembro, já que os constituintes tóxicos estão mais concentrados neste período do ano.

Melo et al. (2003) analisaram os efeitos de extratos hidroalcoólicos de *L. camara* na fertilidade e na capacidade reprodutiva de machos de ratos albinos Wistar. Os referidos autores utilizaram plantas coletadas no Rio Grande do Sul, sendo estas desidratadas à temperatura ambiente. Após a desidratação, 100 g de *Lantana* foram imersos em 3 litros de solução hidroalcoólica (7:3 água destilada/ álcool comercial) por 24 horas, sob agitação constante. O extrato total foi filtrado e concentrado em retrovapor de baixa pressão, ao volume de 100 ml. Foi feita a aplicação oral do extrato nas proporções 1, 2 e 7 g/kg de peso corporal. O grupo controle recebeu somente solução hidroalcoólica pura. Os autores concluíram que os extratos de *L. camara* não interferiram no peso dos órgãos estudados (testículos, epidídimo, próstata, vesícula seminal, rins, fígado, baço e coração). Contudo, foram registradas

alterações degenerativas nos tecidos dos testículos e do fígado. Nos testículos observou-se perda do epitélio germinativo e aumento do espaço intercelular. A produção e a morfologia dos espermatozoides foram alteradas nos três grupos testes.

Bouda et al. (2001) estudaram o efeito de óleos essenciais das folhas de *L. camara* em *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Foram utilizados 200g de *Lantana* desidratada misturados em água destilada. Realizou-se uma hidrodestilação em aparelhagem Clevenger modificada. Usando placas de Petri, os autores trataram grãos de milho com diferentes concentrações dos óleos essenciais (0.063; 0.125; 0.25 e 0.5%), tendo registrado 100% de mortalidade na concentração mais alta (0,5%) em menos de 48 horas. Utilizando a concentração de 0,25% eles observaram uma mortalidade de 100% dos coleópteros em 120 horas. A taxa de mortalidade registrada para a concentração mais baixa variou de 13% a 75% entre 24 e 168 h de exposição, respectivamente. Foi registrada uma DL50 de 0.16% em 24 h.

Mazzonetto e Vendramim (2003) testaram o efeito de diversos pós de origem vegetal sobre o caruncho *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae), que ataca grãos armazenados de feijão. As plantas foram secas em estufas (40° C) e moídas até se obter um pó fino. Os autores utilizaram 0,03g de lantana/grama de feijão. Após 5 dias de experimento eles observaram 13,3% de mortalidade de *A. obtectus* em relação ao grupo controle, que foi exposto ao feijão sem tratamento. Também foi observado que *L. camara* não apresenta efeito repelente.

Koona e Njoya (2004) avaliaram o efeito de pós de *L. camara* (2% peso/peso) aplicados, por um período de 7 meses, em grãos de milho infestados por *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). Os autores observaram uma redução significativa nos danos causados nos grãos em relação ao grupo controle, que não recebeu tratamento algum. Ogendo et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes quando testaram os pós nas concentrações de 1%, 2.5% e 5%.

Meshram (2000) aplicou 1 ml de extratos folhares (a 5%) de diferentes plantas, sobre as folhas de *Dalbergia sissoo*, que foram oferecidas como alimento a larvas de *Plecoptera reflexa* (Lepidoptera: Noctuidae). O autor concluiu que os extratos de *Melia azadirach*, *Eucalyptus hybrid* e *L. camara* ocasionaram taxas de mortalidade larval de 56%, 48% e 36%, respectivamente, 24 horas após o início da alimentação das larvas.

Saxena et al. (1992) utilizaram as partes aéreas de *L. camara* para investigar sua ação inseticida, de antioviposição e impedimento de alimentação em *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). Os autores utilizaram 500g de *Lantana* (desidratada) e adicionada ao soxelet, com diferentes solventes. Os extratos foram preparados sob baixa pressão e cada extrato bruto foi diluído em várias concentrações nos próprios solventes. Foram aplicados 0,4 ml de cada concentração obtida por semente de grama. Quando os sol-

ventes utilizados foram éter de petróleo e metanol, os extratos das plantas provocaram, respectivamente, de 10 a 40% e 13 a 43% de mortalidade nos insetos, em concentrações de 1 a 5%, em 7 dias de experimento. Com 5% de concentração os extratos impediram a alimentação dos insetos, sendo observada ausência de oviposição com doses mais elevadas.

Cintra et al. (2002) incorporaram à dieta de abelhas (*Apis mellifera*) recém-emergidas, mantidas em condições laboratoriais, extratos metanólicos dos pedúnculos, flores e casca da árvore *Dimorphandra mollis* (popularmente conhecida como barbatimão). Os autores prepararam extratos com 3 concentrações (1%, 0,5% e 0,2%) e analisaram os resultados, traçando curvas de sobrevivência para cada uma delas. As abelhas do grupo controle receberam somente pasta-cândi. Observaram que em todas as concentrações houve diminuição na sobrevivência das abelhas em relação ao grupo controle, sendo que a concentração mais alta do extrato da casca provocou 100% de mortalidade em menos de 8 dias de experimentação. Já os extratos do pedúnculo e das flores, a 5%, induziram 100% de mortalidade com 12 dias. Em todos os casos considerados o controle sobreviveu, em média, até 25 dias.

Goulson e Derwent (2004) demonstraram que, na Austrália, a abelha *A. mellifera* é o visitante floral mais freqüente de *L. camara* (correspondendo a 62,9% de todos os visitantes florais registrados) e o principal polinizador desta espécie vegetal. Os referidos autores mencionaram a existência de uma correlação positiva entre a abundância da planta e a produção de frutos, na presença da citada abelha melífera.

Barrows (1976) destacou que, na Costa Rica, a abelha *Trigona fulviventris* causa pilhagem nas flores de *L. camara*. A abelha faz uma abertura na base da flor, próximo ao nectário, retirando assim o néctar. Tal ação não prejudica a planta no que diz respeito à visitação de outros polinizadores, pois estes visitam todas as flores de cada capítulo, danificadas ou não.



## Objetivo

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar o efeito do macerado floral de *L. camara*, acrescido à dieta, na sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*A. mellifera*) mantidas em condições de confinamento.

## MATERIAL E MÉTODOS

As abelhas utilizadas nos bioensaios foram criadas em colônias do apiário do Instituto de Biociências da Unesp de Rio Claro. Na montagem do experimento, adotou-se o procedimento descrito por Betioli (1989). Operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) recém-emergidas foram coletadas diretamente dos favos, sendo em seguida marcadas com tintas de várias cores. Esta marcação permitiu estabelecer a origem das operárias, bem como a sua idade. As abelhas marcadas foram introduzidas com o auxílio de uma tela metálica de 1 mm<sup>2</sup> de malha, com 7 cm x 5 cm x 1,5 cm de dimensões, em um núcleo com rainha contendo 3 favos cobertos com abelhas, sendo um deles portador de boa quantidade de mel e pólen e os outros dois com grande número de abelhas em diferentes fases de desenvolvimento. A introdução das abelhas marcadas em uma colônia contendo rainha foi a única alteração adicionada à técnica descrita por Betioli (1989). As operárias marcadas foram liberadas 24 horas após a introdução, sendo recapturadas e transferidas para caixas de laboratório sete dias após a marcação. As abelhas foram acondicionadas em caixas de madeira com 11 cm x 11 cm x 7 cm de dimensões, com o lado superior fechado por uma lâmina de vidro para facilitar a observação das abelhas confinadas e possibilitar o registro dos dados de mortalidade. Um dos lados de cada caixa possuía um orifício com aproximadamente uma polegada de diâmetro, vedado por uma tela de náilon para propiciar a entrada de ar. Foram utilizadas 90 abelhas por tratamento, sendo introduzidas 30 abelhas em cada caixa (3 repetições). O número de abelhas de cada repetição foi definido em função dos resultados obtidos no trabalho de Betioli e Chaud-Netto (2001) que estudaram o efeito do tamanho de grupo sobre a longevidade de operárias de abelhas afri-

canizadas mantidas em estado de orfandade em condições de laboratório. Os experimentos foram conduzidos em estufas bacteriológicas mantidas à temperatura de  $34^{\circ} \text{C} \pm 1^{\circ} \text{C}$  e umidade relativa de  $60 \pm 5\%$ . O número de abelhas mortas foi registrado diariamente.

As flores de *L. camara* foram coletadas no período de setembro de 2003 a outubro de 2004 na praça Prof. Dr. Antônio Christofolletti, no Campus da Universidade Estadual Paulista de Rio Claro, São Paulo. Aproximadamente 60 capítulos florais de *L. camara* foram coletados (exceto no primeiro experimento, onde foram coletados 120 capítulos) e, em cada um deles, foram retiradas somente as flores que apresentavam néctar e pólen. Tal procedimento foi realizado por meio da diferenciação das cores florais, já que as flores amarelas apresentam néctar e pólen, enquanto que as demais (com coloração vermelha) não apresentam tais produtos. As flores foram maceradas e misturadas ao cãndi (85% de açúcar de confeitado e 15% de mel) obtendo-se diversas concentrações do macerado. O alimento assim preparado foi colocado em uma tampa plástica de 2,8 cm de diâmetro, recoberta

**Tabela 1:** Proporção entre macerado floral de *L. camara* e pasta-cãndi (em gramas) oferecidos às operárias de *A. mellifera* do grupo experimental e respectivo controle

Concentração (%)	Cãndi	Lantana	Total
30,0*	1,80	0,80	2,60
10,0	1,80	0,20	2,00
7,50	1,85	0,15	2,00
5,00	1,90	0,10	2,00
2,50	1,95	0,05	2,00
Controle	2,00**	0,00	2,00

No 1º experimento\*, o grupo controle\*\* recebeu 2,6 g de pasta-cãndi

Durante a realização dos bioensaios cada grupo controle recebeu apenas pasta-cãndi como alimento, além de água renovada diariamente.

A dieta de cada grupo de operárias (grupo controle e grupo experimental) foi trocada a cada dois dias e o seu consumo foi estimado por meio da pesagem do alimento antes e depois de cada bioensaio. Este procedimento foi realizado somente para as concentrações mais elevadas (30% e 10%). O consumo de alimento foi avaliado e comparado para verificar se o extrato acrescido à dieta provocaria algum tipo de rejeição. Para tal finalidade foi utilizado o teste não-paramétrico U de Mann-Whitney, considerando que os dados obtidos nos experimentos apresentaram distribuição não normal e variâncias não homogêneas.

Foram realizados quatro bioensaios utilizando diferentes concentrações (tabela 2).

**Tabela 2:** : Concentração do macerado floral de *L. camara* testada em cada bioensaio

	Bioensaio 1	Bioensaio 2	Bioensaio 3	Bioensaio 4
Concentração (%)	30,0	10,0	10,0 7,5 5,0	5,0 2,5

Os bioensaios foram acompanhados diariamente, registrando-se o número de abelhas mortas tanto nos grupos experimentais como no controle.

A análise dos dados foi realizada graficamente, utilizando-se o Software Graph-Pad Prism 4.0. Posteriormente foi aplicado o teste não paramétrico Log-Rank Test, para comparar as várias curvas de sobrevivência obtidas (Motulsky, 1995).

# R RESULTADOS E DISCUSSÃO

## BIOENSAIO 1

Inicialmente foram testadas duas hipóteses para verificar se o extrato acrescido à dieta das operárias do grupo experimental havia provocado algum tipo de rejeição no consumo de alimento: H0 – não houve diferença de consumo para as duas dietas consideradas; H1 – houve diferença de consumo para as duas dietas consideradas. A aplicação do teste não-paramétrico de Mann-Whitney aos dados referentes à quantidade de alimento consumido pelas operárias do grupo experimental e do controle forneceu um valor de  $U = 3$  e  $P = 0,35$ . Como  $P > \alpha (0,05)$  foi aceita a hipótese de nulidade (H0), concluindo-se que não houve diferença de consumo para as duas dietas consideradas.

O bioensaio 1, realizado com a incorporação do macerado das flores de *L. camara* na dieta de operárias de *A. mellifera*, na concentração de 30%, forneceu resultados que indicam efeito tóxico para as abelhas, como pode ser observado na figura 1 e na tabela 3, registrando-se uma diminuição significativa na sobrevivência das abelhas do grupo experimental.

Pela análise das curvas de sobrevivência (Fig. 1) conclui-se que o efeito tóxico do macerado floral não foi imediato, ou seja, não se manifestou logo nos primeiros dias do experimento. Observa-se que a redução da sobrevivência das operárias do grupo experimental começou a se acentuar a partir do 4º dia, culminando com uma mortalidade de 100% no 19º dia, aproximadamente, enquanto o grupo controle sobreviveu até o 35º dia.

EFEITO DO MACERADO FLORAL DE *Lantana camara* NA SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

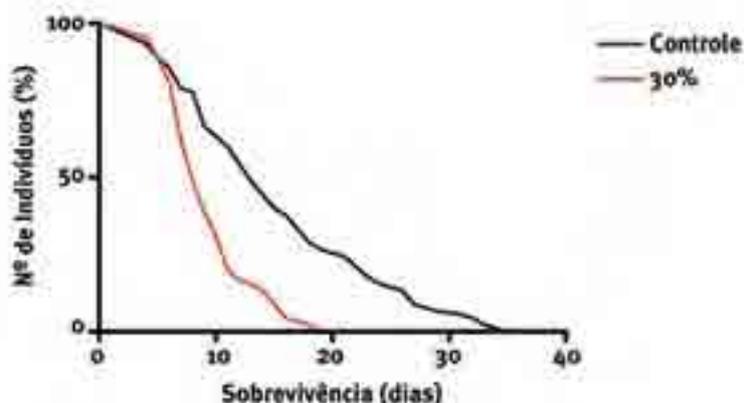


Figura 1: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 30% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi significativo. A tabela 3 contém os resultados da análise estatística realizada.

**Tabela 3:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao grupo controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 30%

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	4 dias	4 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	19 dias	35 dias
Mediana	8 dias	13 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$X^2 = 37,79$ g. l. = 1 $P < 0,0001^{**}$	

\*\* Indica valor altamente significativo ao nível de 1% de probabilidade

## BIOENSAIO 2

Quanto ao consumo de alimento pelas operárias dos dois grupos, foram testadas as mesmas hipóteses descritas no bioensaio 1. Obteve-se um valor de  $U = 4$  e  $P = 0,5$ . Como  $P > \alpha (0,05)$  foi aceita a hipótese de nulidade ( $H_0$ ), concluindo-se que não houve diferença de consumo para as duas dietas consideradas.

O bioensaio 2, realizado com a incorporação do macerado das flores de *L. camara* na dieta de operárias de *A. mellifera*, na concentração de 10%, forneceu resultados que indicam um efeito tóxico para as abelhas como pode ser observado na figura 2 e na tabela 4, sendo registrada uma diminuição significativa na sobrevivência das abelhas do grupo experimental.

Pela análise das curvas de sobrevivência (Fig. 2) conclui-se que o efeito tóxico do macerado floral não foi imediato, ou seja, não se manifestou logo nos primeiros dias do experimento. Observa-se que a redução da sobrevivência das operárias do grupo experimental começou a se acentuar a partir do 9º dia, culminando com uma mortalidade de 100% no 30º dia, aproximadamente, enquanto o grupo controle sobreviveu até o 45º dia.

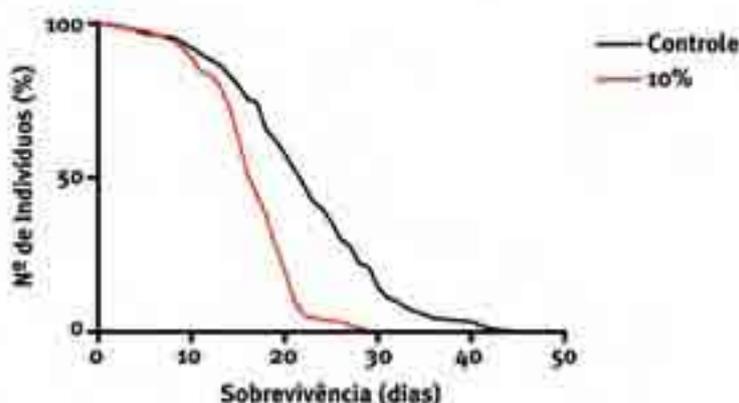


Figura 2: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 10% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi significativo. A tabela 4 contém os resultados da análise estatística realizada.

<b>Tabela 4:</b> Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de <i>L. camara</i> a 10%		
	<b>Grupo Experimental</b>	<b>Grupo Controle</b>
<b>Valor Mínimo de Sobrevivência</b>	2 dias	3 dias
<b>Valor Máximo de Sobrevivência</b>	30 dias	45 dias
<b>Mediana</b>	18 dias	22 dias
<b>Valor obtido no Log-Rank Test</b>	$\chi^2 = 41,82$ g. l. = 1 $P < 0,0001^{**}$	

\*\* Indica valor altamente significativo ao nível de 1% de probabilidade

### BIOENSAIO 3

O bioensaio 3, realizado com a incorporação do macerado das flores de *L. camara* na dieta de operárias de *A. mellifera* na concentração de 10% e 7,5%, forneceu resultados que indicam um efeito tóxico para as abelhas, como pode ser observado nas figuras 3 e 4 e nas tabelas 5 e 6, sendo registrada diminuição significativa na sobrevivência das abelhas do grupo experimental.

Nas figuras 3 e 4 observa-se que a redução da longevidade começou a se acentuar a partir do 11º dia nos dois bioensaios, culminando com uma mortalidade de 100% no 35º e no 40º dias, respectivamente, para os testes com 10% e 7,5% do macerado floral, enquanto o grupo controle sobreviveu até o 41º dia.

O teste utilizando o macerado a 10% ratifica os resultados observados no bioensaio 2.

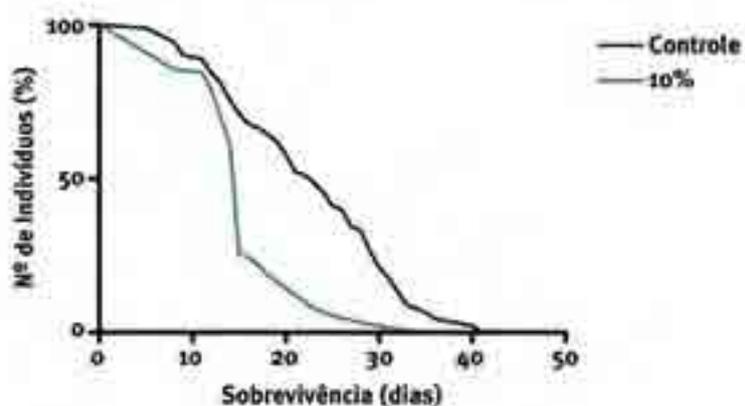


Figura 3: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 10% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi significativo. A tabela 5 contém os resultados da análise estatística efetuada.

**Tabela 5:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 10%

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	8 dias	5 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	35 dias	41 dias
Mediana	15 dias	23 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$\chi^2 = 36,80$ g. l. = 1 $P < 0,0001^{**}$	

\*\* Indica valor altamente significativo ao nível de 1% de probabilidade

EFEITO DO MACERADO FLORAL DE *Lantana camara* NA SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

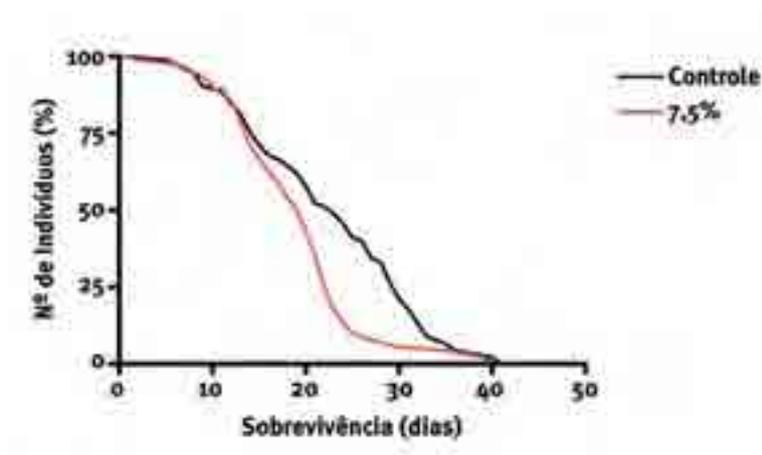


Figura 4: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral *L. camara* a 7,5% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi significativo. A tabela 6 contém os resultados da análise estatística realizada.

**Tabela 6:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 7,5%

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	2 dias	5 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	40 dias	41 dias
Mediana	19,5 dias	23 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$\chi^2 = 10,53$ g. l. = 1 P = 0,0012**	

\*\* Indica valor altamente significativo ao nível de 1% de probabilidade

EFEITO DO MACERADO FLORAL DE *Lantana camara* NA SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

No teste utilizando o macerado a 5% não foi observada nenhuma diferença entre os valores de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do grupo controle (ambos com mediana de 23 dias), como pode ser observado na figura 5 e na tabela 7.

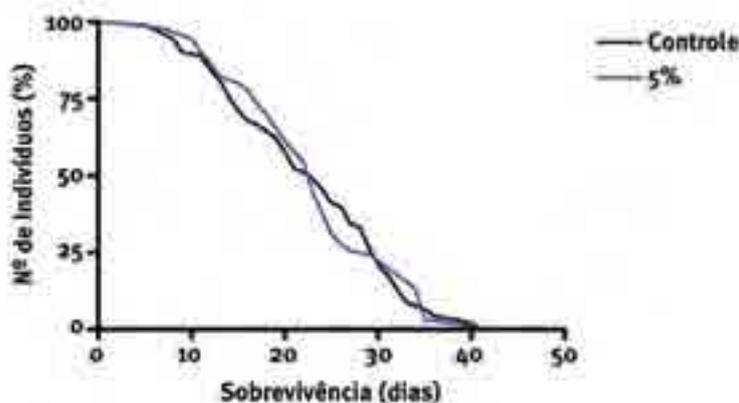


Figura 5: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 5% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A Tabela 7 contém os resultados da análise estatística realizada.

**Tabela 7:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 5%

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	4 dias	5 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	41 dias	41 dias
Mediana	23 dias	23 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$\chi^2 = 0,0023$ g. l. = 1 P = 0,9613*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

#### BIOENSAIO 4

Os experimentos realizados com a incorporação do macerado das flores de *L. camara* na dieta de operárias de *A. mellifera*, nas concentrações de 5% e 2,5%, forneceram resultados não significativos, indicando ausência de efeito tóxico para as abelhas, como pode ser observado nas figuras 6 e 7 e nas tabelas 8 e 9. Tanto no primeiro teste (macerado floral a 5%) quanto no segundo (macerado floral a 2,5%) não houve diferença significativa entre os valores de sobrevivência das abelhas dos grupos experimental e controle, que sobreviveram por aproximadamente 10 dias nos dois experimentos.

Os dados registrados nos bioensaios utilizando o macerado floral a 5% confirmam os resultados obtidos no bioensaio 3, quando foi utilizada a mesma concentração

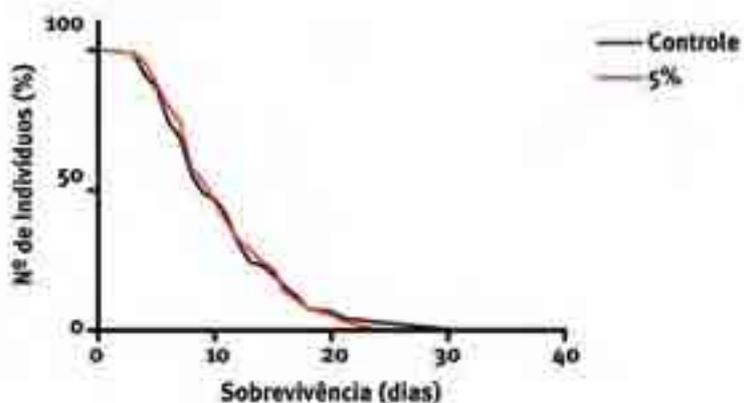


Figura 6: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 5% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A Tabela 8 contém os resultados da análise estatística efetuada.

<b>Tabela 8: Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de <i>L. camara</i> a 5%</b>		
	<b>Grupo Experimental</b>	<b>Grupo Controle</b>
<b>Valor Mínimo de Sobrevivência</b>	3 dias	3 dias
<b>Valor Máximo de Sobrevivência</b>	25 dias	31 dias
<b>Mediana</b>	10 dias	9 dias
<b>Valor obtido no Log-Rank Test</b>	$\chi^2 = 0,0382$ g. l. = 1 P = 0,8449*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

EFEITO DO MACERADO FLORAL DE *Lantana camara* NA SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

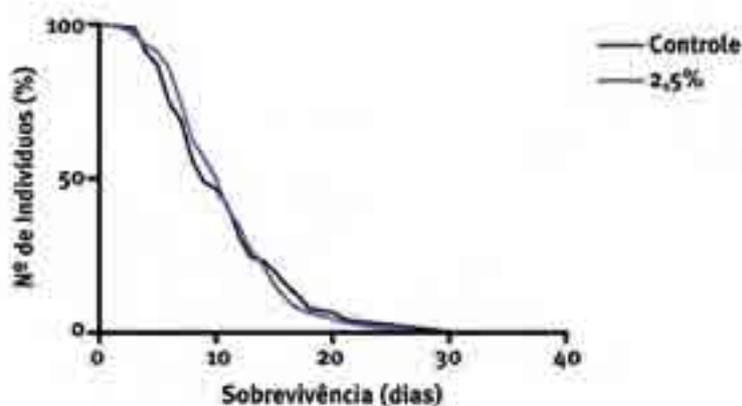


Figura 7: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) alimentadas com cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 2,5% e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A tabela 9 contém os resultados da análise estatística desenvolvida.

**Tabela 9:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de ingestão de cãndi contendo o macerado floral de *L. camara* a 2,5%

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	2 dias	3 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	29 dias	31 dias
Mediana	10,5 dias	9 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$\chi^2 = 0,0888$ g. l. = 1 P = 0,7656*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade

Não foram encontrados muitos trabalhos onde tenha sido utilizado algum tipo de macerado floral como alimento de determinado organismo, para avaliar sua possível atividade tóxica. A literatura enfatiza principalmente o uso das folhas para tais testes. Este fato é justificável, considerando-se a abundância das folhas na maioria das espécies conhecidas e o fato de estarem presentes na maior parte do ano.

Mesham (2000) observou a ocorrência de 36% de mortalidade em espécimes de *Plecoptera reflexa* (Lepidoptera: Noctuidae) quando estes se alimentaram de folhas de *Dalbergia sissoo* tratadas com 1 ml de extrato aquoso de folhas de *L. camara* a 5%.

Saxena et al. (1992) registraram uma mortalidade de 13 a 43 % em machos e fêmeas de *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) alimentados com sementes de grama tratadas com 0,4 ml de extrato metanólico de *L. camara*, nas concentrações de 1 a 5%, respectivamente.

Bouda et al. (2001) observaram 100% de mortalidade em espécimes de *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), depois de 48 h, quando estes foram alimentados com grãos de milho tratados com extrato metanólico de *L. camara* a 0,5%.

Mazzonetto e Vendramim (2003) detectaram uma mortalidade média de 13,3% em machos e fêmeas de *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) alimentados, por um período de 5 dias, com grãos de feijão tratados com pós de *L. camara*, na proporção de 0,3g de Lantana para cada 10g de feijão.

Segundo Koon e Njoya (2004), pós de *L. camara* (2% p/p) aplicados por um período de 7 meses, em grãos de milho infestados por *Sitophilus zeamais*, provocaram uma redução significativa no dano causado nos grãos, em relação ao grupo controle. Ogendo et al. (2004) obtiveram resultados semelhantes quando testaram pós nas concentrações de 1%, 2,5% e 5%.

Barrows (1976) e também Goulson e Derwent (2004) relataram que *L. camara* geralmente não apresenta frutificação, ou pode apresentar pequena quantidade de frutos quando não ocorre polinização cruzada.

Goulson e Derwent (2004) demonstraram que, na Austrália, a abelha *A. mellifera* é o visitante floral mais freqüente de *L. camara* (correspondendo a 62,9% de todos os visitantes florais registrados) e o principal polinizador desta espécie vegetal. Os referidos autores mencionaram a existência de uma correlação positiva entre a abundância da planta e a produção de frutos, na presença da citada abelha melífera.

Barrows (1976) destacou que, na Costa Rica, a abelha *Trigona fulviventris* causa pilhagem nas flores de *L. camara*. A abelha faz uma abertura na base da flor, próximo ao nectário, retirando assim o néctar. Tal ação não prejudica a planta no que diz respeito à visitação de outros polinizadores, pois estes visitam todas as flores de cada capítulo, danificadas ou não. Provavelmente não deve existir nenhuma substância tóxica no néctar ou no pólen de

*L. camara*, capaz de diminuir a longevidade das operárias da referida abelha, já que estas aparentemente são necessárias no processo de polinização da planta e realizam esta atividade com eficiência.

Uma possível explicação para a diminuição da longevidade das operárias de *A. mellifera* utilizadas nos testes realizados neste trabalho seria a existência de alguma substância tóxica nas estruturas florais. Este produto da planta seria uma ferramenta eficiente contra a ação de organismos herbívoros capazes de danificar as estruturas florais para conseguir recursos necessários à sua manutenção e sobrevivência.

É imprescindível enfatizar que os resultados obtidos na presente pesquisa devem ser avaliados levando-se em consideração o período de coleta das plantas e a localidade onde elas se desenvolveram, já que algumas substâncias presentes em determinadas espécies vegetais podem apresentar um certo grau de sazonalidade.

## C CONCLUSÃO

Tendo em vista os dados compilados em todos os bioensaios, conclui-se que existe alguma substância tóxica no macerado floral de *L. camara*, capaz de diminuir a sobrevivência de operárias de *Apis mellifera* mantidas em condições de confinamento.

Observou-se que quando o macerado é administrado às abelhas operárias em concentrações iguais ou superiores a 7,5% ocorre diminuição na sobrevivência das mesmas. Já quando o macerado é oferecido em uma concentração igual ou inferior a 5,0% a sobrevivência das operárias não é afetada.

Também foi constatado que as operárias que ingerem a toxina morrem aproximadamente uma semana após o início do tratamento.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROWS, E. M. Nectar robbing and pollination of *Lantana camara* (Verbenaceae). **Biotropica**, v. 8, n. 2, p. 132 – 135, 1976.

BETIOLI, J. V. **Estudo da longevidade de operárias de *Apis mellifera* L (Hymenoptera, Apidae) em condições de confinamento.** 1989. 74 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, 1989.

BETIOLE, J. V.; CHAUD-NETTO, J. Group effect on longevity of africanized honeybee workers (*Apis mellifera* L.) maintained without queen in laboratory conditions. **Naturalia**, v. 26, p. 265 - 275, 2001.

BOUDA, H.; TAPONDJOU, L. A.; FONTEM, D. A.; GUMEDZOE, M. Y. D. Effect of essential oils from leaves of *Ageratum conyzoides*, *Lantana camara* and *Chromolaena odorata* on the mortality of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera, Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 37, n. 2, p. 103 - 109, 2001.

BRITO, M. F. Sensibilidade do coelho à intoxicação por *Lantana camara* var. *aculeata* (Verbenaceae) em estado seco e desidratado. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 4, p. 107 – 110, 1995.

BRITO, M. F.; TOKARNIA, C. H. Estudo comparativo da toxidez de *Lantana camara* var. *aculeata* em bovinos e ovinos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 15, n. 2/3, p. 79 – 84, 1995.

- BRITO, M. F.; TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J. A toxidez de diversas lantanas para bovinos e ovinos no Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 24, n. 3, p. 153 – 159, 2004.
- CINTRA, P.; MALASPINA, O.; PETACCI, F.; FERNANDES, J. B.; BUENO, O. C.; VIEIRA, P. C.; SILVA, M. F. G. F. Toxicity of *Dimorphandra mollis* to workers of *Apis mellifera*. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 13, n. 1, p. 115 – 118, 2002.
- GOULSON, D.; DERWENT, L. C. Synergistic interactions between an exotic honeybee and an exotic weed: pollination of *Lantana camara* in Australia. **Weed Research**, v. 44, p. 195 – 202, 2004.
- KOONA, P.; NJOYA, J. Effectiveness of Soybean oil and powder from leaves of *Lantana camara* Linn. (Verbenaceae) as protectants of stored maize against infestation by *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). **Pakistan Journal of Biological Sciences**, v. 7, n. 12, p. 2125 – 2129, 2004.
- LÁU, H. D. Efeitos tóxicos de *Lantana camara* e de *Pithomyces chartarum* em búfalos. **Embrapa – CPATU**, Belém, Pará, Doc. 54, p. 18, 1990.
- LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil**. Nova Odessa, Editora Franciscana, 608 p., 1982.
- MANDIAL, R. K.; RANDHAWA, S. N. S.; ROY, K. S. Histochemical alterations in lantana toxicity. **Indian Journal of Animal Sciences**, v. 70, n. 8, p. 847 – 849, 2000.
- MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. Efeito de pós de origem vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em feijão armazenado. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 1, p. 145 – 149, 2003.
- MELLO, F. B.; JACOBUS, D.; CARVALHO, K. C. S.; MELLO, J. R. B. Effects of *Lantana camara* (Verbenaceae) on rat fertility. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 45, n. 1, p. 20 – 23, 2003.
- MESHARAM, P. B. Antifeedant and insecticidal activity of some medicinal plant extracts against *Dalbergia sissoo* defoliator *Plecoptera reflexa* Gue. (Lepidoptera: Noctuidae). **Indian Forester**, v. 126, 2000.
- MOTULSKY, M. D. H. **Intuitive Biostatistics**, New York: Oxford University Press, 1995. 386 p.

OGENDO, J. O.; DENG, A. L.; BELMAIN, S. R.; WALKER, D. J.; MUSANDU, A. A. O. Effect of insecticidal plant materials, *Lantana camara* L. and *Tephrosia vogelii* Hook, on the quality parameters of stored maize grains. **Journal of Food Technology in Africa**, v. 9, n. 1, p. 29 – 35, 2004.

REDDY, Y. R.; RAO, S. T. V.; VEERABRAMHIAH, K. Incidence of lantana poisoning in sheep. **Indian Veterinary Journal**, v. 79, p. 1317 – 1318, 2002.

SAXENA, R. C.; DIXIT, O. P.; HARSHAN, V. Insecticidal action of *Lantana camara* against *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 28, n. 4, p. 279 - 281, 1992.

SEAWRIGHT, A. A. Studies on experimental intoxication of sheep with *Lantana camara*. **Australian Veterinary Journal**, v. 39, p. 340 – 344, 1963.

SEAWRIGHT, A. A. A possible mechanism of intrahepatic obstruction in lantana poisoning. **Australian Veterinary Journal**, v. 41, p. 116 – 119, 1965.

SHARMA, O. P.; MAKKAR, H. P. S.; PAL, R. N. Lantadene: A content and toxicity of the lantana plant (*Lantana camara* Linn) to Guinea pigs. **Toxicon**, v. 18, p. 485 – 488, 1980.

SHARMA, O. P.; DAWRA, R. K.; MAKKAR, H. P. S. Toxicity of isolated lantana (*Lantana camara* L) constituents to male and female guinea pig. **Veterinary and Human Toxicology**, v. 31, p. 10 – 13, 1989.

THIRUNAVUKKARASU, P. S.; PRATHABAN, S.; SUNDARARAJ, A.; DHANAPALAN, P. Pathological studies of *Lantana camara* poisoning in experimental calves. **Indian Veterinary Journal**, v. 78, p. 676 – 678, 2001.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; LAZARRI A. A.; PEIXOTO, P. V. Intoxicação por *Lantana* spp. (Verbenaceae) em bovinos nos Estados de Mato Grosso e Rio de Janeiro. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 4, p. 129 – 141, 1984.

TOKARNIA, C. H.; DÖBEREINER, J.; PEIXOTO, P. V. **Plantas Tóxicas do Brasil**, Rio de Janeiro, Helianthus, Rio de Janeiro, 320 p., 2000.

EFEITO DO  
EXTRATO  
FOLHAR DE  
*Lantana camara*  
SOBRE A  
SOBREVIVÊNCIA  
DE OPERÁRIAS  
DE *Apis mellifera*  
MANTIDAS EM  
CONDIÇÕES DE  
CONFINAMENTO

C  
Capítulo 2

# I INTRODUÇÃO

Fatope et al. (2002) verificaram, inicialmente, que o extrato bruto de *Lantana camara* apresenta grande atividade larvicida em testes com camarões de água salgada (BST – Brine Shrimp Lethality Test). Para determinar quais partes da planta são tóxicas, folhas, ramos, caules e raízes foram desidratados e macerados, individualmente, em etanol. Após alguns testes usando clorofórmio e água, o resíduo foi solubilizado em metanol e éter de petróleo. A seguir, cada solução foi evaporada sob pressão reduzida. Os resíduos assim obtidos foram submetidos ao teste BST. Como resultado, as soluções obtidas a partir da maceração dos ramos e caules em metanol mostraram-se mais tóxicas que as preparadas com as folhas e raízes. No caule foram identificados, por meio de cromatografia em sílica gel, como principais componentes: o ácido oleanônico, lantadene A e ácido oleanólico. Dos três componentes, somente a lantadene A apresentou atividade tóxica. Em um ensaio com *Spodoptera littoralis* Biosduval (Lepidoptera: Noctuidae), os mesmos autores observaram uma mortalidade de 40% em relação ao controle e supressão da oviposição em *Clavigrolla tomentosicollis* Stal (Hemiptera: Coreidae). Todos os animais foram expostos à concentração de 5000 µg/ml por 48 horas. Os autores concluíram que estes triterpenóides não são suficientemente potentes para um rápido controle de pragas em plantações. O extrato também foi testado em *Aphis craccivora* Koch (Homoptera: Aphididae), mas não foi observado nenhum efeito significativo.

Seyoum et al. (2002) relataram que algumas plantas existentes no Kenya, entre elas *Ocimum americanum*, *L. camara* e *Azadirachta indica*, são muito utilizadas pelas populações locais para a repelência de mosquitos, tendo como principal método a queima das folhas ou das sementes da planta.

Begun et al. (2000) desidrataram partes aéreas de *L. camara*, tendo isolado posteriormente 3 componentes: lantanosida (1), linarosida (2) e ácido camarínico (3). Os mencionados autores testaram a atividade nematicida destes compostos em *Meloidogyne incognita* a uma concentração de 1%. Após a eclosão, cem larvas de *M. incognita*, com até 48 horas de vida, foram transferidas para placas de Petri esterilizadas contendo 5 ml de água destilada. Com o propósito de comparação foi utilizado o nematicida Furadan®. No grupo controle utilizou-se somente água destilada. O número de larvas mortas foi registrado 24, 48 e 72 horas após a aplicação tópica dos produtos. Depois de 24 horas os componentes 1, 2 e 3 ocasionaram, respectivamente, 90, 85 e 100% de mortalidade; com 48 horas e 72 horas registrou-se 95, 90 e 100% de mortalidade, respectivamente. O nematicida Furadan® induziu 100% de mortalidade larval em todos os experimentos realizados. O grupo controle apresentou 0 (zero), 2 e 3% de mortalidade nos períodos de 24, 48 e 72 horas respectivamente.

Como *L. camara* também é conhecida por sua atividade antimicrobiana, Barre et al. (1997) testaram um novo composto isolado das folhas dessa planta, o ácido 22β-acetoxilântico, em culturas de *Staphylococcus aureus* e *Salmonella typhi*. Os referidos autores observaram que, a uma concentração de 30 µg, o composto foi ativo, apresentando um índice antibacteriano médio de 0,95 e 0,55 respectivamente para *S. aureus* e *S. typhi*. Os antibióticos cloranfenicol, testado em *S. aureus*, e tetraciclina, usada contra *S. typhi*, apresentaram índices antibacterianos médios de 1,6 e 0,8, respectivamente.

Também foi analisada a atividade antimutagênica, utilizando-se o teste de micronúcleo. Os autores verificaram que uma concentração de 6,75 mg/kg, em ratos, reduziu em 76,7% o número de eritrócitos policromáticos micronucleados induzidos por Mitomicina - C.

Com o objetivo de encontrar tratamentos tópicos naturais, simples, baratos e eficazes contra dermatofilose bovina causada por *Dermatophilus congolensis*, Ali-Emmanuel et al. (2003) utilizaram extratos alcoólicos de folhas de *Senna alata*, *L. camara* e *Mitracarpus scaber*. As folhas foram desidratadas à temperatura ambiente, por 5 dias, sendo trituradas no fim deste período. Foram misturados 500g de cada planta em 4 litros de etanol, por 72 horas, em um agitador elétrico. A mistura foi filtrada e concentrada utilizando-se retrovapor. Foram obtidas as concentrações de 22,88% para *S. alata*, 12,68 % para *L. camara* e 12,62 % para *M. scaber*. Para a aplicação tópica, foi preparada uma pasta utilizando-se os extratos de cada planta e adicionando-os ao óleo de sementes de *Vitellaria paradoxa*. As pastas foram aplicadas em um período entre 8 e 15 dias. Os sintomas da doença desapareceram de 3 a 4 dias após o tratamento, não havendo recorrência da mesma durante 3 anos consecutivos. Após 3-4 semanas o local onde havia sintomas da doença se recuperou totalmente, não apresentando nenhum sinal indicativo de lesões anteriores (cicatrizes). Geralmente são utiliza-

dos antibióticos como terramicina e oxitetraciclina, ministrados por via parenteral, para o tratamento desta doença. Contudo, estes medicamentos não evitam a recorrência da doença e esta leva de 7 a 9 dias para ser tratada convenientemente. Segundo os autores da pesquisa, a pasta também age como repelente contra moscas, evitando que a área tratada seja acometida de outras infecções.

Saxena e Sharma (1999) avaliaram a atividade bactericida e fungicida do óleo essencial de *L. aculeata*. O óleo foi purificado e diluído em etilenoglicol em uma concentração de 6 mg/mL de solução salina tamponada com fosfato e testado usando-se o método de difusão em disco. Os autores constataram atividade contra *Salmonella pullorum*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Vibrio cholerae*, *Penicillium digitatum*, *P. notatum*, *Rhizopus stolonifer* e *Microsporum gypsum*, tendo sido registrada atividade bactericida e fungicida mesmo com diluição de 1:20.

Em um experimento semelhante, Deena e Thoppil (2000) testaram a atividade bactericida e fungicida de *L. camara*, tendo observado uma inibição de crescimento em *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Fusarium solani* e *Candida albicans*.

Pal et al. (2002) testaram o efeito do macerado folhar de *A. indica* e de *L. camara* no molusco *Indoplanorbis exustus*. Utilizaram diversas concentrações preparadas com 500 ml de água. Foram testados 8 moluscos para cada concentração e também no grupo controle, que recebeu somente água. Os animais eram mantidos em potes individuais, contendo uma das concentrações utilizadas no experimento. A mais baixa concentração de *A. indica* (0,025%) foi responsável pela morte de 25% dos caramujos após 24 horas de exposição, enquanto a concentração de 0,4% provocou 100% de mortalidade após 12 horas. No experimento com *L. camara* foi observada uma mortalidade de 100% para as concentrações de 0,05%, 0,1% e 0,2% em 24, 12 e 6 horas de exposição, respectivamente. No grupo controle não se observou nenhuma morte. Os autores ressaltaram que a ação molusquicida de *A. indica* e *L. camara* é significativa e merece maiores estudos, visando o controle de organismos que são possíveis transmissores de doenças, como algumas espécies de moluscos.

Iannacone e Lamas (2003) estudaram a ação de extratos de *L. camara* sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae) e *Trichogramma pintoi* (Hymenoptera: Encyrtidae). As folhas de *L. camara* foram secas e trituradas. Posteriormente foram preparados extratos aquoso (F1), hexânico (F2) e em acetona (F3), por agitação e filtragem. Os extratos foram preparados na concentração de 10% e aplicados por borrifação (12,5µL por indivíduo adulto) ou por imersão (ovos). Os autores constataram que F2 e F3 apresentaram uma atividade ovicida (20 e 40%, respectivamente) em *C. externa*, mas nenhuma atividade foi observada nas larvas e pupas. Já em *T. pintoi*, quando foram feitas exposições superiores a 12 horas, os três extratos (F1,

F2 e F3) apresentaram atividade inseticida nas proporções de 80, 90 e 95%, respectivamente para ovos, larvas e pupas.

Saxena et al. (1992) utilizaram as partes aéreas de *L. camara* para investigar sua ação inseticida, de antioviposição e impedimento de alimentação em *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). Os autores utilizaram 500g de *Lantana* (desidratada) e adicionada ao soxhlet, com diferentes solventes. Os extratos foram preparados sob baixa pressão e cada extrato bruto foi diluído em várias concentrações nos próprios solventes. Foram aplicados 0,4 ml de cada concentração obtida por semente de grama. Quando os solventes utilizados foram éter de petróleo e metanol, os extratos das plantas provocaram, respectivamente, de 10 a 40% e 13 a 43% de mortalidade nos insetos, em concentrações de 1 a 5%, em 7 dias de experimento. Com 5% de concentração os extratos impediram a alimentação dos insetos, sendo observada ausência de oviposição com doses mais elevadas.



## OBJETIVO

No presente trabalho estudou-se o efeito de extratos de *L. camara* em operárias de *Apis mellifera*, por meio de aplicação tópica, para avaliar a ação de possíveis substâncias tóxicas presentes nas folhas dessa planta que entrariam em contato com as abelhas externamente e não por assimilação alimentar.

## MATERIAL E MÉTODOS

Em todos os bioensaios, a coleta das operárias e sua posterior marcação e manutenção em caixas de laboratório seguiram o mesmo procedimento experimental descrito no capítulo 1.

As folhas *L. camara* foram coletadas no período de setembro de 2003 a outubro de 2004 no Campus da Universidade Estadual Paulista de Rio Claro, sendo posteriormente secas em temperatura ambiente. Aproximadamente 5 g do material (em pó), acondicionados em papel-filtro, foram incorporados à aparelhagem Soxhlet para obtenção dos extratos, utilizando-se para isto 200 ml de metanol como solvente tal como foi descrito no trabalho desenvolvido por Saxena et al. (1992). O material permaneceu na aparelhagem durante um período em que foram observados 10 refluxos. Após este processo, o corpo residual presente no papel-filtro foi pesado e o material extraído foi estimado, permanecendo no interior de uma capela até a obtenção de 50 ml de solução. Esta concentração foi chamada de fração principal. Posteriormente esta concentração foi diluída em metanol na proporção 1:2 (1+1) e 1:3 (1+2).

Foram utilizados três grupos experimentais em cada bioensaio (em um foi aplicada a concentração principal e, nos demais, as duas diluições). As abelhas de cada grupo receberam 2 $\mu$ L de uma das soluções preparadas, na região do pronoto, usando-se uma micro-pipeta previamente calibrada. As abelhas do grupo controle receberam 2 $\mu$ L do solvente. Este procedimento experimental foi proposto por Calligaris (2001), exceto pelo fato de que aquela autora utilizou uma microseringa para a aplicação tópica das substâncias que ela testou em *Apis mellifera* e *Scaptotrigona postica* enquanto que, na presente pesquisa, foi utilizada uma micropipeta.

Os testes foram acompanhados diariamente, registrando-se o número de abelhas mortas tanto nos grupos experimentais como nos grupos controle. Diariamente as abelhas mortas eram retiradas das caixas de laboratório para evitar a contaminação ou a morte de outras abelhas por septicemia. A análise dos dados foi realizada graficamente utilizando-se o Software Graph-Pad Prism 4.0. Posteriormente foi aplicado o teste não paramétrico Log-Rank Test, para comparar as várias curvas de sobrevivência obtidas (Motulsky, 1995).

# R RESULTADOS E DISCUSSÃO

## BIOENSAIO 1

Estimou-se uma extração de 2,16 g do material que foi diluído em 50 ml de metanol, gerando uma concentração de 0,043 g/ml, que foi chamada de concentração principal. Em seguida esta concentração foi diluída 1 e 2 vezes. Como foram aplicados 2 $\mu$ L de cada concentração, as operárias de cada grupo receberam as doses de 0,0864 mg/abelha, 0,0432 mg/abelha e 0,0216 mg/abelha (concentração principal, primeira e segunda diluições respectivamente).

A figura 1 refere-se às curvas de sobrevivência das operárias dos grupos experimentais, nas quais foram aplicadas as concentrações acima mencionadas e do grupo controle.

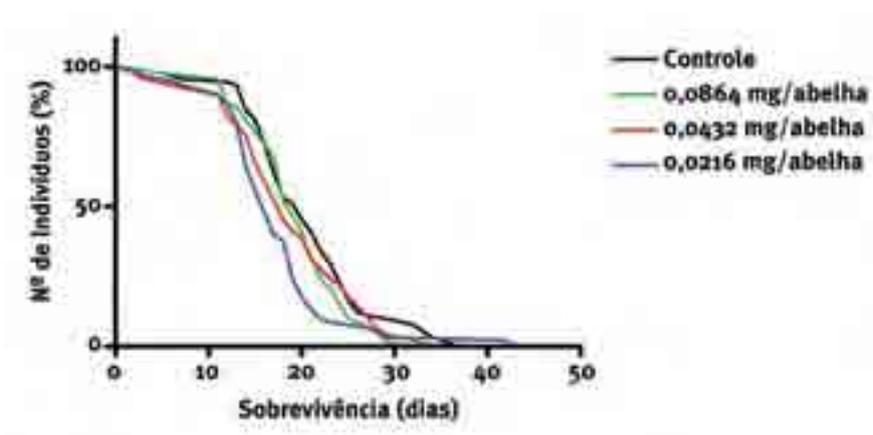


Figura 1: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam as concentrações de 0,0864 mg/abelha, 0,0432 mg/abelha e 0,0216 mg/abelha do extrato foliar de *L. camara* e do grupo controle

EFEITO DO EXTRATO FOLHAR DE *Lantana camara* SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

A figura 2 refere-se às curvas de sobrevivência das abelhas do grupo experimental, que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* (0,0864 mg/abelha) e do grupo controle.

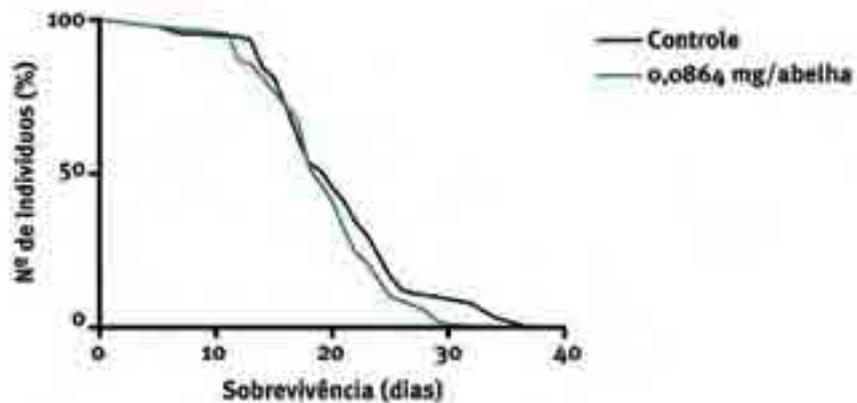


Figura 2: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* (0,0864 mg/abelha) e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A tabela 1 contém os resultados da análise estatística efetuada.

**Tabela 1:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de aplicação tópica da concentração principal do extrato folhar de *L. camara*

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	5 dias	5 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	33 dias	37 dias
Mediana	19 dias	20 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$X^2 = 2,905$ g. l. = 1 P = 0,883*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

EFEITO DO EXTRATO FOLHAR DE *Lantana camara* SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

A figura 3 refere-se às curvas de sobrevivência das abelhas do grupo experimental, que receberam a concentração principal do extrato diluída uma vez (0,0432 mg/abelha) e do grupo controle.

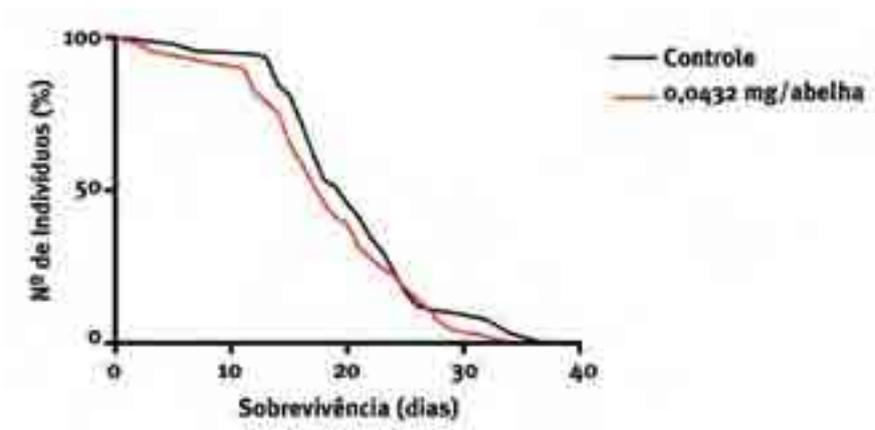


Figura 3: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída uma vez (0,0432 mg/abelha) e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A tabela 2 contém os resultados da análise estatística realizada.

**Tabela 2:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de aplicação tópica da concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída uma vez

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	2 dias	5 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	35 dias	37 dias
Mediana	18 dias	20 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$X^2 = 2,425$ g. l. = 1 P = 0,1194*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade.

EFEITO DO EXTRATO FOLHAR DE *Lantana camara* SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

A figura 4 refere-se às curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental, que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída duas vezes (0,0216 mg/abelha) e do grupo controle.

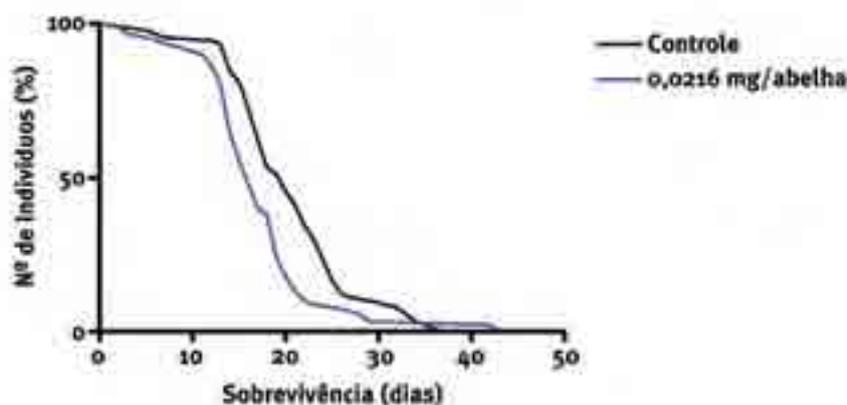


Figura 4: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída duas vezes (0,0216 mg/abelha) e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi significativo. A tabela 3 contém os resultados da análise estatística realizada.

**Tabela 3:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de aplicação tópica da concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída duas vezes

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	2 dias	5 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	43 dias	37 dias
Mediana	16 dias	20 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$X^2 = 9,766$ g. l. = 1 P = 0,0018*	

\* Indica valor significativo ao nível de 1% de probabilidade

Somente no teste onde foram aplicados 0,0216 mg/abelha do extrato folhar observou-se resultado significativo (figura 4 e tabela 3), registrando-se uma diminuição na sobrevivência das abelhas. Nos demais testes, as concentrações utilizadas não apresentaram nenhuma interferência na sobrevivência das abelhas do grupo experimental, em relação ao grupo controle (figuras 2 e 3 e tabelas 1 e 2).

## BIOENSAIO 2

Estimou-se uma extração de 2,22 g do material que foi diluído em 50 ml de metanol, gerando uma concentração de 0,044 g/ml, que foi chamada de fração principal. Em seguida esta concentração foi diluída 1 e 2 vezes. Como foram aplicados 2 $\mu$ L de cada concentração, cada grupo experimental recebeu as doses de 0,0888 mg/abelha, 0,0444 mg/abelha e 0,0222 mg/abelha do extrato folhar de *L. camara* (concentração principal, primeira e segunda diluições respectivamente).

A figura 5 refere-se às curvas de sobrevivência das operárias dos grupos experimentais, que receberam as concentrações 0,0888 mg/abelha, 0,0444 mg/abelha e 0,0222 mg/abelha e do grupo controle.

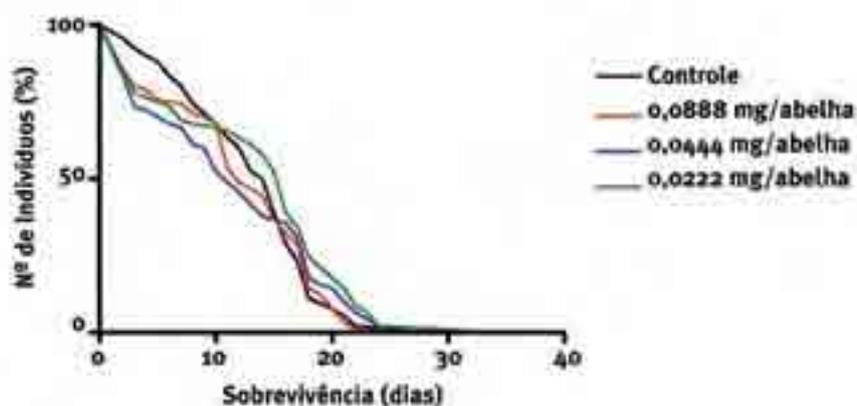


Figura 5: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam as concentrações de 0,0888 mg/abelha, 0,0444 mg/abelha e 0,0222 mg/abelha do extrato folhar de *L. camara* e do grupo controle

EFEITO DO EXTRATO FOLHAR DE *Lantana camara* SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

A figura 6 refere-se às curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental, que receberam a concentração principal do extrato obtido (0,0888 mg/abelha) e do grupo controle.

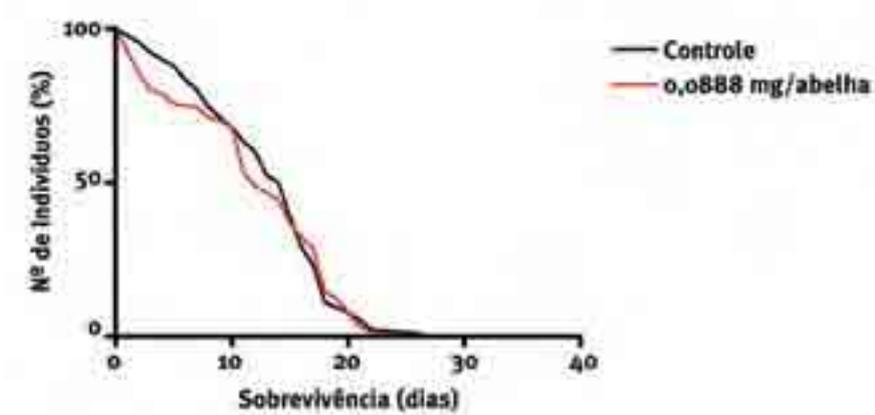


Figura 6: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* (0,0888 mg/abelha) e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A tabela 4 contém os resultados da análise estatística realizada.

**Tabela 4:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de aplicação tópica da concentração principal do extrato folhar de *L. camara*

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	2 dias	2 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	27 dias	27 dias
Mediana	12 dias	14,5 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$\chi^2 = 0,0662$ g. l. = 1 P = 0,7939*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade

EFEITO DO EXTRATO FOLHAR DE *Lantana camara* SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

A figura 7 refere-se às curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental, que receberam a concentração principal do extrato diluída uma vez (0,0444 mg/abelha) e do grupo controle.

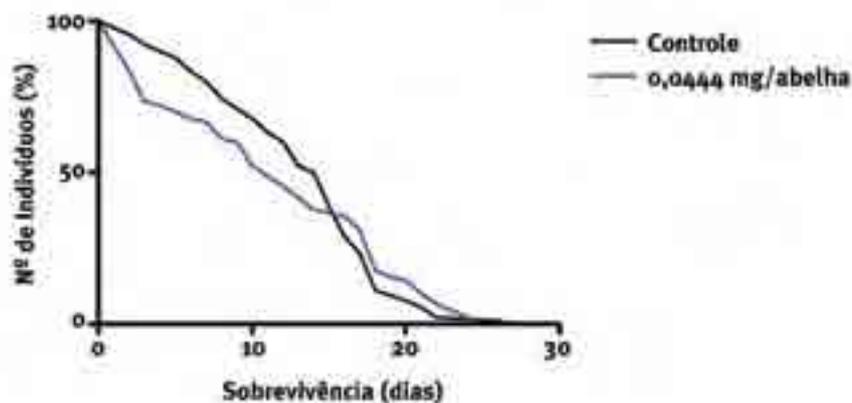


Figura 7: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída uma vez (0,0444 mg/abelha), e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle não foi significativo. A tabela 5 contém os resultados da análise estatística efetuada.

<b>Tabela 5:</b> Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de aplicação tópica da concentração principal do extrato folhar de <i>L. camara</i> diluída uma vez		
	<b>Grupo Experimental</b>	<b>Grupo Controle</b>
<b>Valor Mínimo de Sobrevivência</b>	2 dias	2 dias
<b>Valor Máximo de Sobrevivência</b>	25 dias	27 dias
<b>Mediana</b>	11 dias	14,5 dias
<b>Valor obtido no Log-Rank Test</b>	$\chi^2 = 0,0093$ g. l. = 1 P = 0,9228*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade

EFEITO DO EXTRATO FOLHAR DE *Lantana camara* SOBRE A SOBREVIVÊNCIA DE OPERÁRIAS DE *Apis mellifera* MANTIDAS EM CONDIÇÕES DE CONFINAMENTO

A figura 8 refere-se às curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental, que receberam a concentração principal do extrato diluída duas vezes (0,0222 mg/abelha) e do grupo controle.

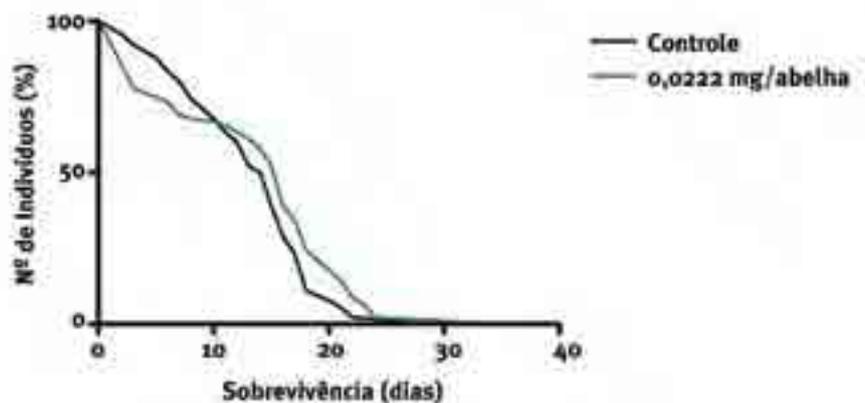


Figura 8: Curvas de sobrevivência de operárias de abelhas africanizadas (*Apis mellifera*) que receberam a concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída duas vezes (0,0222 mg/abelha) e do grupo controle

O resultado do Log-Rank Test de comparação entre as curvas de sobrevivência das operárias do grupo experimental e do controle foi não significativo. A tabela 6 contém os resultados da análise estatística desenvolvida.

**Tabela 6:** Resultado da análise estatística comparativa dos dados referentes ao tratamento e ao controle, no experimento de aplicação tópica da concentração principal do extrato folhar de *L. camara* diluída duas vezes

	Grupo Experimental	Grupo Controle
Valor Mínimo de Sobrevivência	2 dias	2 dias
Valor Máximo de Sobrevivência	36 dias	27 dias
Mediana	16 dias	14,5 dias
Valor obtido no Log-Rank Test	$X^2 = 3,261$ g. l. = 1 P = 0,0709*	

\* Indica valor não significativo ao nível de 5% de probabilidade

Observou-se que em todos os testes do bioensaio 2 que nenhuma das aplicações interferiu na sobrevivência das abelhas do grupo experimental, em relação ao grupo controle (figuras 6, 7 e 8; tabelas 4, 5 e 6).

O bioensaio 2 foi realizado para uma melhor avaliação dos resultados observados no bioensaio 1, já que neste último registrou-se uma diminuição significativa na sobrevivência das operárias quando foi aplicada a segunda diluição do extrato folhar. Em vista da diferença entre os dois resultados, torna-se necessária a realização de outros experimentos para que se confirme ou não a existência de alguma atividade tóxica nesta diluição.

Fatope et al. (2002) registraram 40% de mortalidade em espécimes de *Spodoptera littoralis* Biosduval (Lepidoptera: Noctuidae) que receberam, topicamente, 5 mg/ml de lantadene A extraída do caule de *L. camara*.

Pal et al. (2002) observaram que o macerado folhar de *L. camara* misturado em 500 ml de água destilada provocou uma mortalidade de 100% no molusco *Indoplanorbis exustus*, aplicado topicamente nas concentrações de 0,05%, 0,1% e 0,2% em 24, 12 e 6 horas de exposição.

Iannacone e Lamas (2003) constataram que extratos hexânicos e acetônicos das folhas de *L. camara*, na concentração de 10%, tiveram uma atividade ovicida (20% e 40% de mortalidade, respectivamente) em *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). Já os extratos aquoso, hexânico e acetônico apresentaram atividade inseticida nas proporções de 80, 90 e 95% respectivamente, em *Trichogramma pintoi* (Hymenoptera: Encyrtidae).

Begun et al. (2000) verificaram que os compostos lantanosida, linarosida e ácido camarínico isolados das partes aéreas de *L. camara*, na concentração de 1%, ocasionaram, respectivamente, 90, 85 e 100% de mortalidade no nematóide *Meloidogyne incognita*, 24 horas após a aplicação tópica.

Saxena et al. (1992) observaram uma mortalidade de 13 a 43% em espécimes de *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) alimentados com sementes de grama tratadas com 0,4 ml de extrato metanólico de *L. camara*, nas concentrações de 1 a 5%, respectivamente.

# C CONCLUSÃO

Considerando a técnica utilizada nos experimentos desenvolvidos na presente pesquisa, conclui-se que nenhuma das concentrações utilizadas nos bioensaios provocou uma diminuição da sobrevivência das operárias mantidas em condições de confinamento.

É necessário enfatizar que os resultados registrados na pesquisa devem ser considerados levando-se em conta o período de coleta do material utilizado para a preparação dos extratos e o local onde as plantas se desenvolveram, já que algumas substâncias presentes nas plantas podem apresentar um certo grau de sazonalidade.

# REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI-EMMANUEL, N.; MOUDACHIROU, M.; AKAKPO, J. A.; QUETIN-LECLERQ, J. Treatment of bovine dermatophilosis with *Senna alata*, *Lantana camara* and *Mitracarpus scaber* leaf extracts. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 86, p. 167 – 171, 2003.

BARRE, J. T.; BOWDEN, B. F.; COLL, J. C.; DE JESUS, J. A bioactive triterpene from *Lantana camara*. **Phytochemistry**, v. 45, n. 2, p. 321 – 324, 1997.

BEGUN, S.; WAHAB A.; SIDDIQUI, B. S.; QUAMAR, F. Nematicidal constituents of the aerial parts of *Lantana camara*. **Journal of Natural Products**, v. 63, p. 765 – 767, 2000.

CALLIGARIS, I. B. **Toxicidade do néctare do pólen de *Spathodea campanulata* (BIGNONEACEAE) sobre operárias de *Apis mellifera* (HYMENOPTERA: APIDAE) e *Scaptotrigona postica* (HYMENOPTERA: APIDAE)**. 2001. 56 f. Dissertação (Mestrado em Zoologia) – Instituto de Biociências, UNESP, Rio Claro, 2001.

DEENA, M. J.; THOPPIL, J. E. Antimicrobial activity of the essential oil of *Lantana camara*. **Fitoterapia**, v. 70, p. 453 – 455, 2000.

FATOPE, O. M.; SALIHU, L.; ASANTE, S. K.; TAKEDA, Y. Larvicidal activity of extracts and triterpenoids from *Lantana camara*. **Pharmaceutical Biology**, v. 40, n. 8, p. 564 – 567, 2002.

IANNACONE, O. J.; LAMAS, M. G. Efectos toxicológicos de extractos de molle (*Schinus molle*) y lantana (*Lantana camara*) sobre *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae), *Trichogramma pintoii* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) y *Copidosoma koehleri* (Hymenoptera: Encyrtidae) en el Perú. **Agricultura Técnica**, v. 63, n. 4, p. 347 – 360, 2003.

MOTULSKY, M. D. H. **Intuitive Biostatistics**, New York: Oxford University Press, 386 p., 1995.

PAL, S.; KOLEY, K. M.; PATHAK, A. K. Molluscicidal activity of *Azadirachta indica* leaves and *Lantana camara* leaves powders against *Indoplanorbis exustus*. **Journal of Animal Sciences**, v. 72, n. 7, p. 561 – 562, 2002.

SAXENA, R. C.; DIXIT, O. P.; HARSHAN, V. Insecticidal action of *Lantana camara* against *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research**, v. 28, n. 4, p. 279 – 281, 1992.

SAXENA, V. K.; SHARMA, R. N. Antimicrobial activity of the essential oil of *Lantana aculeata*. **Fitoterapia**, v.70, p. 67 – 70, 1999.

SEYOUM, A.; PALSSON, K.; KABIRU, E. W. et al. Traditional use of mosquito-repellent plants in western Kenya and their evaluation in semi-field experimental huts against *Anopheles gambiae*: ethnobotanical studies and application by thermal expulsion and direct burning. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96, n. 3, p. 225 – 231, 2002.

# CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos nos bioensaios de incorporação do macerado floral de *L. camara* na dieta de abelhas africanizadas indicam que, nos capítulos florais, deve existir alguma substância tóxica potencialmente capaz de diminuir a sobrevivência das operárias. Faz-se necessária a realização de análises químicas para determinar a natureza dessa substância e identificar seu modo de ação e em quais órgãos das abelhas ela atua.

Já nos bioensaios de aplicação tópica dos extratos folhares de *L. camara* em operárias de *A. mellifera*, os resultados da pesquisa indicam que as concentrações utilizadas nos testes de laboratório não interferiram na sobrevivência das abelhas, sugerindo que o princípio ativo presente nas folhas da planta, que é tóxico para várias espécies de vertebrados e insetos fitófagos, provavelmente não tem ação nociva quando é aplicado topicamente em abelhas operárias adultas mas, aparentemente, só age quando é ingerido em determinadas concentrações.