

Efeito do extrato aquoso de folhas de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) sobre *Bradybaena similis* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae) em condições de laboratório

Carla Aparecida Azevedo do Nascimento¹, Eloá Arévalo¹, Inês Scassa Afonso-Neto²,
Elisabeth Cristina de Almeida Bessa³ & Geraldo Luiz Gonçalves Soares⁴

1- Curso de Ciências Biológicas, ICB/UFJF. caanascimento@yahoo.com.br

2- Departamento de Botânica, ICB/UFJF. inesaneto@yahoo.com.br

3- Departamento de Zoologia, Núcleo de Malacologia, ICB, Universidade Federal de Juiz de Fora, 36036-900, Juiz de Fora, MG. elisabeth.bessa@ufjf.edu.br

4- Departamento de Botânica, IB/UFRGS. geraldo.soares@ufrgs.br

Abstract: Effect of the aqueous extract from *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) upon *Bradybaena similis* (Férussac, 1821) (Bradybaenidae) in laboratory conditions. Terrestrial gastropods like *Bradybaena similis* (Férussac, 1821) are intermediate hosts of digenetic helminths and plagues of kitchen gardens, causing damage to human and animal health, and to agriculture. In spite of that, literature shows failure in the use of mollusc control substances, and the elements contributing to this unsuccess are, among others, lack of knowledge about the biology and behavior of molluscs under the effects of synthetic and/or natural substances used in this control. Several plant species are used, and their extract is tested as molluscicide. *Allamanda cathartica* L. belongs to the Apocynaceae family and is known for having high toxicity. The goal of this research was to observe the action of the *A. cathartica* aqueous extract upon *B. similis*. The animals were raised in laboratory and separated into two stages (newborn and adults) and subjected to immersion in aqueous extract of *A. cathartica* in three different concentrations, and the control group immersed into distilled water. Mortality, activity and rest were quantified shortly after concluding the test, and 24 and 48 hours later. The aqueous extract of *A. cathartica* was not lethal for adults but was irritant. This result showed repellent effect upon to adults for the testing specie. The lethal action could be watched on the young stage of *B. similis*, evidencing biocid potencial to *A. cathartica*.

Key words: gastropods, escape behavior, molluscicide, repellent.

Resumo: Gastrópodes terrestres como *Bradybaena similis* (Férussac, 1821) são hospedeiros intermediários de helmintos digenéticos e pragas de hortas, causando danos à saúde humana e animal e à agricultura. Apesar disto, a literatura se mostra falha na utilização de substâncias para o controle destes moluscos, e os elementos que contribuem para esse insucesso são, dentre outros, ausência de conhecimento sobre a biologia e comportamento de moluscos sob os efeitos de substâncias sintéticas e/ou naturais utilizadas no controle. Várias espécies vegetais são utilizadas, e seu extrato testado como moluscicida. *Allamanda cathartica* L. pertence à família Apocynaceae e é conhecida por apresentar alta toxicidade. O objetivo desta investigação foi observar a ação do extrato aquoso de *A. cathartica* sobre *B. similis*. Os animais foram mantidos em laboratório e separados em dois estágios (recém-nascidos e adultos) e submetidos à imersão no extrato aquoso de *A. cathartica* em três diferentes concentrações. O grupo controle foi imerso em água destilada. A mortalidade, atividade e repouso foram quantificados imediatamente após a imersão e em 24 e 48 horas depois. O extrato aquoso de *A. cathartica* não foi letal para os adultos, mas irritante. Este resultado demonstra um efeito repelente sobre os adultos da espécie testada. A ação letal pôde ser observada nos estágios jovens de *B. similis*, evidenciando o potencial biocida de *A. cathartica*.

Palavras-chave: gastrópodes, comportamento de escape, moluscicida, repelente.

INTRODUÇÃO

O gastrópode terrestre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) é originário da Ásia, foi introduzido nos trópicos e em outras regiões do mundo pelo comércio de plantas, através de atividades humanas (ALMEIDA & BESSA, 2001). Autores como ARAÚJO (1989), ALMEIDA & BESSA (2001) e CHANG (2002) citam essa espécie como praga agrícola.

ALICATA (1940) registrou a atuação de *B. similaris* como hospedeiro intermediário do trematódeo *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923, parasito de aves. Posteriormente, DUARTE (1980), AMATO & BEZERRA (1989) e ARAÚJO (1989) confirmaram que esse gastrópode encontra-se naturalmente infectado por *P. gallinum*. *Bradybaena similaris* também participa do ciclo biológico do trematódeo digenético *Eurytrema coelomaticum* Giard & Billet, 1882 (ARAÚJO, 1989; PINHEIRO & AMATO, 1995), assim como do nematóide *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes, 1971 (RAMBO *et al.*, 1997).

Em altas densidades populacionais, os gastrópodes podem apresentar impactos econômicos consideráveis, sendo prejudiciais ao bem estar animal e humano. Por esta razão, o conhecimento de sua biologia, comportamento e ecologia podem subsidiar a elaboração de estratégias racionais de controle (STURROCK, 1995; STURROCK, 2001).

Dentre as medidas de controle tradicionais, destaca-se o uso de produtos cujos princípios ativos são substâncias sintéticas. Porém tais produtos apresentam vários problemas técnicos como: o efeito residual longo, elevado impacto ambiental, altos custos de síntese, produção e comercialização. Em virtude desses problemas tem-se observado o estímulo a pesquisas que busquem alternativas aos moluscicidas sintéticos. Entre as diversas alternativas apontadas, a busca de substâncias moluscicidas de origem vegetal tem sido motivo de intensas pesquisas nos últimos anos, uma vez que apresentam características desejáveis como custo mais exequível, facilidade de aplicação e baixo índice de toxidez para o ambiente (JURBERG *et al.*, 1989, BONFIM *et al.*, 2002).

Um dos motivos da ineficiência das estratégias de controle é o desconhecimento do comportamento padrão dos moluscos no ambiente, assim como das

alterações comportamentais relacionadas ao contato com substâncias tóxicas e ou irritantes (PANIGRAHI & RAUT, 1994). Portanto fazem-se necessárias observações comportamentais desses animais frente à ação de substâncias testadas como moluscicidas.

Allamanda cathartica (L.) (Apocynaceae) é uma planta arbustiva ornamental, latescente e considerada tóxica. Sua ingestão causa distúrbios gastrointestinais em humanos (OLIVEIRA, 2002). Espécies de *Allamanda* são conhecidas pela produção de princípios ativos, dentre os quais se destacam os iridóides (ANDERSON *et al.*, 1988). Apesar de não terem sido encontrados na literatura consultada, estudos sobre a atividade moluscicida do gênero *Allamanda*, o extrato de sementes de *Thevetia peruviana* (Pers.) Schumann, outra espécie de Apocynaceae que produz iridoides (GATA-GONÇALVES *et al.*, 2003) é citado como ativo sobre moluscos terrestres (PANIGRAHI & RAUT, 1994). Pelas informações apresentadas, objetivou-se nesse estudo avaliar a ação do extrato de folhas de *A. cathartica* sobre indivíduos de *B. similaris*.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Moluscos e Helmintos do Programa de Pós Graduação em Ciências Biológicas/Comportamento e Biologia Animal (ICB/UFJF). Para os experimentos, 160 indivíduos recém eclodidos de *B. similaris* foram retirados da criação matriz, sendo que 80 foram submetidos aos testes logo após a retirada do terrário e os demais, criados até completarem 120 dias.

A manutenção e manejo de todos os moluscos foram feitos segundo BESSA & ARAÚJO (1995). As temperaturas médias e a umidade relativa do ar foram observadas diariamente durante o experimento, utilizando-se Termo-higrômetro digital de leitura direta Incoterm®.

As folhas de *A. cathartica* (100g) foram coletadas de exemplar do campus, cultivado como ornamental. Para a obtenção do extrato aquoso as folhas foram fragmentadas e submetidas à maceração estática em 1000ml de água destilada por 48 h a temperatura ambiente.

Os moluscos, tanto recém eclodidos quanto adul-

tos, em jejum prévio de 24 horas, foram distribuídos em três grupos tratados e um grupo controle (10 animais por grupo experimental) com duas repetições cada um.

Para a realização do teste, os animais dos grupos tratados foram colocados em recipientes de polietileno com 10 cm de diâmetro e 5,5 cm de profundidade e a seguir imersos por 10 minutos em diferentes concentrações do extrato vegetal (1:10, 1:100 e 1:1000). Os grupos controle foram imersos em água destilada.

A metodologia seguida no presente trabalho foi adaptada de outras descritas em testes moluscicidas e de verificação de comportamento de escape para moluscos aquáticos tratados com substâncias de origem vegetal (JURBERG *et al.*, 1995, BONFIM *et al.*, 2002; SOUZA, 2003).

No presente estudo as observações realizadas concentraram-se na verificação de ocorrência de mortalidade e/ou atividade em grupos de animais jovens e adultos de indivíduos tratados e não tratados no momento da imersão, 24 e 48 horas após.

A observação comportamental teve o seu foco voltado apenas para o escape (afastamento do animal) ou não do local em que foram submetidos à imersão.

Embora tenham sido registrados diversos atos comportamentais que caracterizam atividade como deslocamento vertical, deslocamento horizontal e agregação; e repouso como retração da massa cefalopodal e formação do epifragma (JUNQUEIRA *et al.* 2003), tais percentagens não foram discriminadas nesse estudo.

Para a verificação da mortalidade, nas diferentes concentrações, utilizou-se o teste de sobrevivência Log-Rank Test, ao nível de 5% de significância, com censurados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Vários pesquisadores têm se ocupado em testar produtos naturais para empregar no controle de moluscos devido ao seu baixo custo e efeito residual (JURBERG *et al.* 1985; PANIGRAHI & RAUT, 1994; MENDES *et al.*, 1997). Em relação à ação moluscicida do extrato aquoso de *A. cathartica*, foi verificado que a

mortalidade em animais recém eclodidos atingiu 80% para as duas maiores concentrações (1:10; 1:100) nas primeiras 24 horas após a imersão e permaneceu nesta porcentagem nas 24 horas seguintes, não sendo verificada mortalidade imediatamente após a realização do teste (Fig. 1).

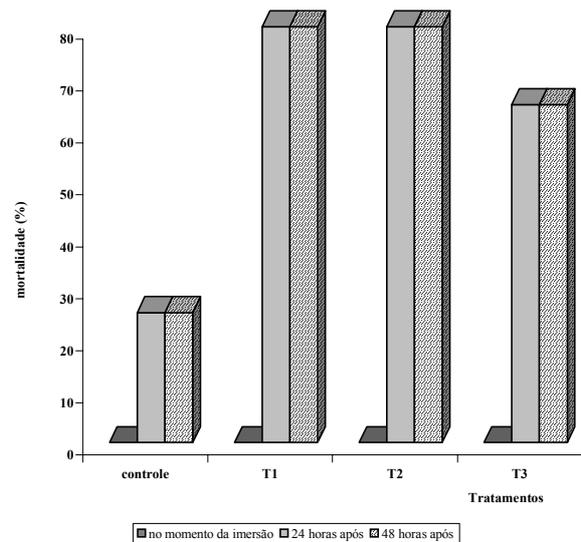


Figura 1: Percentagem da mortalidade de jovens de *Bradybaena similaris* submetidos ao extrato de *Allamanda cathartica* (T1=1:10, T2=1:100 e T3=1:1000).

PANIGRAHI & RAUT (1994) verificaram 100% de mortalidade em jovens de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 e *Laevicaulis alte* (Férussac) quando submetidos ao extrato da semente de *T. peruviana*.

A partir do teste de sobrevivência, verificou-se que a mortalidade foi significativa nos três tratamentos em relação ao controle (T1 - $\chi^2 = 8,5148$; $p = 0,0035$; T2 - $\chi^2 = 8,5148$; $p = 0,0035$; T3 - $\chi^2 = 7,8737$; $p = 0,0050$). A análise feita entre os tratamentos demonstrou que não houve diferença significativa na mortalidade (T1 e T2 - $\chi^2 = 0,0245$; $p = 0,8755$; T1 e T3 - $\chi^2 = 0,0111$; $p = 0,9161$; T2 e T3 - $\chi^2 = 0,0111$; $p = 0,9161$). Tal fato demonstra a ação biocida do extrato dessa espécie vegetal sobre a fase jovem do gastrópode testado, mesmo na menor concentração.

No grupo controle dos recém eclodidos foi verificado 30% de mortalidade também 24 horas após (Fig. 1). Isso provavelmente ocorreu devido às variações da temperatura (média das máximas=23,6°C e

média das mínimas=15,3°C) e da umidade (média=70%) registradas neste experimento. SOUTH (1982) também demonstrou tal influência em seu trabalho realizado com *Deroceras reticulatum* (Müller, 1774) e *Arion intermedius* Normand, 1852.

Neste trabalho os indivíduos adultos não morreram, mas ficou evidente a ação repelente do extrato devido ao fato dos animais apresentarem-se ativos em período diurno que, de acordo com JUNQUEIRA et al. (2003), é horário típico de repouso (Fig. 2). Diferenças nos padrões de atividade também foram observadas por AFONSO-NETO (2003), quando verificou que indivíduos de *Leptinaria unilamellata* d'Orbigny, 1835 apresentaram comportamentos de deslocamento horizontal e vertical na presença de extratos de *Euphorbia* spp. Visto que nesta espécie de molusco, o deslocamento vertical é incomum, este comportamento pode ser caracterizado como escape. PANIGRAHI & RAUT (1994), observaram essas mesmas alterações comportamentais em *L. alte*, em presença do extrato de semente de *T. peruviana*.

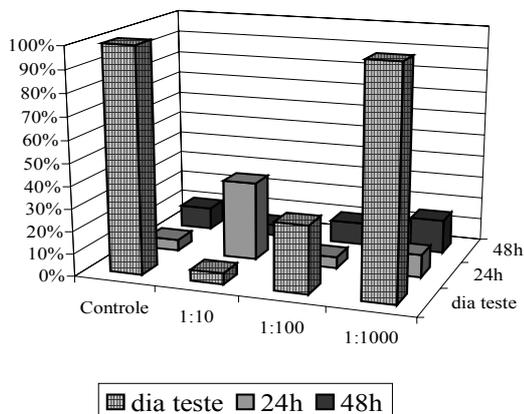


Figura 2. Percentagem de atividade apresentada por adultos de *Bradybaena similaris* submetidos ao extrato de *Allamanda cathartica* nas concentrações de 1:10, 1:100, 1:1000 e água destilada (controle), no dia do teste, 24 e 48h após.

Nos animais adultos o grupo controle exibiu intensa atividade no momento do teste que não se manteve 24 e 48 horas após (Fig. 2), possivelmente devido a reação dos moluscos à água, uma vez que os mesmos são mais ativos em presença de umidade de mais elevada (LEAHY, 1983; COOCK, 1992).

Nas maiores concentrações a percentagem de atividade não ultrapassou 40% em nenhum dos momentos de observação. No entanto a diluição de 1:100

apresentou no primeiro momento de observação 30% de atividade. Na maior diluição (1:1000) a percentagem de atividade foi alta no primeiro momento de observação com grande decréscimo nas 24 e 48 horas subsequentes, observações estas que apontam para um possível efeito repelente sobre os moluscos assim como verificado por AFONSO-NETO (2003).

Os indivíduos adultos, quando imersos no extrato nas maiores concentrações formaram agregações e exteriorizaram a massa cefalopodal, e não foram verificados estes comportamentos nos animais dos respectivos grupos controles. Os animais adultos, 24 horas após a imersão, formaram epifragma (estrutura temporária de fechamento da abertura da concha) que foi mantido até o final do experimento, o que não foi registrado para o controle (Fig. 3).

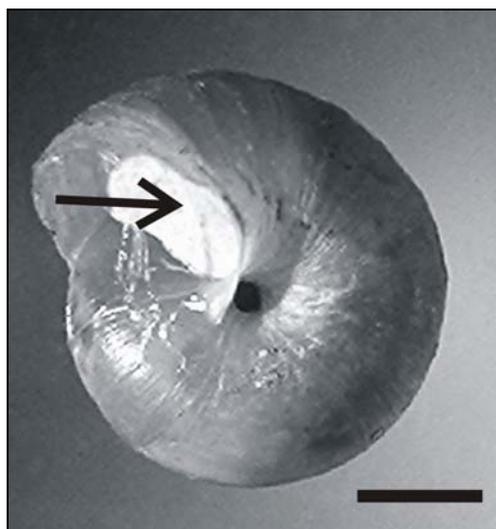


Figura 3: Indivíduo adulto de *Bradybaena similaris* apresentando epifragma (à) (escala=5mm)

As percentagens referentes ao comportamento de escape nos jovens representaram as observações no momento do teste sobre todos os animais, no entanto nos outros momentos de observação as percentagens referem-se somente aos sobreviventes.

No momento do teste o grupo controle permaneceu em repouso, já nas 24 e 48 horas após os sobreviventes apresentaram atividade (20 e 7%, respectivamente). Na concentração de 1:10, os jovens não se apresentaram ativos no momento do teste sendo que os sobreviventes apresentaram 100% de

atividade 24 horas após, com queda para 25% 48 horas após. Tal variação na percentagem de atividade nos três momentos de observação possivelmente decorre da toxidez do extrato (Fig. 4), dados que corroboram os obtidos por AFONSO-NETO (2003).

Na maior diluição os indivíduos se mostraram ativos no momento do teste (15%), 24 e 48 horas após os sobreviventes se mostraram intensamente ativos (72%). Em todos os grupos tratados os sobreviventes nos diferentes momentos de observação excetuando-se na concentração de 1:100 mostraram-se ativos caracterizando possível atividade repelente do extrato nos jovens (Fig. 4).

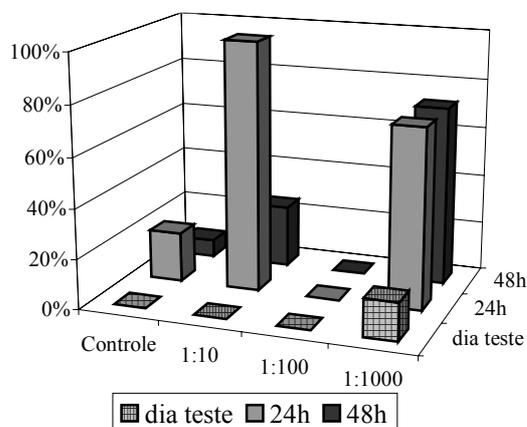


Figura 4. Percentagem de atividade apresentada por jovens de *Bradybaena similaris* submetidos ao extrato de *Allamanda cathartica* nas concentrações de 1:10, 1:100, 1:1000 e água destilada (controle), no dia do teste, 24 e 48h após.

Apesar da eficácia que as substâncias moluscicidas vêm demonstrando, os locais de aplicação são rapidamente recolonizados pelos moluscos. Por esta razão, um estudo mais aprofundado da variação do comportamento desses animais, quando submetidos a extratos vegetais, permite obter maiores informações a respeito das variações na ação desses extratos sobre tais moluscos e em qual estágio do ciclo de vida dos mesmos o extrato pode apresentar-se letal ou apenas irritante.

No presente estudo, o extrato aquoso de *A. cathartica* não foi letal para os animais adultos, porém exibiu efeito irritante. Dessa forma, o extrato demonstrou ação repelente sobre adultos da espécie testada contrapondo-se a ação letal observada para os recém eclodidos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Fábio Prezoto, a Prof. Dra. Juliane F. S. Lopes, a doutoranda Sthefane D'Ávila e ao MSc. Fabiano Matos Vieira por suas colaborações na elaboração deste artigo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFONSO-NETO, I.S. 2003. **Atividade moluscicida e repelente do látex de três espécies de *Euphorbia* (Euphorbiaceae) sobre *Leptinaria unilamellata* d'Orbigny, 1835 (Gastropoda – Subulinidae)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora. 54p.
- ALICATA, J.E. 1940. The life cycle of *Postharmostomum gallinum*, the cecal fluke of poultry. **Journal of Parasitology** 26(2): 135-143.
- ALMEIDA, M.N. & BESSA, E.C. DE A. 2001. Estudo do crescimento e da reprodução de *Bradybaena similaris* (Férussac) (Mollusca, Xanthonychidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** 18(4): 1115-1122.
- AMATO, S.B. & BEZERRA, J.C.B. 1989. Parasitismo natural de *Bradybaena similaris* (Férussac) por *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 84(1): 75-79.
- ANDERSON, J.E.; CHANG, C.J. & MCLAUGHLIN. 1988. Bioactive components of *Allamanda cathartica*. **Journal of Natural Products** 51 (2): 307-308.
- ARAÚJO, J.L.B. 1989. Moluscos de importância econômica no Brasil. I. Xanthonychidae: *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821). (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). **Revista Brasileira de Zoologia** 6(4): 583-592.
- BESSA, E.C. DE A. & ARAÚJO, J.L.B. 1995. Ocorrência de autofecundação em *Subulina octona* (Bruguière) (Pulmonata, Subulinidae) sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** 12(3): 719-723.
- BONFIM, T.C.B.; SOARES, G.L.G.; SALGADO, C.A. & KAPLAM, M.A.C. 2002. Toxidez seletiva do extrato etanólico bruto de *Capsicum baccatum* L. sobre *Biomphalaria glabrata* Say e *Biomphalaria tenagophila* Orbigny. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais** 4(2): 55-59.
- CHANG, C.P. 2002. *Bradybaena similaris* (Férussac) (Bradybaenidae) as a pest on grapevines of Taiwan. pp.241-

244. In: BARKER, G.M.(ed.). **Molluscs as crop pests**. Miaoli, CAB International.
- COOK, A. 1992. The function of trail following in the pulmonate slug *Limax pseudoflavus*. **Animal Behavior** **43**: 813-821.
- DUARTE, M.J.F. 1980. O ciclo evolutivo de *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923, no estado do Rio de Janeiro, Brasil (Trematoda, Brachylaemidae). **Revista Brasileira de Biologia** **40**(4): 793-809.
- GATA-GONÇALVES, L.; NOGUEIRA, J.M.F.; MATOS, O. & SOUSA, R.B. 2003. Photoactive extracts from *Thevetia peruviana* with antifungal properties against *Cladosporium cucumerinum*. **Journal of Photochemistry and Photobiology** **70** (1):51-54.
- JUNQUEIRA, F.O.; D'ÁVILA, S.; BESSA, E.C. DE A. & PREZOTO, F. 2003. Ritmo de Atividade de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821)(Mollusca, Xanthonychidae) de Acordo com a Idade. **Revista de Etologia** **5**(1): 1-6.
- JURBERG, P.; CABRAL NETO, J.B. & SCHALL, V.T. 1985. Molluscicide activity of the "avelós" plant *Euphorbia tirucalli* (L.) on *Biomphalaria glabrata*, the mollusc vector of schistosomiasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **80** (4):423-427.
- JURBERG, P.; VASCONCELOS, M.C. & MENDES, N.M. 1989. Plantas empregadas como moluscicidas: uma visão crítica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **84** (1): 76-83.
- LEAHY, W. 1983. Comportamento e características anatomofuncionais da reprodução em *Bradybaena similaris* (molusco pulmonado). **Ciência e Cultura** **36** (9-8): 1389-1392.
- MENDES, N.M.; VASCONCELOS, M.C.; BAPTISTA, D.F.; ROCHA, R.S. & SCHALL, V.T. 1997. Evaluation of the molluscicidal properties of *Euphorbia splendens* var. *hislopii* (N.E.B.) látex: Experimental test in an endemic área in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **92** (5): 719-724.
- OLIVEIRA, R.B. 2002. **Plantas tóxicas: conhecer para prevenir acidentes**. Monografia de conclusão de curso apresentada à FFCLRP/USP para a obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas. Ribeirão Preto, SP. 135p.
- PANIGRAHI, A. & RAUT, S.K. 1994. *Thevetia peruviana* (Family: Apocynaceae) in the Control os Slug and Snail Pests. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **89** (2): 247-250.
- PINHEIRO, J. & AMATO, B. 1995. Calcium determination in the shell of *Lymnaea columella* (Mollusca, Gastropoda) infected with *Fasciola hepatica* (Platyhelminthes, Digenea). **Arquivos de Biologia e Tecnologia** **38**: 761-767.
- RAMBO, P.R.; AGOSTINI, A.A. & GRAFF-TEIXEIRA, C. 1997. Abdominal Angiostrongylosis in Southern Brazil – Prevalence and Parasitic Burden in Molluscs Intermediate Hosts from Eighteen Endemic Foci. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **92** (1): 9-14.
- SOUZA, H.E. 2003. **Atividade Moluscicida e Fagoinibidora da Cafeína e do Timol Sobre Três Espécies de Moluscos Gastrópodes Terrestres em Condições de Laboratório**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora. 55p.
- SOUTH, A. 1982. A comparison of the life cycles of *Deroceras reticulatum* (Müller) and *Arion intermedius* Normand (Pulmonata: Stylommatophora) at different temperatures under laboratory conditions. **Journal of Molluscan Studies** **48**: 233-244.
- STURROCK, R.F. 1995. Current concepts of snail control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **90** (2): 241-248.
- STURROCK, R.F. 2001. Shistosomiasis epidemiology and control: How did we get here and where we go? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **96** (Supl.): 17-27.

Recebido: 26/06/2005

Revisado: 08/03/2006

Aceito: 03/05/2006