

Universidade Federal de Juiz de Fora  
Pós-Graduação em Ciências Biológicas  
Mestrado em Comportamento e Biologia Animal

Carla Aparecida Azevedo do Nascimento

**INFLUÊNCIA DE *Furcraea foetida* (L.) HAW. SOBRE A SOBREVIVÊNCIA,  
CRESCIMENTO, REPRODUÇÃO E COMPORTAMENTO DE *Subulina octona*  
(BRUGÜIÉRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE)**

Juiz de Fora

2008

Carla Aparecida Azevedo do Nascimento

**INFLUÊNCIA DE *Furcraea foetida* (L.) HAW. SOBRE A SOBREVIVÊNCIA,  
CRESCIMENTO, REPRODUÇÃO E COMPORTAMENTO DE *Subulina octona*  
(BRUGÜIÉRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE)**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Elisabeth Cristina de Almeida Bessa

Co-orientadora: Prof<sup>ª</sup>. MSc. Paula Ferreira dos Santos

Juiz de Fora

2008

Nascimento, Carla Aparecida Azevedo.

Influência de *furcraea foetida* (L.) Haw. sobre a sobrevivência, crescimento, reprodução e comportamento de *subulina octona* (Brugüiere, 1789) (Mollusca, Subulinidae).. -- 2008.  
64 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2008.

1. Gastrópodes. 2. Biologia . I. Título.

CDU 594.38

**INFLUÊNCIA DE *Furcraea foetida* (L.) HAW. SOBRE A SOBREVIVÊNCIA,  
CRESCIMENTO, REPRODUÇÃO E COMPORTAMENTO DE *Subulina octona*  
(BRUGÜIÉRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE)**

**Carla Aparecida Azevedo do Nascimento**

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elisabeth Cristina de Almeida Bessa

Co-orientadora: Prof<sup>a</sup>. MSc. Paula Ferreira dos Santos

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas (Área de Concentração em Comportamento e Biologia Animal).

Aprovada em 21 de fevereiro de 2008.

---

Prof. Dr. Geraldo Luiz Gonçalves Soares  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Sthefane D'Ávila de Oliveira e Paula  
Universidade Federal de Juiz de Fora

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Elisabeth Cristina de Almeida Bessa  
Universidade Federal de Juiz de Fora

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela oportunidade de realizar esse grande sonho.

À Profª Elisabeth Cristina de Almeida Bessa, pela orientação, amizade e oportunidade de desenvolver este trabalho.

À Profª Paula Ferreira dos Santos, pela amizade, incentivo e orientação. Agradeço também, pelas vezes que me tranquilizou, mostrando-me que tudo que conseguimos com muito esforço é mais prazeroso.

À Profª Sthefane D'ávila, pelo apoio e pelas palavras animadoras.

Ao Prof. Geraldo L. G. Soares, pelo auxílio.

Ao Prof. Luiz Menini Neto, pela identificação da planta.

À Profª Elita Scio Fontes e à Ana Carolina R. G. Maia, pela ajuda na análise química da planta.

À Profª Julinane F. S. Lopes, pela amizade e auxílio na análise estatística.

Ao Prof. Erik Daemon, por seu entusiasmo. Seu bom humor alivia os momentos de stress no trabalho.

Ao Prof. Fábio Prezoto, pela amizade, incentivo e respeito.

À Rosângela e a Marlú, pelo carinho, dedicação, atenção e boa vontade. Vocês são pessoas muito especiais.

Às amigas Eloá, Camilla e Aline Dias pela compreensão, companheirismo e anos de convivência.

À minha mãe e ao meu avô José, pelo amor, simplicidade e por tudo que me ensinaram. Vocês são muito importantes na minha vida.

Às minhas amadas irmãs Kátia e Kelly, pela dedicação e apoio.

Ao meu grande amor Geraldo, pelo incentivo e companheirismo. Também agradeço por sempre me apoiar nos momentos bons e ruins de nossa vida. Você é minha fortaleza e um exemplo de vida.

## **SOBRE MOLUSCOS E HOMENS**

Piaget, antes de se dedicar aos estudos da psicologia da aprendizagem, fazia pesquisas sobre os moluscos nos lagos da Suíça. Os moluscos são animais fascinantes. Dotados de corpos moles, seriam petiscos deliciosos para os seres vorazes que habitam as profundezas das águas, e há muito teriam desaparecido se não fossem dotados de uma “inteligência” extraordinária. Sua “inteligência” se revela no artifício que inventaram para não se tornarem comida dos gulosos: constroem conchas duras e lindas (que os protegem da fome dos predadores)!

Ignoro detalhes da biografia de Piaget e não sei o que o levou a abandonar seu interesse pelos moluscos e a se voltar para a psicologia da aprendizagem dos humanos. Não sabendo, tive de imaginar. E foi imaginando que pensei que Piaget não mudou o seu foco de interesse. Continuou interessado nos moluscos. Só que passou a concentrar sua atenção num tipo específico de molusco, chamado “homem”.

Muito nos parecemos com eles: nós, homens, somos animais de corpos moles, indefesos, solto numa natureza cheia de predadores. Comparados com os outros animais, nossos corpos são totalmente inadequados à luta pela vida. Vejam os animais: eles dispõem apenas do seu corpo para viver. E o seu corpo lhes basta. Seus corpos são ferramentas maravilhosas: cavam, voam, correm, orientam-se, disfarçam-se, comem, reproduzem-se.

Nós, se abandonados apenas com o nosso corpo, teríamos vida muito curta. A natureza nos pregou uma peça: deixou-nos, como herança, um corpo mole e inadequado, que, sozinho, não é capaz de resolver os problemas vitais que temos de enfrentar. Mas, como diz o ditado, “é a necessidade que faz o sapo pular”. E digo: é a necessidade que faz o homem pensar.

Da nossa fraqueza surgiu a nossa força, o pensamento. Parece-me, então, que Piaget, provocado pelos moluscos, concluiu que o conhecimento é a concha que construímos a fim de sobreviver.

Rubem Alves

## RESUMO

Os moluscos terrestres constituem um importante grupo de estudo para a parasitologia, pois algumas espécies podem atuar como hospedeiras de helmintos parasitos de animais domésticos e do homem. Além disso, podem trazer prejuízos à economia por serem pragas agrícolas. Uma das alternativas para interromper o ciclo de vida dos helmintos parasitos e reduzir os danos causados a agricultura é a utilização de substâncias moluscicidas. O uso de substâncias moluscicidas de origem vegetal pode representar uma forma segura e eficaz no controle de moluscos. O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da seiva de *Furcraea foetida* (L.) Haw. sobre aspectos biológicos e comportamentais de *Subulina octona* (Bruguière, 1789). Para verificar os efeitos da seiva na sobrevivência, eclodibilidade de filhotes, crescimento e reprodução foram utilizados 360 ovos, 420 jovens de 15 dias e 420 adultos. A seiva de *F. foetida* foi obtida por esmagamento da folha e diluída em água destilada. A aplicação foi realizada com o uso de borrifadores manuais conforme duas metodologias: testes sem substrato e testes com substrato. As concentrações utilizadas foram 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 3% e 5%. No grupo controle branco aplicou-se água destilada e no controle positivo niclosamida a 1%. Os resultados demonstraram que a seiva de *F. foetida* nas concentrações de 1%, 3% e 5% atuou como ovicida em ambas as metodologias testadas. Para os jovens, nos testes sem substrato, a substância foi 100% letal em todas as concentrações. Nos testes com substrato apenas as concentrações de 3% e 5% causaram mortalidade significativa. Com relação ao crescimento não houve diferença expressiva. Nos experimentos realizados com os indivíduos adultos, todas as concentrações foram letais para os testes sem substrato. Em contrapartida, apenas as concentrações de 3% e 5% foram significativas nos testes com substrato. Nenhuma das concentrações utilizadas alterou a ovipostura dos adultos sobreviventes. Para avaliar a influência de *F. foetida* no comportamento foram utilizados 90 animais e as concentrações de 0,5% (T1) e 5% (T2). O grupo controle branco recebeu água destilada. Nas observações comportamentais utilizaram-se os métodos *grupo focal* e *scan* em intervalos regulares de 15 minutos, em uma sessão de 24 horas. No grupo T2 houve alteração no repertório comportamental enquanto que no grupo T1 apenas a frequência de realização do comportamento agregativo e do deslocamento vertical foram significativas em relação ao grupo controle. Este fato ocorreu, provavelmente, em

função da ação repelente da seiva na concentração de 0,5%. Os resultados obtidos na realização dos experimentos demonstraram que *F. foetida* poderá ser promissora no controle de moluscos terrestres, pois, em condições de laboratório, atuou como ovicida e moluscicida para *S. octona*.

Palavras-chave: Gastrópodes. *Subulina octona*. Moluscicida. *Furcraea foetida*.



## ABSTRACT

Terrestrial molluscs constitute an important study group in parasitology, because some species can act as hosts for helminth parasites of domestic animals and humans. Moreover, they are agricultural plagues and can cause economic damages. Alternatively, one can use molluscicide substances to interrupt the life cycles of parasitic helminths and reduce damage to agriculture. The use of molluscicide substances of vegetal origin can represent a safe and effective method for controlling molluscs. The aim of this study was to evaluate the influence of the sap of *Furcraea foetida* (L.) Haw. on the biological and behavioral aspects of *Subulina octona* (Bruguière, 1789). To verify its effects on survival, calves eclodibility, growing and reproduction, 360 eggs, 420 fifteen days old (young) individuals and 420 adults were used. The sap was obtained by crushing the leaves and diluting with distilling water. Application was done using hand sprayers, according to two methodologies: experiments with or without substrate. The used concentrations were 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 3% and 5%. In the white control group it was sprayed distilled water, and 1% niclosamide was sprayed in the positive control. Results showed that 1%, 3% and 5% *F. foetida* sap acted as eggicides, on both types of experiment conducted here. For the young individuals, the substance proved to be 100% lethal in all concentrations, when tested without substrate. When using substrate, only 3% and 5% concentrations caused significant mortality. No expressive differences were observed on growth rates. When using adult individuals in substrate experiments, all concentrations proved to be lethal. However, when using no substrate, only the 3% and 5% concentrations were significative. The sap did not alter the egg production of surviving adults. To evaluate the influence of the *F. foetida* on behavior, 90 animals and 0,5% (T1) and 5% (T2) concentrations were used; white control group received distilled water. For the behavioral observations, the *focal group* and *scan* (15-minute intervals) sampling methods were used, in 24 hour session. T2 group showed alteration in its behavioral repertoire, while only aggregative behavior and vertical movement frequencies showed significative alterations, when compared with the control group. This probably occurred due to the repellent function of the sap in the 0,5% concentration. The results obtained in the realization of experiments demonstrated that *F. foetida* can be promising in terrestrial molluscs control, because, in laboratory conditions, actuated as eggcide and molluscicide for *S. octona*.

Keywords: Gastropods. *Subulina octona*. Molluscicide. *Furcraea foetida*.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Esquema 1	Estrutura química da saponina esteroídica Furcreastatina isolada de <i>Furcraea foetida</i> .....	21
Fotografia 1	Indivíduos adultos da espécie <i>Subulina octona</i> .....	17
Fotografia 2	A - <i>Furcraea foetida</i> coletada em Matias Barbosa, Minas Gerais; B – Planta-mãe morta (A seta indica os bulbilhos).....	21
Fotografia 3	Terrários de manutenção de <i>Subulina octona</i> .....	24
Fotografia 4	<i>Furcraea foetida</i> coletada em Matias Barbosa, Minas Gerais.....	25
Fotografia 5	Seiva de <i>Furcraea foetida</i> obtida através da compressão da folha.....	25
Fotografia 6	Testes sem substrato. A- Ovos; B- Jovens de 15 dias; C- Adultos.....	26
Fotografia 7	Testes com substrato. A- Ovos; B- Jovens de 15 dias; C- Adultos.....	26
Fotografia 8	Indivíduo adulto da espécie <i>Subulina octona</i> . (A seta indica os ovos presentes no útero).....	28
Fotografia 9	Indivíduo adulto de <i>Subulina octona</i> . (A seta indica os ovos presentes no interior do útero).....	46
Fotografia 10	<i>Furcraea foetida</i> coletada no Município de Matias Barbosa, Minas Gerais.....	46
Fotografia 11	Seiva de <i>Furcraea foetida</i> obtida através da compressão da folha.....	47
Fotografia 12	Indivíduos mortos de <i>Subulina octona</i> submetidos à aspensão da seiva de <i>Furcraea foetida</i> na concentração de 5%.....	53
Fotografia 13	Atos comportamentais de <i>Subulina octona</i> , observados para o grupo controle e T1 (A-Deslocamento horizontal; B – Interação entre indivíduos).....	54
Fotografia 14	Comportamento agregativo em <i>Subulina octona</i> .....	54

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Eclosão média de filhotes de <i>Subulina octona</i> provenientes de ovos tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes sem substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskall-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).....	30
Gráfico 2	Eclosão média de filhotes de <i>Subulina octona</i> provenientes de ovos tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskall-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).....	31
Gráfico 3	Temperaturas mínimas e máximas (°C) registradas durante 20 dias.....	32
Gráfico 4	Umidade relativa do ar (%) registrada durante 20 dias.....	33
Gráfico 5	Percentual de mortalidade de jovens de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes sem substrato) nas concentrações de 0,1%,0,25%, 0,5%, 1%, 3% e 5%.....	35
Gráfico 6	Percentual de mortalidade de jovens de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskall-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).....	35
Gráfico 7	Médias quinzenais do comprimento da concha de <i>Subulina octona</i> tratada com <i>Furcraea foetida</i> , durante 90 dias de observação pós tratamento.....	37
Gráfico 8	Temperatura máxima e mínima (°C) registrada durante 90 dias.....	38
Gráfico 9	Umidade relativa do ar (%) registrada durante 90 dias.....	38
Gráfico 10	Percentual de mortalidade de adultos de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes sem substrato) nas concentrações de 0,1%,0,25%, 0,5%, 1%, 3% e 5%.....	39

Gráfico 11	Percentual de mortalidade de adultos de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskall-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).....	40
Gráfico 12	Ovipostura média de indivíduos adultos de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%. No controle branco foi usada água destilada e no controle positivo, niclosamida a 1%.....	42
Gráfico 13	Eclosão média de filhotes de <i>Subulina octona</i> provenientes de adultos tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%.....	43
Gráfico 14	Média de atividade e repouso exibidos por <i>Subulina octona</i> no momento da aplicação da seiva (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de <i>Furcraea foetida</i> nas concentrações de 0,5 e 5%, respectivamente).....	50
Gráfico 15	Horário de atividade de indivíduos da espécie <i>Subulina octona</i> , observados durante uma sessão de 24 horas, quando submetidos à aspersão de água destilada (controle) e a seiva de <i>Furcraea foetida</i> nas concentrações de 0,5% (T1) e 5% (T2).....	51
Gráfico 16	Média de atividade exibida por indivíduos adultos de <i>Subulina octona</i> no período de 24 horas de observação do comportamento (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de <i>Furcraea foetida</i> nas concentrações de 0,5 e 5%, respectivamente) (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskall-Wallis).....	52
Gráfico 17	Média da frequência de realização dos atos comportamentais exibidos por indivíduos da espécie <i>Subulina octona</i> numa sessão de 24 horas de observação do comportamento. (EXP –Explorar; DV-Deslocamento vertical; DH – Deslocamento horizontal; INT – interação, ENT – enterrar, CA – comportamento agregativo) (* - indica diferença significativa em relação ao grupo controle de acordo com o teste de Mann-Whitney).....	55

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Percentual de eclosão de filhotes de <i>Subulina octona</i> provenientes de ovos tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes sem substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.....	30
Tabela 2	Percentual de eclosão de filhotes de <i>Subulina octona</i> provenientes de ovos tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.....	31
Tabela 3	Percentual de mortalidade de jovens de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.....	36
Tabela 4	Percentual de mortalidade de adultos de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.....	40
Tabela 5	Total de ovos postos por indivíduos adultos de <i>Subulina octona</i> tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%.....	41
Tabela 6	Percentual de eclosão de filhotes de <i>Subulina octona</i> provenientes de adultos tratados com <i>Furcraea foetida</i> (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%.....	42
Tabela 7	Percentual de atividade exibida por indivíduos adultos de <i>Subulina octona</i> no momento da aplicação da seiva (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de <i>Furcraea foetida</i> nas concentrações de 0,5 e 5%, respectivamente).....	49
Tabela 8	Percentual de atividade exibida por indivíduos adultos de <i>Subulina octona</i> no período de 24 horas de observação do comportamento (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de <i>Furcraea foetida</i> nas concentrações de 0,5 e 5%).....	51

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	<i>Subulina octona</i> (Brugüiere, 1789) (Subulinidae).....	16
2.2	Substâncias moluscidas .....	17
2.3	Saponinas.....	19
2.4	<i>Furcraea foetida</i> (L.) Haw. (Agavaceae).....	20
3	ATIVIDADE DE <i>Furcraea foetida</i> (L.) HAW. SOBRE A SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DE <i>Subulina octona</i> (BRUGUIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE).....	22
3.1	Material e Métodos .....	23
3.1.1	<b>Local dos experimentos</b> .....	23
3.1.2	<b>Obtenção e manutenção dos moluscos</b> .....	23
3.1.3	<b>Obtenção e aplicação da seiva</b> .....	24
3.1.4	<b>Análise química da planta</b> .....	27
3.1.5	<b>Experimentos</b> .....	27
3.1.6	<b>Análise estatística</b> .....	29
3.2	Resultados e Discussão .....	29
4	INFLUÊNCIA DE <i>Furcraea foetida</i> (L.) HAW. NO COMPORTAMENTO DE <i>Subulina octona</i> (BRUGUIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE).....	44
4.1	Material e Métodos.....	45
4.1.1	<b>Local dos experimentos</b> .....	45
4.1.2	<b>Obtenção e manutenção dos moluscos</b> .....	45
4.1.3	<b>Obtenção e aplicação da seiva</b> .....	46
4.1.4	<b>Análise química da planta</b> .....	47
4.1.5	<b>Verificação dos efeitos da seiva</b> .....	48
4.1.6	<b>Análise estatística</b> .....	48
4.2	Resultados e Discussão .....	48
5	CONCLUSÃO.....	57
	REFERÊNCIAS.....	58

## 1 INTRODUÇÃO

Algumas espécies de gastrópodes terrestres são descritas na literatura como pragas agrícolas devido ao seu hábito alimentar herbívoro e grande capacidade reprodutiva (ALFONSO et al. 2000; PANIGRAHI; RAUT, 1993; RAUT; PANIGRAHI, 1990; SMITH; RODDICK; JONES, 2001). Em altas densidades populacionais podem trazer prejuízos à agricultura e ao bem estar animal e humano. Portanto, o conhecimento da biologia, comportamento e ecologia desses moluscos é fundamental para a eficácia das medidas de controle (STURROCK, 1995).

Dentre os moluscos pulmonados terrestres pode-se citar *Subulina octona* (Brugüière, 1789) que é amplamente distribuída no Brasil e no continente Americano (ARAÚJO, 1982). Esse gastrópode é de relevante importância na parasitologia, por participar do ciclo de vida de helmintos parasitos do homem e de animais domésticos (ALICATA, 1940; ASH, 1962; BESSA et al. 2000; MALDONADO, 1945). Somado a isso, *S. octona*, por ser uma espécie facilmente criada em laboratório, tem sido utilizada como modelo biológico em estudos sobre o ciclo de vida de helmintos, biologia, comportamento, resistência à dessecação e estudos sobre a ação moluscicida de extratos vegetais (ALICATA, 1940; BESSA et al. 2000; D'ÁVILA et al. 2004; PAULA, 2003; SANTOS, 2005).

Controlar a população de moluscos que atuam como pragas agrícolas e/ou hospedeiros de helmintos pode ser uma alternativa viável para reduzir os prejuízos causados na economia e interromper o ciclo de vida dos parasitos. A forma mais usual de controle é a utilização de substâncias moluscicidas (JURBERG; VASCONCELOS; MENDES, 1989; PANIGRAHI; RAUT, 1994).

Os moluscicidas sintéticos que atualmente são utilizados apresentam desvantagens, pois alteram a estrutura do ambiente destruindo a flora e fauna local. Diante disso, a preocupação com a preservação ambiental e o custo elevado dos moluscicidas sintéticos tem sido motivos de pesquisas por substâncias de origem vegetal que sejam eficazes, de custo reduzido e que não apresentem efeitos danosos para o ambiente (JURBERG; VASCONCELOS; MENDES, 1989; SINGH; SINGH, 1998; SOUZA; ROUQUARYOL, 1974).

No entanto, existem poucos estudos na literatura sobre o controle de moluscos terrestres com a utilização de substâncias de origem vegetal. Para que o uso de produtos com atividade moluscicida seja eficaz é imprescindível conhecer aspectos etológicos dos

moluscos, pois estes apresentam comportamentos com função protetora que podem contribuir para sobrevivência dos animais quando expostos aos moluscidas (D'ÁVILA et al. 2004; PIERI; JURBERG, 1981).

Representantes da família Agavaceae são caracterizados pela presença de saponinas esteroídicas. Algumas espécies já foram referenciadas na literatura por seus efeitos larvicida, carrapaticida e moluscicida (CONSOLI et al. 1988; FERRER; DIAZ, 1994; GARCEZ; LOPEZ, 1986; PIZARRO, 1998). *Furcraea foetida* (L.) Haw. é uma espécie nativa, conhecida como pita ou piteira. É comumente encontrada em beiras de estradas e dunas litorâneas (SOUZA e LORENZI, 2005). Possuem saponinas (ITABASHI et al. 2000), substâncias com comprovada atividade moluscicida (FERRER; DIAZ, 1994; GARCEZ; LOPEZ, 1986).

Diante das informações apresentadas, objetivou-se com este estudo avaliar a ação da seiva de *F. foetida* sobre a sobrevivência, crescimento, reprodução e eclodibilidade de filhotes de *S. octona*, bem como descrever as respostas comportamentais dos moluscos causadas pelo tratamento com esta substância.



## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 *Subulina octona* (Brugüière, 1789) (Subulinidae)

*Subulina octona* (Brugüière, 1789) é um molusco pulmonado com ampla distribuição geográfica, ocorrendo no Brasil e em quase todo o continente Americano. Sua ocorrência é mais freqüente nos meses chuvosos e quentes (ARAÚJO, 1982). Esse gastrópode tem importância médico-veterinária por participar no ciclo evolutivo de helmintos (Fotografia 1).

Atua como hospedeiro intermediário de *Phostarmostomum gallinum* Witenberg, 1923 e *Tanaisia (Paratanaisia) bragai* (Santos, 1934) que são parasitos de aves (ALICATA, 1940; MALDONADO, 1945) e é hospedeiro potencial de parasitos do gato doméstico, tais como *Platynosomum fastosum* Kossak, 1910 e *Aelurostrongylus abstrusus* Railliet, 1898 (ALICATA, 1964; ASH, 1962; MALDONADO, 1945).

Andersen et al. (1986) apontaram a ocorrência de *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) pela primeira vez em Porto Rico, sendo *S. octona* o segundo hospedeiro intermediário, apresentando-se naturalmente infectada por larvas de terceiro estágio. Bessa et al. (2000) estudaram o desenvolvimento biológico de *A. vasorum* em laboratório (Baillet, 1866) Kamensky, 1905 utilizando *S. octona* como hospedeiro intermediário. Avaliaram também o grau de infectividade das larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* provenientes de *S. octona*, em cão, hospedeiro definitivo do helminto e obtiveram os parasitos adultos.

As características reprodutivas de *S. octona* foram estudadas por Bessa e Araújo (1995 a, b). Esses autores verificaram que a maturidade sexual ocorre entre o 38° e 50° dia de vida e que a autofecundação é comum nessa espécie. Além disso, observaram que o período de eclosão dos filhotes ocorre entre o 1° e o 15° dia após a postura. D'ávila e Bessa (2005 a, b) verificaram que, em condições experimentais, o tipo de substrato (areia, terra vegetal e argila) influencia na reprodução de *S. octona*.

Bessa e Araújo (1995 a, b) verificaram que esse molusco tem atividade noturna. Tal resultado é corroborado por Paula (2003) que também assinalou o hábito noturno da espécie, verificando que *S. octona* segue um padrão comportamental. Além disso, descreveu o etograma básico para esta espécie.

O comportamento agregativo em *S. octona*, foi estudado por D'ávila; Dias e Bessa (2006). Esses autores sugerem que a distribuição agregada da espécie pode ser uma estratégia para a resistência a dessecação ou para o encontro de parceiros sexuais.



Fotografia 1: Indivíduos adultos da espécie *Subulina octona*  
 Fonte: Do autor

## 2.2 Substâncias moluscidas

Os primeiros registros das substâncias moluscidas datam de 1911-1915 com a utilização de produtos inespecíficos como a cal, cianeto de cálcio, sulfato de cobre e fosfato de cálcio (DUNCAN, 1974). No início da década de 70 foram pesquisados em torno de 7000 produtos químicos (RITCHIE, 1973). A niclosamida conhecida comercialmente como Baylucide® se destacou como eficiente moluscida. Porém, o uso dessa substância tem como barreiras técnicas o efeito residual longo, impacto ambiental elevado e alto custo de produção e comercialização. Por essa razão, o uso de substâncias de origem vegetal tem sido motivo de intensas pesquisas nos últimos anos, pois seus efeitos sobre o ambiente contrapõem-se aos da niclosamida (BONFIM et al. 2002; JURBERG; VASCONCELOS; MENDES, 1989).

Os primeiros estudos com substâncias moluscidas de origem vegetal foram realizados no Sudão por Archibald (1933 apud BONFIM et al. 2002) e Wagner (1936 apud BONFIM et al. 2002) que utilizaram frutos de *Balanites egyptiaca* (Zygophyllaceae) que matava moluscos do gênero *Planorbis*. No Brasil os primeiros relatos são de Pinto e Almeida (1944) que verificaram a ação moluscida de *Serjania* sp.(Sapindaceae), conhecida como cipó-uva, em moluscos do gênero *Biomphalaria*. Amorim e Pessoa (1962) pesquisaram o efeito moluscida de extratos de algumas espécies vegetais da flora do Nordeste brasileiro, das quais se destacou *Paullinia pinnata* (Sapindaceae).

A maioria dos estudos de produtos naturais se restringe a espécies de moluscos do gênero *Biomphalaria*, hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907), devido à esquistossomose ser uma parasitose humana de grande impacto na saúde pública (BONFIM et al. 2002; PEREIRA; SOUZA, 1974). A organização mundial da saúde recomenda como uma das medidas profiláticas à esquistossomose, o uso de substâncias moluscidas no controle dos moluscos hospedeiros, uma vez que, dessa forma, a transmissão pode ser interrompida eficientemente (SOUZA et al. 1987).

Pereira e Souza (1974) avaliaram o extrato hexânico da casca da castanha de caju como moluscida, utilizando *Biomphalaria glabrata* Say, 1818. Verificaram que este extrato poderá ser empregado para combater a esquistossomose, pois é tóxico para desovas, recém-eclodidos e adultos do caramujo testado, além de ser tóxico para cercárias de *S. mansoni*. A ação tóxica de 118 plantas em *B. straminea* (Dunker, 1848) e *B. glabrata* foi pesquisada por Souza e Rouquayrol (1974). Pieri e Jurberg (1981) evidenciaram como os aspectos etológicos influenciam na sobrevivência dos caramujos hospedeiros da esquistossomose ao tratamento com moluscidas, demonstrando a importância de se conhecer os comportamentos exibidos pela espécie estudada.

Mendes et al. (1986) citaram a atividade moluscida de alguns produtos naturais sobre *B. glabrata*, evidenciando que dos extratos testados o mais ativo foi o extrato etanólico das flores de *Delonix regia* Raf. (Cesalpiniaceae). O extrato butanólico de *Phytolacca dodecandra* (Endod) foi testado por Souza et al. (1987) e teve ação letal para jovens, recém-eclodidos e desovas de *B. glabrata*. Almeida et al. (1987) avaliaram a atividade moluscida de 32 plantas do nordeste brasileiro demonstrando que entre as plantas ativas, as que exibiram maior ação moluscida foram *Astronium urundeuva* Engl.(Anacardiaceae), *Agonandra brasiliensis* Miers. (Opiliaceae) e *Croton mucrofolius* Mull. Arg. (Euphorbiaceae).

Existem poucos estudos referentes ao controle de moluscos terrestres, com o uso de substâncias moluscidas de origem vegetal. Panigrahi e Raut (1994) citam o extrato das sementes de *Thevetia peruviana* (Pers.) Shumann (Apocynaceae) como ativo em jovens da lesma *Laevicaulis alte* Férussac, 1821 e *Achatina fulica* Bowdich, 1822. Afonso-Neto (2003) avaliou a atividade moluscida do látex de três plantas da família Euphorbiaceae, *Euphorbia cotinifolia* L., *Euphorbia milii* des Moul. Var. *splendens* (Bojer e Hook) Ursh & Leandri e *Euphorbia tirucalli* L., sobre o gastrópode *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835). Verificou que o látex de *E. milii* nas diluições de 1:10 e 1:100 causou 100% de mortalidade nos moluscos testados e que as três plantas apresentaram baixa atividade repelente. A autora

também relatou que *E. cotinifolia* estimulou o deslocamento vertical, um comportamento pouco freqüente em *L. unilamellata*.

A atividade moluscicida e fagoïnibidora da cafeína e do timol sobre três espécies de moluscos terrestres foi estudada por Souza (2003). Tal autora verificou que a cafeína a 3g/L atuou como substância moluscicida para *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 e mostrou-se extremamente tóxica nas concentrações de 1,0 a 0,3 g/L para *L. unilamellata*. O timol a 0,9 g/L causou 90% de morte em *B. similaris* e 100%, 90% e 93% em *L. unilamellata* nas concentrações de 1,0; 0,9 e 0,8 g/l respectivamente. Santos (2005) estudou a influência da cafeína e do timol sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de três espécies de moluscos terrestres. Observou que o timol teve ação ovicida em *B. similaris* e *S. octona*, além de atuar como moluscicida em jovens de 10 e 30 dias de *B. similaris* a 2,5g/l e 5g/l. Também teve efeito moluscicida em recém nascidos e jovens de *L. unilamellata* à 5g/l. A cafeína causou mortalidade apenas em recém nascidos de *L. unilamellata* na concentração de 5g/l. Outro estudo relacionado com o controle de moluscos terrestres foi o realizado por Nascimento et al. (2006). Esses autores elucidaram que o extrato aquoso das folhas de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) é repelente para adultos de *B. similaris* contrapondo-se a ação letal para jovens. Também observaram que os indivíduos adultos, ao final do experimento, apresentaram epifragma, estrutura que oblitera temporariamente a concha e protege os moluscos da dessecação.

### 2.3 Saponinas

As saponinas são glicosídeos esteroídicos ou triterpênicos encontrados em um grande número de plantas que são importantes na nutrição humana e animal (FRANCIS et al. 2002). Estas substâncias em solução aquosa formam uma espuma persistente, daí o nome saponina derivado do latim *sapone* que significa sabão (SCHENKEL et al. 2004).

A estrutura química das saponinas é formada por uma parte lipofílica denominada aglicona ou sapogenina e por uma parte hidrofílica que pode ser formada por um ou mais açúcares. Se a saponina possuir uma cadeia de açúcar é denominada monodesmosídica e se for constituída por duas cadeias de açúcares é denominada bidesmosídica (FRANCIS et al. 2002; SCHENKEL et al. 2004).

Usualmente as saponinas bidesmosídicas não apresentam as propriedades biológicas relatadas para as saponinas monodesmosídicas. Abdel-Gawad; El-Sayed e Abdel-Hameed

(1999) em um estudo para avaliar a atividade moluscicida de *Agave decipiens* Baker, isolaram as saponinas dessa planta e verificaram que as monodesmosídicas tiveram forte efeito moluscida em *B. alexandria* (Ehrenberg), enquanto que as bidesmosídicas foram inativas. Santiago et al. (2005) avaliaram a atividade larvicida de saponinas triterpênicas e concluíram que das saponinas testadas as monodesmosídicas tiveram maior potencial larvicida.

As saponinas esteroídicas são encontradas principalmente nas famílias Liliaceae, Dioscoreaceae e Agavaceae (SCHENKEL et al. 2004). Vários estudos têm demonstrado as propriedades biológicas de espécies da família Agavaceae que são atribuídas as saponinas. Dentre essas propriedades pode-se citar efeito larvicida, carrapaticida e moluscicida (BACKENBURY; APPLETON, 1997; CONSOLI et al. 1988; FERRER; DIAZ, 1994; GARCES; LOPEZ, 1996; PIZARRO, 1998; PIZARRO et al. 1999).

#### **2.4 *Furcraea foetida* (L.) Haw. (Agavaceae)**

A família Agavaceae possui distribuição pantropical, especialmente em regiões áridas. No Brasil ocorrem quatro gêneros e cerca de 20 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). Algumas espécies dessa família têm atividade larvicida e carrapaticida. Consoli et al. (1988) verificaram que o extrato aquoso de *Agave americana* L. casou 100% de mortalidade em larvas de *Anopheles fluviatilis* na concentração de 100ppm. De acordo com Pizarro et al. (1999), *A. sisalana* Perr. atuou como larvicida em *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) e *Culex quinquefasciatus* (Say, 1823). A atividade carrapaticida de *A. americana* sobre o carrapato bovino *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) foi descrita por Pizarro (1998).

Diferentes espécies da família Agavaceae têm demonstrado atividade moluscicida. Ferrer e Diaz (1994) constataram que *Agave legrelliana* Trelease, *A. fourcroydes* (Lem.) e *A. franzosinii* Backer, atuaram como moluscicida em *Biomphalaria havanensis* (Pfeiffer, 1839). Garces e Lopez (1996) utilizaram extratos aquosos das espécies *A. legrelliana*, *A. fourcroydes* e *A. franzosinii* e observaram que a presença do extrato influenciou na atividade cardíaca e afetou o desenvolvimento embrionário de *B. havanensis*. Backenbury e Appleton (1997) verificaram a atividade moluscicida de *A. attenuata* Salm em *Bulinus africanus* (Krauss, 1848) hospedeiro intermediário do *Schistosoma haematobium*.

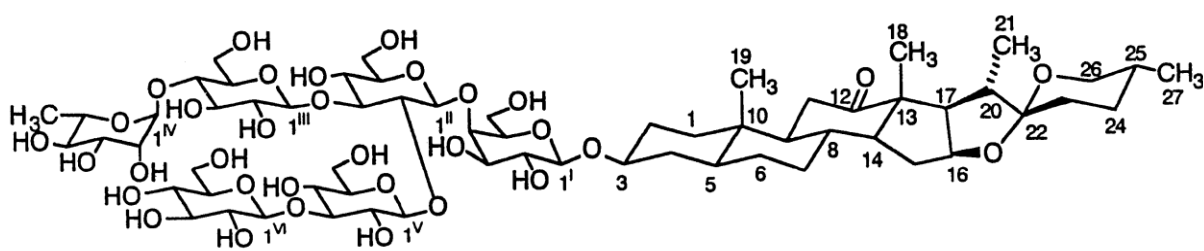
O gênero *Furcraea* pertence à família Agavaceae e se encontra naturalmente desde o Sul do México até o Brasil. Também é encontrado na região andina da Colômbia e Venezuela. Algumas espécies são cultivadas como plantas ornamentais em todo mundo e também para a obtenção de fibras (CASIERRA-POSADA; PÉREZ ; PORTILLA, 2006).

*Furcraea foetida* (Fotografia 2A) é uma espécie nativa comum nas beiras de estradas e nas dunas litorâneas. É muito semelhante às espécies do gênero *Agave*. Apresentam inflorescência ampla e quando termina o processo de floração são produzidos pequenos bulbilhos em suas extremidades, com alto poder de propagação (Fotografia 2B). Após a floração a planta-mãe morre, pois toda a sua energia é convertida na produção de frutos e bulbilhos (SOUZA; LORENZI, 2005). Essa espécie possui saponinas esteroídicas (furcreastatina) (Esquema 1) que tem atividade citotóxica seletiva (ITABASHI et al. 2000).



Fotografia 2: A - *Furcraea foetida* coletada em Matias Barbosa, Minas Gerais; B – Planta-mãe morta (A seta indica os bulbilhos).

Fonte: Do autor



Esquema 1: Estrutura química da saponina esteroídica Furcreastatina isolada de *Furcraea foetida*  
Fonte: ITABASHI et al. (2000 p. 58).

### **3 ATIVIDADE DE *Furcraea foetida* (L.) HAW. SOBRE A SOBREVIVÊNCIA, CRESCIMENTO E REPRODUÇÃO DE *Subulina octona* (BRUGUIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE).**

A maioria dos estudos relacionados ao controle de moluscos tem como alvo principal caramujos do gênero *Biomphalaria* por serem hospedeiros do *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) (BONFIM et al. 2002; MENDES, et al. 1986; MENDES, et al., 1999; SOUZA; ROUQUAYROL, 1974; SOUZA, et al. 1984). As pesquisas que envolvem o controle de gastrópodes terrestres são recentes e também muito importantes, pois muitas espécies desses moluscos são pragas de culturas vegetais e hospedeiras de helmintos de interesse médico-veterinário (AFONSO-NETO, 2003; NASCIMENTO et al. 2006; PANIGRAHI; RAUT, 1994; SANTOS, 2005).

Dentre as espécies de gastrópodes terrestres pode-se citar *Subulina octona* (Brugüière, 1789), que tem ampla distribuição no Brasil e em praticamente todo continente Americano (ARAÚJO, 1982). Atua como hospedeiro de helmintos que podem parasitar aves, gatos, cães e o homem (ALICATA, 1940; ALICATA, 1964; ANDERSEN et al. 1986; ASH, 1962; BESSA et al. 2000; MALDONADO, 1945). Além disso, esta espécie tem sido utilizada como modelo biológico em estudos de laboratório que englobam o ciclo de vida de helmintos, a biologia e também estudos sobre a atividade moluscicida de extratos vegetais (ALICATA, 1940; BESSA et al. 2000; PAULA, 2003; SANTOS, 2005). Vale ressaltar que esses moluscos são facilmente criados em laboratório, sendo obtidos em quantidade satisfatória para a realização de bioensaios.

A utilização de substâncias moluscicidas é comumente aplicada para controlar as populações de moluscos (JURBERG et al.1989; MENDES et al.1999). Os produtos com atividade moluscicida são conhecidos desde o início do século passado, porém as substâncias empregadas não eram utilizadas com a finalidade de controle (DUNCAN, 1974). Durante a 2ª Guerra Mundial muitos soldados americanos contraíram a esquistossomose, esse fato contribuiu para o incentivo às pesquisas por substâncias moluscicidas. Mais de 7000 produtos foram pesquisados, dentre estes a Niclosamida (Baylucide®) se destacou como um moluscicida eficaz (RITCHIE, 1973)

Os moluscicidas sintéticos, além do alto custo de produção e comercialização, têm biodegradabilidade lenta e são tóxicos para o ambiente. Dessa forma, a utilização de substâncias de origem vegetal com atividade moluscicida é essencial, pois são biodegradáveis,

e menos tóxicas para o ambiente (BONFIM et al. 2002; JURBERG; VASCONCELOS; MENDES, 1989).

Na família Agavaceae algumas espécies já foram citadas na literatura por sua atividade moluscicida (BACKENBURY e APPLETON, 1997; FERRER e DIAZ, 1994). *Furcraea foetida* (L.) Haw. é uma planta nativa e promissora no controle de moluscos porque sua seiva é de fácil extração e possui saponinas esteroídicas. Essas substâncias têm um número variado de propriedades biológicas, destacando-se a ação sobre as membranas celulares que está diretamente relacionada com sua atividade moluscicida (SCHENKEL et al. 2004).

Levando em consideração as propriedades biológicas das saponinas esteroídicas, a fácil extração e aplicação da seiva de *F. foetida* e que os trabalhos relacionados ao controle de moluscos terrestres são escassos na literatura, o presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da seiva de *F. foetida* na sobrevivência, eclodibilidade, crescimento e produção de ovos em *S. octona*.

### **3.1 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1.1 Local dos experimentos**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia de Moluscos e Helmintos do curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas/Comportamento e Biologia Animal e no Laboratório Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora – Juiz de Fora, Minas Gerais.

#### **3.1.2 Obtenção e manutenção dos moluscos**

A partir da criação matriz do Laboratório de Biologia de Moluscos e Helmintos foram feitas novas matrizes que serviram como fonte de obtenção de todos os ovos, jovens e adultos.

A manutenção e manejo dos animais foram realizados de acordo com Bessa e Araújo (1995 a, b) Os moluscos foram mantidos em terrários com 9 cm de diâmetro e 6 cm de profundidade, contendo terra vegetal previamente esterilizada (120°C/1h) e fechados com tecido de algodão escelino. (Fotografia 3). A alimentação foi constituída de ração para aves de corte (composição básica: proteína bruta 22%, extrato etéreo 2,6%, matéria fibrosa 6,5%, matéria mineral 9,0%, cálcio 1,5%, fósforo 0,5%) enriquecida com carbonato de cálcio na proporção de 3:1.





Fotografia 3: Terrários de manutenção de *Subulina octona*  
Fonte: Do autor

Para a realização dos experimentos utilizaram-se 360 ovos, 420 jovens de 15 dias e 420 adultos. Os valores de temperatura (máxima e mínima) e umidade relativa do ar foram anotados. Para isso foi utilizado um termohigrômetro digital (INCONTERM®).

### 3.1.3 Obtenção e aplicação da seiva

As folhas de *Furcraea foetida* foram coletadas nas proximidades da Fazenda Paciência, em beira de estrada, no município de Matias Barbosa (21°52'08''S e 43°19'08''O), Minas Gerais (Fotografia 4). A planta foi identificada e depositada no herbário Padre Leopoldo Krieger com o registro CESJ 49.478.

A seiva foi obtida por esmagamento da folha por compressão e diluída em água destilada conforme a concentração desejada (Fotografia 5).



Fotografia 4: *Furcraea foetida* coletada em Matias Barbosa, Minas Gerais.  
Fonte: Do autor



Fotografia 5 : Seiva de *Furcraea foetida* obtida através da compressão da folha.  
Fonte: Do autor

A aplicação da seiva foi realizada com a utilização de borrifadores manuais de polietileno. Os moluscos foram submetidos a jejum por 24 h. e as soluções borrifadas conforme duas metodologias: aspersão direta nos moluscos - os animais ficavam em contato direto com a seiva num período de 24h e aspersão sobre os moluscos no terrário (contendo terra vegetal previamente esterilizada) – os animais ficavam em contato com a seiva no terrário por 24 h (Fotografia 6 e Fotografia 7). Em ambas as metodologias, com exceção dos ovos, após as 24 h os moluscos foram transferidos para novos terrários.

Todos os experimentos desenvolvidos foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora sob o protocolo nº 49/2003-CEA.



Fotografia 6: Testes sem substrato. A- Ovos; B- Jovens de 15 dias; C- Adultos.  
Fonte: Do autor



Fotografia 7: Testes com substrato. A- Ovos; B- Jovens de 15 dias; C- Adultos  
Fonte: Do autor

### 3.1.4 Análise química da planta

A análise química do sumo da planta foi realizada no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora. Para isso utilizou-se a marcha fitoquímica proposta por Matos (1998).

### 3.1.5 Experimentos

- Experimento I: Influência de *Furcraea foetida* na eclodibilidade de filhotes de *Subulina octona*

Para a realização deste experimento foram utilizados 360 ovos. Destes, 180 foram destinados aos testes sem substrato e o restante aos testes com substrato.

No primeiro borrifou-se 2ml da seiva sobre os ovos nas concentrações de 5%, 3%, 1% e 0,5%. Os ovos ficaram 24h em contato com as soluções supracitadas e posteriormente foram transferidos para terrários.

No segundo, foi borrifado 5ml da seiva nas mesmas concentrações, sobre os ovos que estavam depositados no substrato. Não houve troca de terrário. O controle branco recebeu água destilada e o controle positivo niclosamida a 1%. Cada grupo foi composto por cinco ovos com seis repetições, totalizando 30 ovos por tratamento.

Todos os ovos foram observados por 20 dias para verificar a eclosão dos filhotes. Durante este período os valores de temperatura (máxima e mínima) e umidade relativa do ar foram anotados diariamente.

- Experimento II: Influência de *Furcraea foetida* na sobrevivência, crescimento e reprodução de jovens de 15 dias de *Subulina octona*

Neste experimento foram utilizados 240 jovens de 15 dias nos testes sem substrato e 180 nos testes com substrato. As concentrações usadas no primeiro método foram 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,25% e 0,1%, e no segundo 5%, 3%, 1%, e 0,5%. No grupo controle branco, foi usada água destilada e no controle positivo niclosamida a 1%. Cada grupo foi formado por cinco indivíduos com seis repetições.

Para a verificação do crescimento, os moluscos foram medidos quinzenalmente, até o 90º dia de vida, com o auxílio de um paquímetro Kanon (Mardened Stainless 1/28 in

1/20mm). O parâmetro utilizado para evidenciar que os animais atingiram a maturidade sexual foi à presença de ovos no útero, visíveis pela transparência da concha (Fotografia 8).



Fotografia 8: Indivíduo adulto da espécie *Subulina octona*.  
(A seta indica os ovos presentes no útero)  
Fonte: Do autor

- Experimento III: Influência de *Furcraea foetida* na sobrevivência e reprodução de adultos de *Subulina octona*

Para a realização deste estudo foram utilizados 420 moluscos adultos. Destes, 240 foram destinados aos testes sem substrato e o restante aos testes com substrato. A presença de ovos no útero foi o parâmetro utilizado para verificar a maturidade sexual.

No primeiro método, foram borrifados sobre os moluscos 2ml das concentrações 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,25% e 0,1%. Já no segundo, a aspersão foi de 5ml das concentrações 5%, 3%, 1% e 0,5%. Em ambas as metodologias, água destilada e niclosamida a 1% foram usadas nos grupos controle branco e controle positivo, respectivamente. Cada grupo foi composto por cinco indivíduos com seis repetições.

Os sobreviventes foram acompanhados até a primeira ovipostura. Os ovos foram contabilizados e observados por 20 dias para a verificação da eclosão dos filhotes.

### 3.1.6 Análise estatística

Os efeitos de *F. foetida* sobre a sobrevivência, eclodibilidade, crescimento e reprodução de *S. octona*, foram avaliados pelo teste de Kruskal-wallis com intervalo de confiança de 95%.

## 3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### ➤ Análise química da planta

A partir da marcha fitoquímica realizada no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora, pôde-se comprovar a presença de saponinas na seiva de *F. foetida*. A saponina esteroídica de *F. foetida* (furcreastatina) já foi isolada por ITABASHI et al. (2000) que verificaram a ação citotóxica seletiva dessa substância.

As espécies da família Agavaceae são caracterizadas pela presença de saponinas. Muitas já foram referenciadas na literatura por suas propriedades biológicas que incluem efeito larvicida, carrapaticida e moluscicida (CONSOLI et al. 1988; FERRER; DIAZ, 1994; GARCEZ; LOPEZ, 1986; PIZARRO, 1998).

### ➤ Experimento I: Influência de *Furcraea foetida* na eclodibilidade de filhotes de *Subulina octona*

Nos experimentos realizados sem a presença do substrato, a seiva de *F. foetida* atuou como ovicida nas concentrações de 1%, 3% e 5%. O teste de Kruskal-Wallis demonstrou ser significativa a diferença na eclodibilidade entre o grupo controle branco e os tratados com a seiva nas concentrações de 1%, 3% e 5% (controle branco e 1%:  $p=0,0122$ ; controle branco e 3%:  $p=0,0027$ ; controle branco e 5%:  $p=0,0003$ ), e entre o controle branco e a niclosamida a 1% ( $p=0,0003$ ). Entre os tratamentos não houve diferença significativa (Tabela1; Gráfico1).

Tabela 1: Percentual de eclosão de filhotes de *Subulina octona* provenientes de ovos tratados com *Furcraea foetida* (testes sem substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.

Tratamento	Média ± Desvio Padrão	Percentual de eclosão
Controle branco	4,3 ± 0,8	86,6
0,5%	1,8 ± 1,5	36,6
1%	0,8 ± 1,0	16,6
3%	0,3 ± 0,5	6,6
5%	0	0
Controle Positivo	0	0

Fonte: Do autor

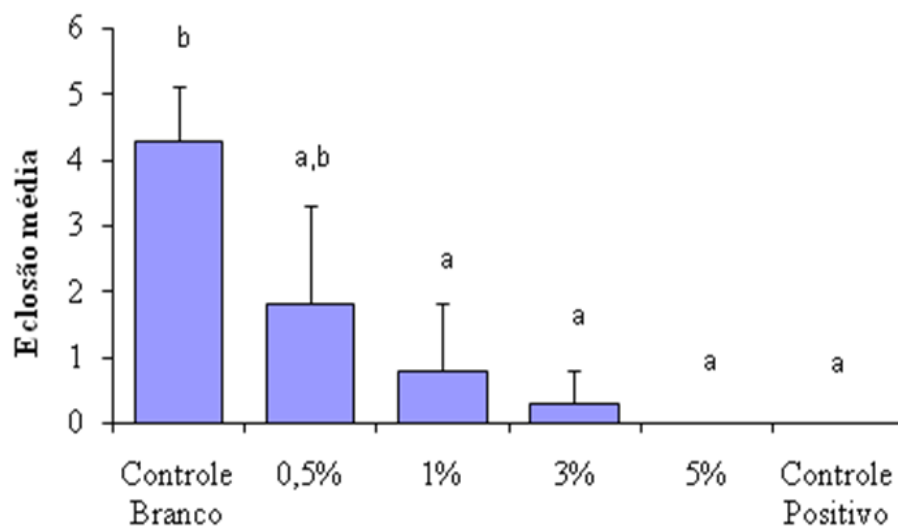


Gráfico 1: Eclosão média de filhotes de *Subulina octona* provenientes de ovos tratados com *Furcraea foetida* (testes sem substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskal-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).

Fonte: Do autor

Nos testes realizados com substrato a seiva de *F. foetida* atuou como ovicida nas concentrações de 1%, 3% e 5%. Houve diferença significativa da eclodibilidade entre o controle branco e os tratados a 1%, 3% e 5% (controle branco e 1%:  $p=0,0129$ ; controle branco e 3%:  $p=0,0016$ ; controle branco e 5%:  $0,0005$ ) e, entre o controle branco e o controle positivo ( $p=0,0001$ ). Também foi verificada diferença significativa entre a concentração de

0,5% e as concentrações de 3%, 5% e o controle positivo (0,5% e 3%:  $p=0,0092$ ; 0,5% e 5%:  $p=0,0034$ ; 0,5% e controle positivo:  $p=0,001$ ) (Gráfico 2; Tabela 2). Da mesma forma que os testes sem substrato, as concentrações de 1%, 3% e 5% atuaram como ovicida não tendo diferença significativa com o controle positivo.

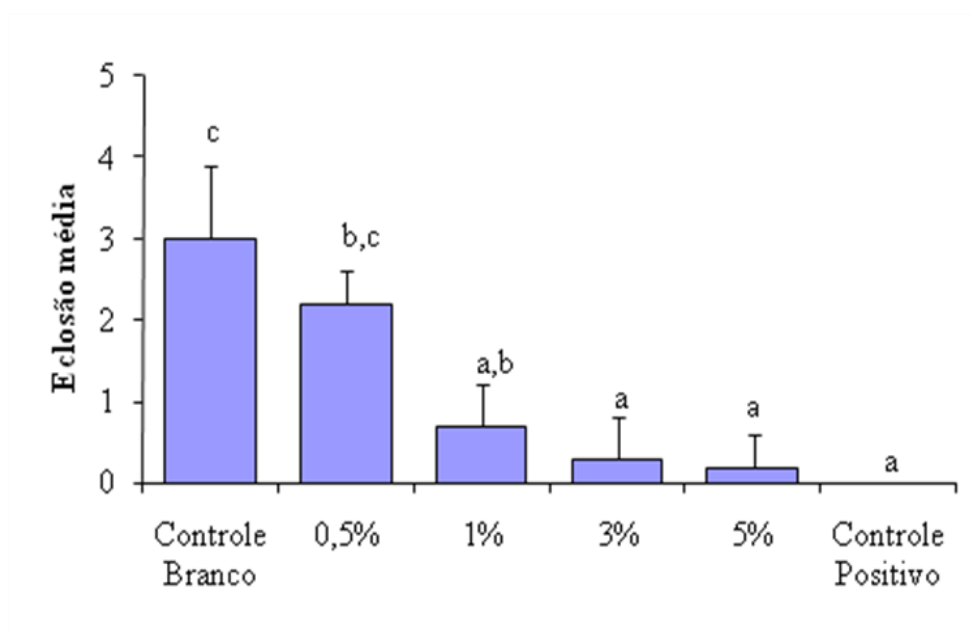


Gráfico 2: Eclosão média de filhotes de *Subulina octona* provenientes de ovos tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskal-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).

Fonte: Do autor

Tabela 2: Percentual de eclosão de filhotes de *Subulina octona* provenientes de ovos tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.

Tratamento	Média ± Desvio Padrão	Percentual de eclosão
Controle branco	3,0 ± 0,9	60
0,5%	2,2 ± 0,4	43,3
1%	0,7 ± 0,5	13,3
3%	0,3 ± 0,5	6,6
5%	0,2 ± 0,4	3,3
Controle Positivo	0	0

Fonte: Do autor



De acordo com Bessa e Araújo (1995, a) *S. octona* é uma espécie que se autofecunda e cada indivíduo pode realizar até seis posturas; os autores contabilizaram 96 ovos com 94,8% de viabilidade, trabalhando numa média de temperatura mínima de 23°C e umidade relativa do ar variando entre 75% e 82%.

Os percentuais de eclosão do grupo controle nos testes sem substrato (86,6%) e com substrato (60%) podem estar relacionados às condições de temperatura e umidade em que foi realizado este trabalho (Temperatura mínima variando de 17°C a 22,8°C – média =20,1°C; Temperatura máxima variando de 21°C a 25,6°C – média= 24,04°C) (Gráfico 3; Gráfico 4).

Uma substância natural que tenha efeito ovicida é de grande utilidade para o controle, pois pode prevenir o restabelecimento das populações de moluscos na área.

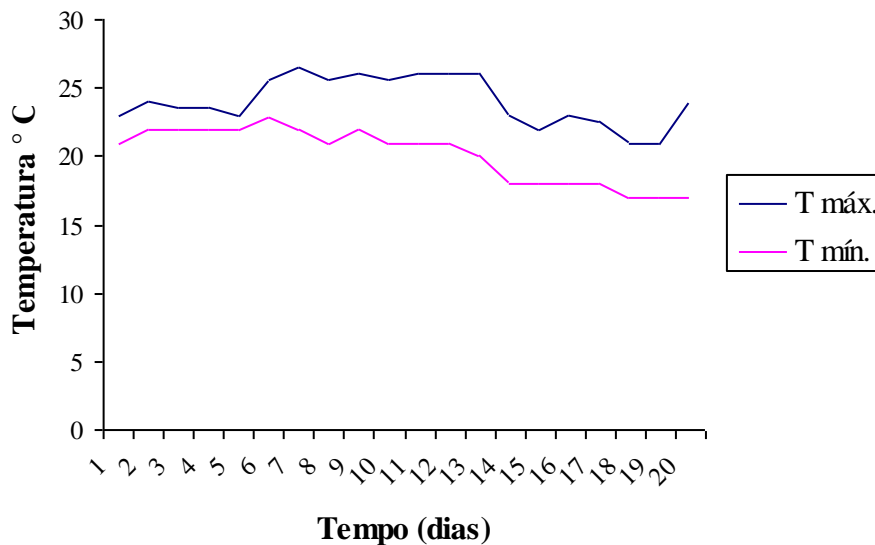


Gráfico 3: Temperaturas mínimas e máximas (C°) registradas durante 20 dias.

Fonte: Do autor

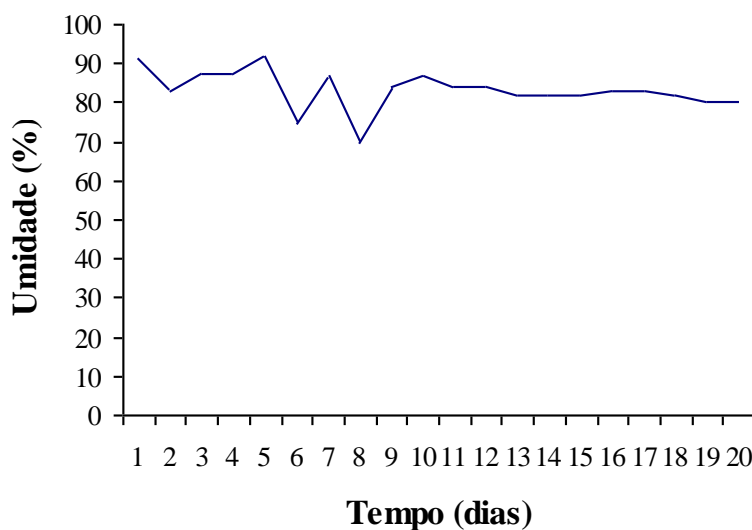


Gráfico 4: Umidade relativa do ar (%) registrada durante 20 dias.

Fonte: Do autor

A temperatura e a umidade são fatores que podem influenciar a viabilidade de ovos de moluscos. Um experimento realizado por Raut; Rahman e Samanta (1992) evidenciou que em temperaturas mais elevadas havia aumento na produção de ovos da espécie *Indoplanorbis exustus* (Deshayes). Leahy (1984) descreve em seu trabalho que a eclosão de filhotes em *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) corresponde às estações mais chuvosas do ano, onde há aumento gradual da umidade relativa do ar. Nessa espécie também foi observado um retardo da maturidade sexual devido à baixa umidade relativa do ar (FURTADO; BESSA; CASTAÑON, 2002).

Com relação à atividade ovicida, Garces e Lopez (1996) demonstraram que o extrato aquoso de três espécies da família Agavaceae inibiu o desenvolvimento embrionário em ovos de *Biomphalaria havanensis* (Pfeiffer, 1839) de um e sete dias. Também verificaram que em ovos de um dia, os extratos testados atuaram de maneira mais eficaz, pois a membrana que recobre o ovo nesse estágio é mais permeável, permitindo a passagem de substâncias. Esses autores atribuem o efeito ovicida as saponinas.

A partir da análise química de *F. foetida* pôde-se verificar a presença de saponina. Essa substância apresenta distribuição variada podendo ser encontrada nas famílias Liliaceae, Solanaceae, Discoriaceae, Sapindaceae, Sapotaceae e Agavaceae (SCHENKEL et al. 2004).

As saponinas têm ação sobre as membranas celulares, alterando sua permeabilidade ou destruindo-a. A atividade moluscicida, ictiotóxica e hemolítica dessas substâncias está relacionada com sua ação sobre as membranas (SCHENKEL et al. 2004).

Neste trabalho não foi possível isolar a saponina, mas na literatura já foi relatado que *Furcraea foetida* possui furcreastatina, uma saponina esteroídica, que tem atividade antitumoral (ITABASHI et al. 2000).

Trabalhos relacionados ao efeito ovicida de produtos naturais em gastrópodes terrestres são raridade na literatura, pois a maioria dos estudos refere-se a moluscos hospedeiros da esquistosomose. Santos (2005) comprovou que a cafeína a 5g/L foi ovicida para *S. octona* e que o timol a 5g/L e a 2g/L inibiu significativamente a eclosão de filhotes de *B. similaris* e *S. octona*.

- Experimento II: Influência de *Furcraea foetida* na sobrevivência, crescimento e reprodução de jovens com 15 dias de *Subulina octona*.

Nos testes realizados sem a presença do substrato, a seiva de *F. foetida* foi 100% letal em todas as concentrações testadas (Gráfico 5). Já nos testes com substrato, a mortalidade foi significativa, em relação ao controle branco, nas concentrações de 3%, 5% e no controle positivo (Controle branco e 3%:  $p=0,047$ ; controle branco e 5%:  $p=0,0016$ ; controle branco e controle positivo:  $p=0,0059$ ). Também foram verificadas diferenças significativas entre os tratamentos 0,5% e 3% ( $p=0,047$ ), 0,5% e 5% ( $p=0,0016$ ), 0,5% e controle positivo ( $p=0,0059$ ), 1% e 3% ( $p=0,047$ ), 1% e 5% ( $p=0,0016$ ) e 1% e controle positivo ( $p=0,0059$ ). Um dado importante é que não houve diferença significativa entre as maiores concentrações da seiva e o controle positivo (Gráfico 6; Tabela 3).

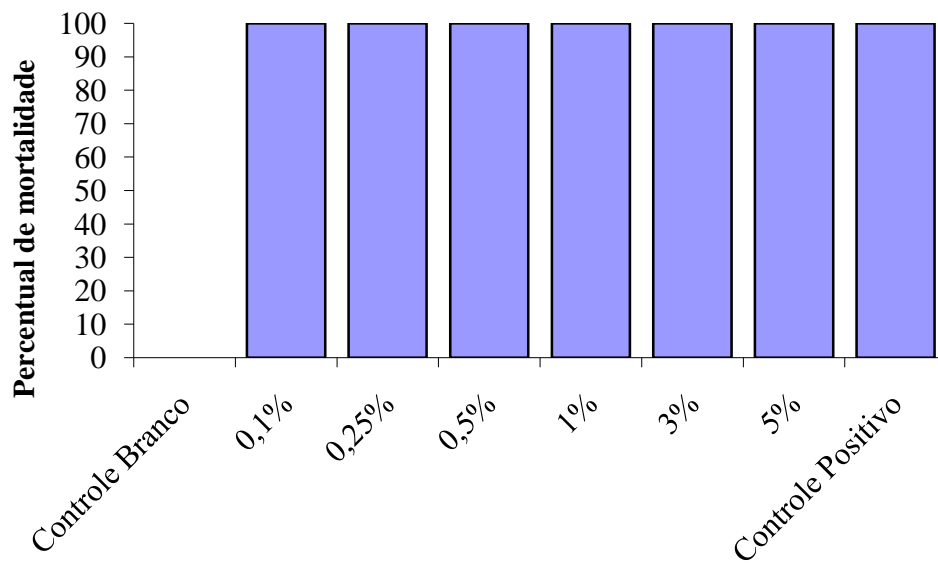


Gráfico 5: Percentual de mortalidade de jovens de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes sem substrato) nas concentrações de 0,1%,0,25% 0,5%, 1%, 3% e 5%.  
Fonte: Do autor

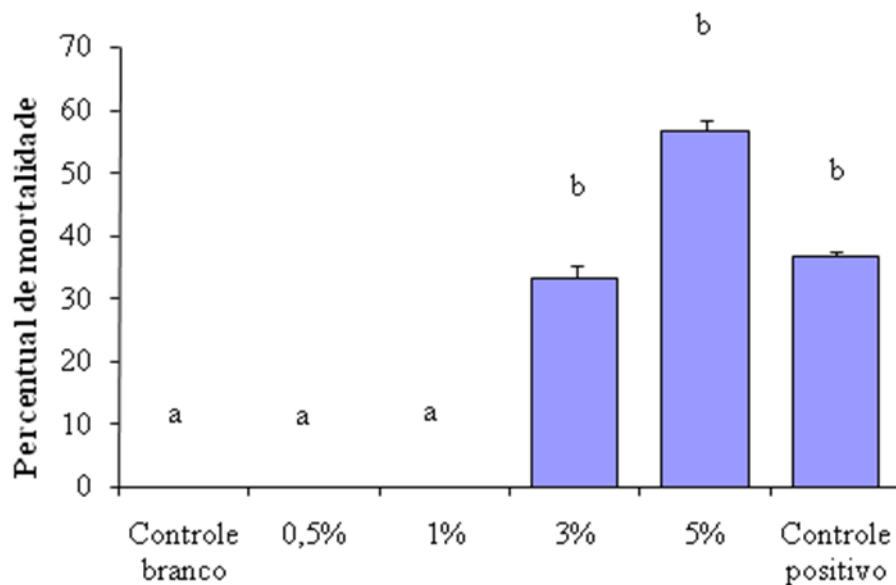


Gráfico 6: Percentual de mortalidade de jovens de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskal-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).  
Fonte: Do autor

Tabela 3: Percentual de mortalidade de jovens de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.

Tratamento	Média ± Desvio Padrão	Percentual de mortalidade
Controle branco	0	0
0,5%	0	0
1%	0	0
3%	1,7±1,9	33,3
5%	2,8±1,7	56,6
Controle Positivo	1,8±0,8	36,6

Fonte: Do autor

A partir dos resultados encontrados neste trabalho, pôde-se verificar que nos testes sem a presença do substrato, a substância testada foi mais eficaz, mesmo nas menores concentrações. O substrato sobre o qual o molusco vive confere a ele umidade, alimento, camuflagem e proteção mecânica (D'ÁVILA; BESSA, 2005 a, b). Esse fato dificulta o controle de moluscos terrestres, pois estes animais encontram no substrato uma barreira física que, muitas vezes, pode impedir o contato com a substância moluscicida.

Mesmo com a presença do substrato, as concentrações de 3% e 5% atuaram como moluscicidas não tendo diferença significativa com o controle positivo. Esse resultado é um indício de que a seiva testada pode ser eficaz a campo nas concentrações supracitadas. Também reforça a importância das pesquisas com produtos naturais, pois a niclosamida além de seus efeitos para o ambiente, não impede a recolonização do local de aplicação (COURA-FILHO et al. 1992). Uma das causas de repovoamento de criadouros de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) após o tratamento com a niclosamida está relacionada ao substrato, pois os moluscos sobreviventes encontravam-se enterrados sob uma camada de lama, onde o moluscicida não os atingiu (SOUZA; MENDES, 1991).

Com relação ao crescimento, não houve diferença significativa em nenhum dos tratamentos (Gráfico 7). Observou-se um declínio do crescimento após o alcance da maturidade sexual. Essa desaceleração do crescimento é uma estratégia exibida por *S. octona* (BESSA; ARAÚJO, 1995 b; D'ÁVILA; BESSA, 2005 b). Resultados semelhantes foram obtidos por Santos (2005) que verificou que não houve alterações no padrão de crescimento de *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835), *B. similaris* e *S. octona* quando tratadas com cafeína e timol.

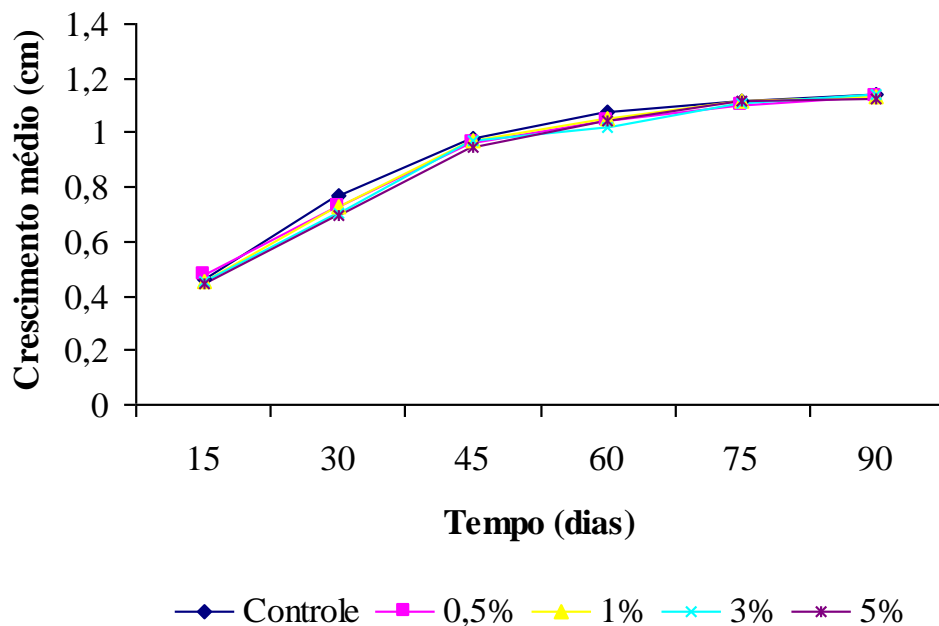


Gráfico 7: Médias quinzenais do comprimento da concha de *Subulina octona* tratada com *Furcraea foetida*, durante 90 dias de observação pós tratamento.  
Fonte: Do autor

A maturidade sexual do grupo controle ocorreu aos 60 dias. Nos grupos tratados a 0,5%, 1% e 3% aos 75 dias e no grupo tratado a 5% ocorreu aos 90 dias. A maturidade sexual mais tardia dos grupos tratados pode ter ocorrido em função da seiva, pois todos os grupos ficaram sob as mesmas condições de temperatura e umidade (Gráfico 8; Gráfico 9). Nos experimentos realizados por Bessa e Araújo (1995 a) os indivíduos de *S. octona* atingiram a maturidade sexual entre 38 e 50 dias. D'ávila e Bessa (2005 a) verificaram que *S. octona* mantida em caixa contendo terra vegetal levou, em média, 59 dias para atingir a maturidade sexual. Esse resultado é semelhante aos do presente estudo, para o grupo controle.

Não foi possível acompanhar as oviposturas, já que a maioria dos moluscos, de todos os tratamentos e do grupo controle, morreu. Esse fato pode ser explicado pela queda brusca da temperatura registrada nesse período, mínima das mínimas (12°C) e mínima das máximas (15°C) (Gráfico 8).

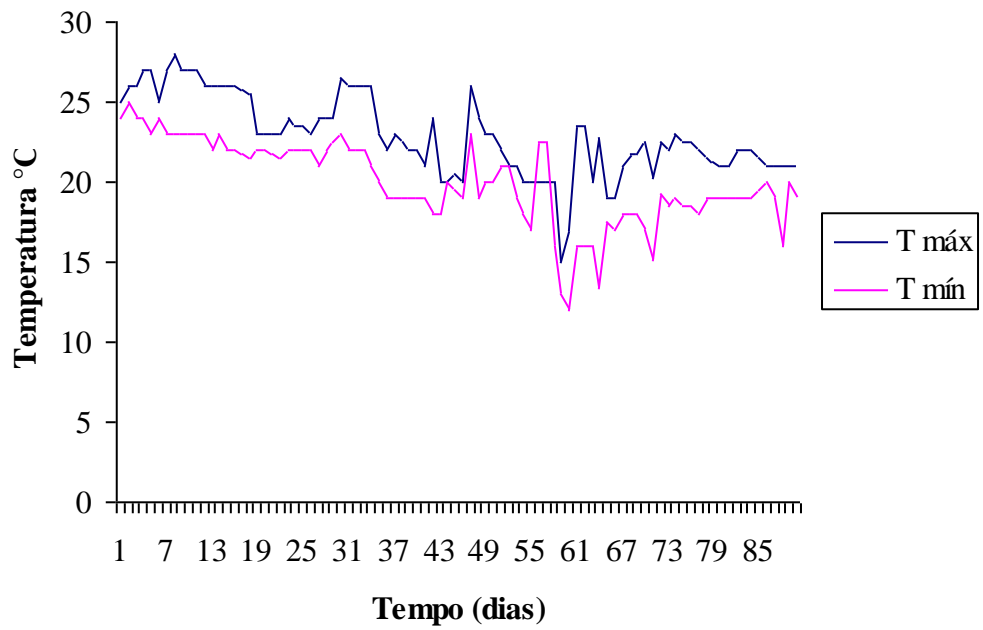


Gráfico 8: Temperatura máxima e mínima (°C) registrada durante 90 dias.  
Fonte: Do autor

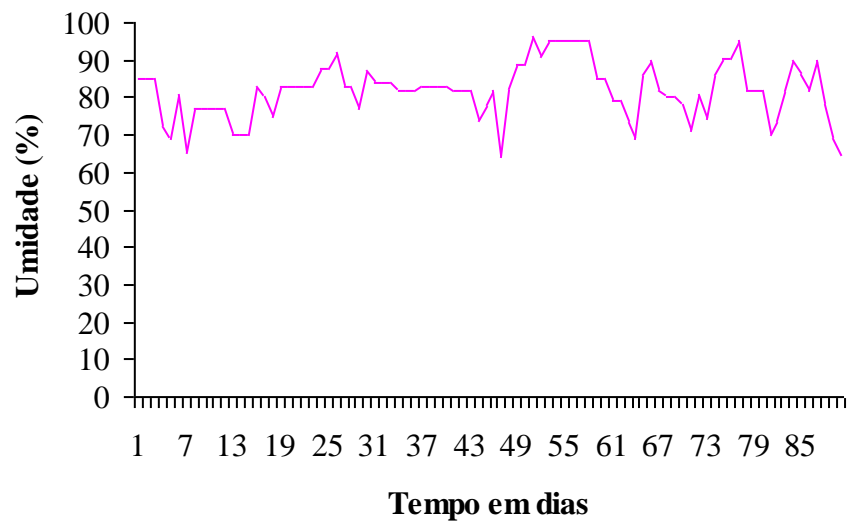


Gráfico 9: Umidade relativa do ar (%) registrada durante 90 dias.  
Fonte: Do autor

- Experimento III: Influência de *Furcraea foetida* na sobrevivência e reprodução de adultos de *Subulina octona*

Nos testes sem substrato a seiva de *F. foetida* atuou como moluscicida causando 100% de mortalidade em todas as concentrações (Gráfico 10). Em contrapartida, nos testes com substrato, o grupo controle branco diferiu-se significativamente das concentrações 3% e 5% ( $p=0,0004$ ). O teste de Kruskal-Wallis também demonstrou ser significativa a diferença entre 0,5% e 3% ( $p=0,0012$ ) e entre 0,5% e 5% ( $p=0,0012$ ). A diferença na mortalidade dos indivíduos tratados a 1% foi expressiva em relação a 3% ( $p=0,0008$ ) e 5% ( $p=0,0008$ ) (Tabela 4; Gráfico 11).

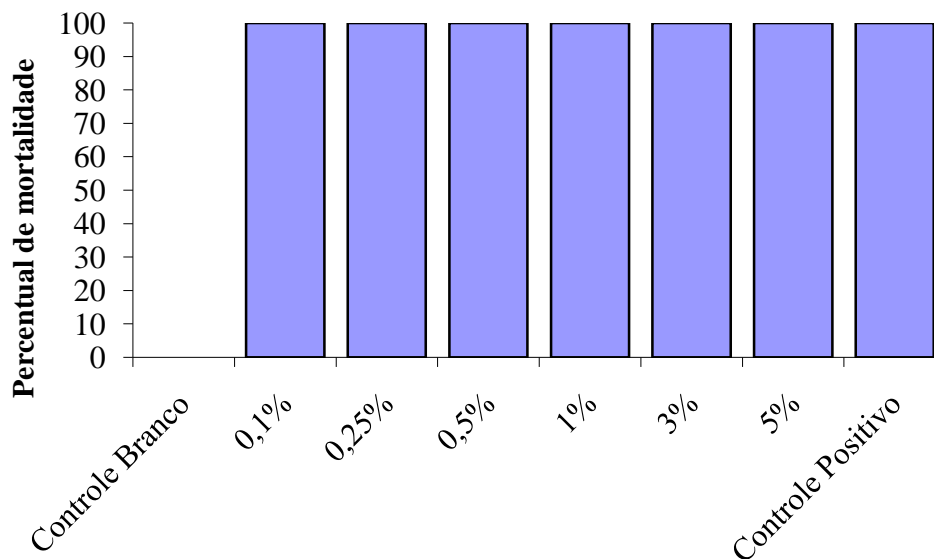


Gráfico 10 : Percentual de mortalidade de adultos de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes sem substrato) nas concentrações de 0,1%, 0,25% ,0,5%, 1%, 3% e 5%.  
Fonte: Do autor



Tabela 4: Percentual de mortalidade de adultos de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%.

Tratamento	Média ± Desvio Padrão	Percentual de mortalidade
Controle branco	0	0
0,5%	0,2±0,4	3,3
1%	0,3±0,8	6,6
3%	5±0	100
5%	5±0	100
Controle Positivo	1,3±1	23,3

Fonte: Do autor

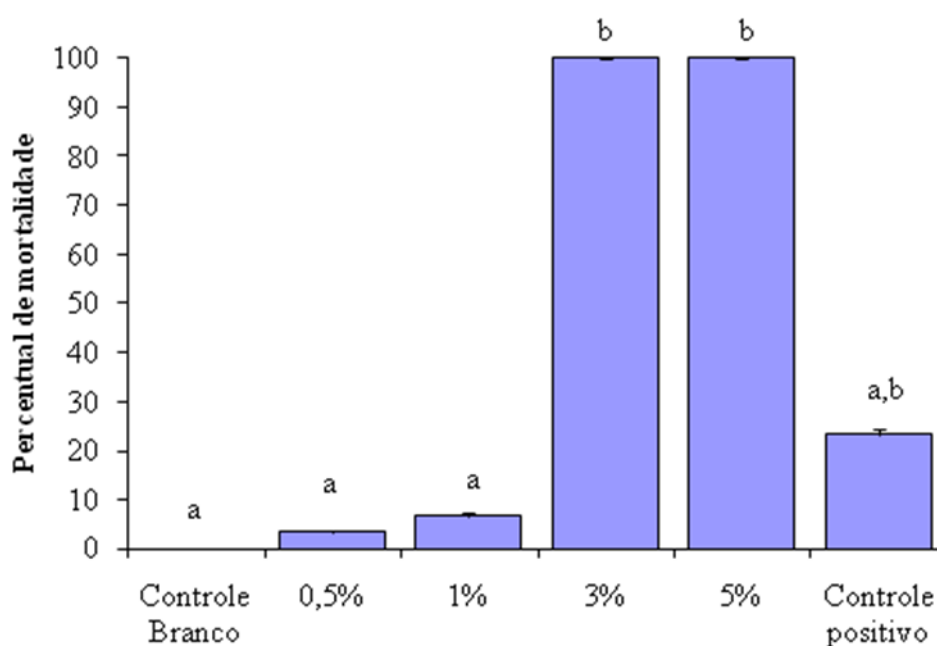


Gráfico 11: Percentual de mortalidade de adultos de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5%, 1%, 3% e 5%. (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskal-Wallis com o intervalo de confiança de 95%).

Fonte: Do autor

Da mesma forma que nos experimentos realizados com jovens de *S. octona*, a seiva de *F. foetida* não teve a mesma eficácia nas duas metodologias utilizadas. Tal fato pode ser atribuído ao substrato que provê proteção e abrigo para os moluscos.

Os resultados deste trabalho comprovam a atividade moluscicida da seiva de *F. foetida* sobre adultos de *S. octona*. Outros pesquisadores demonstraram a atividade moluscicida de algumas espécies da família Agavaceae. Garces e Lopez (1996) verificaram que o extrato aquoso de *Agave legrilliana* Trelease, *A. fourcroydes* (Lem.) e *A. franzosinii* tiveram efeito moluscicida em *B. havanensis* (Pfeiffer, 1839). Também evidenciaram que o extrato dessas plantas diminuía a frequência cardíaca desses moluscos. Segundo esses autores a atividade cardíaca é um parâmetro indicador da ação moluscicida, pois quando a frequência cardíaca diminui, o mesmo acontece com as funções vitais do molusco.

Abdel-Gawad; El-Sayed e Abdel-Hameed (1999) isolaram as saponinas de *A. decipiens* Baker e verificaram que as saponinas monodesmosídicas tiveram forte efeito moluscida em *B. alexandria* (Ehrenberg), enquanto que as bidesmosídicas foram inativas. Frequentemente, as saponinas bidesmosídicas não apresentam as atividades biológicas relacionadas para as saponinas monodesmosídicas (SCHENKEL et al. 2004).

Outro trabalho onde é relatada a atividade moluscicida de uma espécie da família Agavaceae foi o realizado por Brackenbury e Appleton (1997) que utilizaram o extrato aquoso de *A. tenuata* Salm, verificando sua toxidez para *Bulinus africanus* (Krauss 1848). Esses pesquisadores sugerem a substituição da niclosamida pelo extrato de *A. tenuata* no controle de moluscos em comunidades rurais.

No que tange a reprodução, a ovipostura dos adultos sobreviventes não foi influenciada por nenhuma das concentrações (Tabela 5; Gráfico 12).

Tabela 5: Total de ovos postos por indivíduos adultos de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%.

<b>Tratamento</b>	<b>Média ± Desvio Padrão</b>	<b>Total de ovos</b>
Controle branco	16,3 ± 4,8	98
0,5%	19,2 ± 7,3	115
1%	19,3 ± 14,1	116
Controle Positivo	13,5 ± 7	81

Fonte: Do autor

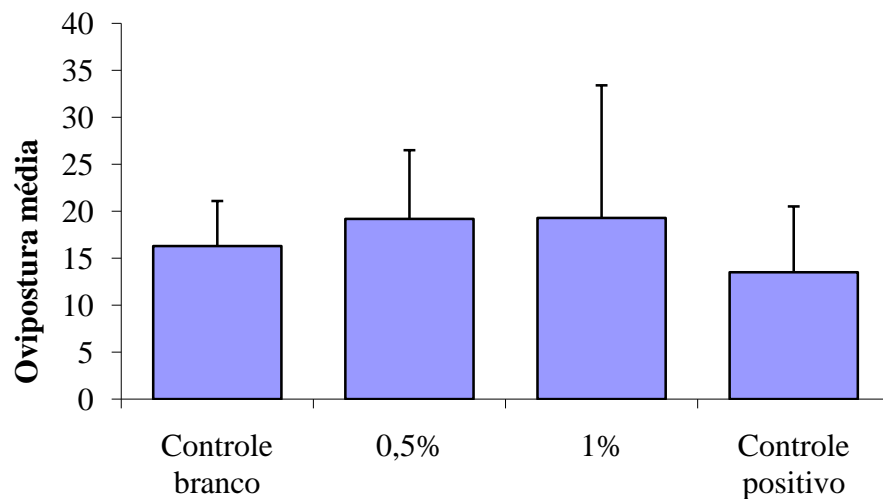


Gráfico 12: Ovipostura média de indivíduos adultos de *Subulina octona* tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%. No controle branco foi usada água destilada e no controle positivo, niclosamida a 1%.

Fonte: Do autor

De acordo com o teste de Kruskal-Wallis, também não houve diferença significativa na eclodibilidade de filhotes provenientes de adultos tratados com a seiva de *F. foetida* (Tabela 6; Gráfico13).

Tabela 6: Percentual de eclosão de filhotes de *Subulina octona* provenientes de adultos tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%.

<b>Tratamento</b>	<b>Média ± Desvio Padrão</b>	<b>Percentual de eclosão</b>
Controle Branco	15,5 ± 4,8	94,8
0,5%	18,5 ± 7,7	96,5
1%	18,2 ± 13,5	94
Controle Positivo	12,3 ± 6,5	91,3

Fonte: Do autor

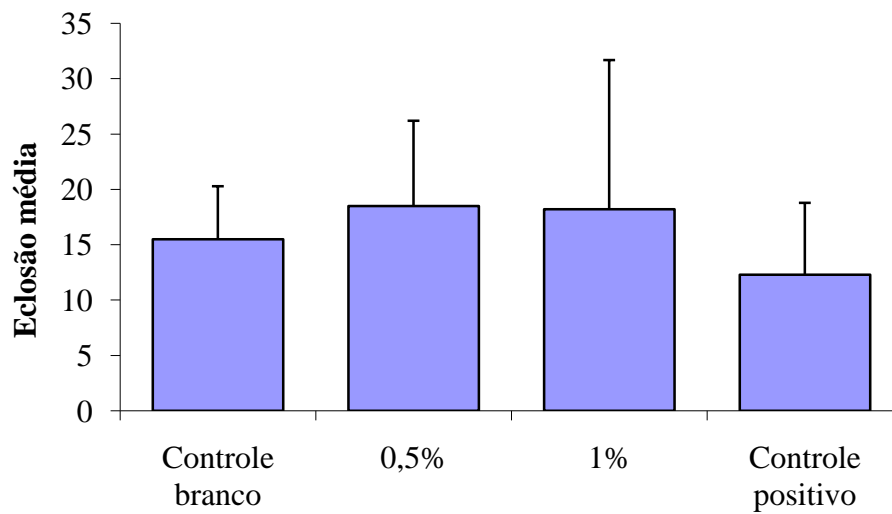


Gráfico 13: Eclosão média de filhotes de *Subulina octona* provenientes de adultos tratados com *Furcraea foetida* (testes com substrato) nas concentrações de 0,5% e 1%.

Fonte: Do autor

Neste estudo, a viabilidade dos ovos foi entre 91,3% e 94,8% (Tabela 6). Esse resultado é corroborado pelo obtido por Bessa e Araújo (1995 a) que verificou 94,8% de viabilidade dos ovos de *S. octona*.

Os resultados encontrados neste trabalho demonstraram que a seiva de *F. foetida* poderá ser promissora no controle de moluscos terrestres, pois, em condições de laboratório, atuou como ovicida e moluscicida para *S. octona*. No entanto, novos estudos são necessários para verificar a eficácia e viabilidade da utilização dessa substância no campo.

#### 4 INFLUÊNCIA DE *Furcraea foetida* (L.) HAW. NO COMPORTAMENTO DE *Subulina octona* (BRUGUIÈRE, 1789) (MOLLUSCA, SUBULINIDAE)

Algumas espécies de moluscos terrestres são importantes objetos de estudo na parasitologia por atuarem como hospedeiros intermediários de helmintos parasitos do homem e animais domésticos (ALICATA, 1940; AMATO; BEZERRA, 1989; BESSA et al. 2000). Além disso, são de relevante importância econômica por serem pragas agrícolas (PANIGRAHI; RAUT,1993; RAUT; PANIGRAHI,1990). Dessa forma, o controle da população de moluscos é uma alternativa viável para interromper o ciclo dos parasitos e minimizar o aparecimento desses invertebrados em culturas vegetais.

*Subulina octona* (Brugüière, 1789) é um gastrópode terrestre com ampla distribuição geográfica, ocorrendo no Brasil e em quase todo o continente Americano (ARAÚJO, 1982). Possui importância médico-veterinária por participar no ciclo biológico de helmintos. Pode atuar como hospedeiro intermediário de helmintos que parasitam aves, *Phostarmostomum gallinum* Witenberg, 1923 e *Tanaisia (Paratanaisia) bragai* (Santos, 1934), (ALICATA, 1940; MALDONADO, 1945) e também como hospedeiro de *Platynosomum fastosum* Kossak, 1910 e *Aelurostrongylus abstrusus* Railliet, 1898 parasitos do gato doméstico (ALICATA, 1964; ASH, 1962; MALDONADO, 1945).

Com relação ao comportamento de *S. octona*, Bessa e Araújo (1995) verificaram que esse molusco tem atividade noturna. Paula (2003) assinalou o hábito noturno da espécie e verificou um padrão comportamental onde os períodos de atividade são intercalados com períodos de repouso. Além disso, propôs o etograma básico para esta espécie. D'ávila; Dias e Bessa (2006) evidenciaram o comportamento agregativo em *S. octona*, sugerindo que este pode ser o reflexo de um padrão de distribuição agregada da espécie, assim como uma estratégia para a resistência a dessecação e para o encontro de parceiros sexuais.

Populações de moluscos podem ser controladas com a utilização de espécies competidoras ou pela aplicação de substâncias moluscidas (COURA, 1995). Para que as medidas de controle sejam eficazes torna-se necessário o conhecimento da biologia e do comportamento desses animais. Comportamentos como retração na concha, afastamento de locais dessecados, enterramento e afastamento de agentes tóxicos são descritos na literatura como tendo função protetora contribuindo para a sobrevivência dos moluscos durante a seca (PIERI; JURBERG, 1981). Os comportamentos que aumentam a capacidade de resistência à dessecação podem favorecer a sobrevivência dos moluscos aos moluscidas (D'ÁVILA et al. 2004).

O uso de substâncias de origem vegetal tem sido motivo de intensas pesquisas nos últimos anos, pois são biodegradáveis e causam menor impacto ambiental (BONFIM et al. 2002; JURBERG; VASCONCELOS; MENDES, 1989). *Furcraea foetida* (Agavaceae), conhecida popularmente como pita ou piteira, é uma espécie nativa comum nas beiras de estradas e nas dunas litorâneas (SOUZA; LORENZI, 2005). Produzem saponinas (ITABASHI et al. 2000), classe química com ação hemolítica, ictiotóxica e moluscicida (SCHENKEL et al. 2004).

O objetivo deste estudo foi avaliar a influência da seiva de *F. foetida* no repertório comportamental e no horário de atividade de *S. octona*.

## **4.1 MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1.1 Local dos experimentos**

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia de Moluscos e Helmintos do curso de Pós Graduação em Ciências Biológicas/Comportamento e Biologia Animal e no Centro Avançado de Zoologia da Universidade Federal de Juiz de Fora – Juiz de Fora, Minas Gerais.

### **4.1.2 Obtenção e manutenção dos moluscos**

Os moluscos foram retirados da criação matriz do laboratório de Moluscos e Helmintos e criados até atingirem a idade adulta. O parâmetro utilizado para evidenciar que os animais estavam adultos foi a presença de ovos no útero, visíveis pela transparência da concha. (Fotografia 9).

A manutenção e manejo dos animais foram realizados de acordo com Bessa e Araújo (1995 a, b). A alimentação consistiu de ração para aves de corte (composição básica: proteína bruta 22%, extrato etéreo 2,6%, matéria fibrosa 6,5%, matéria mineral 9,0%, cálcio 1,5%, fósforo 0,5%) enriquecida com carbonato de cálcio na proporção de 3:1.



Fotografia 9 : Indivíduo adulto de *Subulina octona*.  
(A seta indica os ovos presentes no interior do útero)  
Fonte: Do autor

#### 4.1.3 Obtenção e aplicação da seiva

As folhas de *Furcraea foetida* foram coletadas nas proximidades da Fazenda Paciência, em beira de estrada, no município de Matias Barbosa (21°52'08''S e 43°19'08''O), em abril de 2007 (Fotografia 10). A planta foi identificada e depositada no herbário Padre Leopoldo Krieger com o registro CESJ 49.478.



Fotografia 10: *Furcraea foetida* coletada no Município de Matias Barbosa, Minas Gerais.  
Fonte: Do autor

Através do esmagamento por compressão da folhas obteve-se a seiva da planta (Fotografia 11). Esta foi filtrada e diluída em água destilada nas concentrações de 0,5 e 5%.



Fotografia 11: Seiva de *Furcraea foetida* obtida através da compressão da folha.  
Fonte: Do autor

Para verificar os efeitos da seiva de *F. foetida* no comportamento de *S. octona* utilizou-se 90 moluscos que foram divididos em 3 grupos: 1 controle e 2 tratados (T1 e T2 - 0,5 e 5% respectivamente). Cada grupo foi composto por 10 indivíduos com três repetições. Este trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal da Pró-Reitoria de Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora sob o protocolo nº 49/2003-CEA.

A aplicação da seiva foi realizada às 18:00 horas - com a utilização de borrifadores manuais de polietileno - sobre os moluscos no terrário. As soluções foram borrifadas nos terrários (12 cm de diâmetro e 9 cm de profundidade) contendo indivíduos adultos. No grupo controle foi aspergido 80 ml de água destilada e nos grupos T1 e T2, 80 ml das concentrações supracitadas.

#### 4.1.4 Análise química da planta

A análise química da seiva da planta foi realizada no Laboratório de Bioquímica da Universidade Federal de Juiz de Fora. Para isso utilizou-se a marcha fitoquímica proposta por Matos (1998).



#### 4.1.5 Verificação dos efeitos da seiva

O comportamento dos moluscos dos grupos controle e tratados foi avaliado por meio de observações diretas pelo método *grupo focal* e *scan* (ALTMANN, 1974). As observações foram realizadas no momento da aplicação e em intervalos regulares de 15 minutos durante uma sessão de 24 horas. A cada 30 minutos foram anotadas a temperatura e umidade relativa do ar.

#### 4.1.6 Análise estatística

Para analisar se houve diferença significativa entre o horário de atividade apresentado pelos grupos controle e tratado, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis com intervalo de confiança de 95%. Os dados referentes à frequência dos atos comportamentais foram avaliados pelo teste de comparação de amostras pareadas de Mann-Whitney com intervalo de confiança de 95%.

### 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No momento da aplicação da seiva, os grupos controle e T1 ficaram mais ativos que o grupo T2 (30%, 26,6% e 3,3%, respectivamente). Porém, não foi possível evidenciar diferença significativa no que se refere à atividade e ao repouso (Tabela 7; Gráfico 14). Resultados semelhantes foram obtidos por Nascimento et al. (2006) que avaliaram a influência do extrato aquoso de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) sobre o gastrópode terrestre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821). Esses autores demonstraram que no momento da aplicação do extrato os moluscos do grupo controle e da menor concentração ficaram mais ativos.

Tabela 7: Percentual de atividade exibida por indivíduos adultos de *Subulina octona* no momento da aplicação da seiva (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de *Furcraea foetida* nas concentrações de 0,5 e 5%, respectivamente).

<b>Tratamento</b>	<b>Média±Desvio Padrão</b>	<b>Atividade (%)</b>
Controle	3 ±1,7	30
T1	2,7±0,6	26,6
T2	0,3±0,6	3,3

Fonte: Do autor

Nos grupos controle e T1 o comportamento mais freqüente foi explorar. Esse comportamento está relacionado à percepção química e física do ambiente. O que, provavelmente, estimulou o comportamento exploratório no grupo controle foi à umidade (PAULA, 2003). De acordo com D'ávila e Bessa (2005) a grande dependência da umidade é uma característica marcante nos moluscos pulmonados que apresentam diversas adaptações comportamentais e fisiológicas em resposta as condições ambientais. No grupo T1, além do fator umidade, pode-se considerar à presença da seiva, pois os gastrópodes utilizam a quimiorrecepção para detectar metabólitos secundários das plantas (CHEVALIER et al. 2000).

No grupo T2 um indivíduo exibiu um comportamento atípico - retorcia o corpo intermitentemente - este comportamento foi caracterizado como atividade e ocorreu, provavelmente, devido á toxidez da seiva. Dessa forma, apenas neste grupo houve alteração no repertório comportamental.

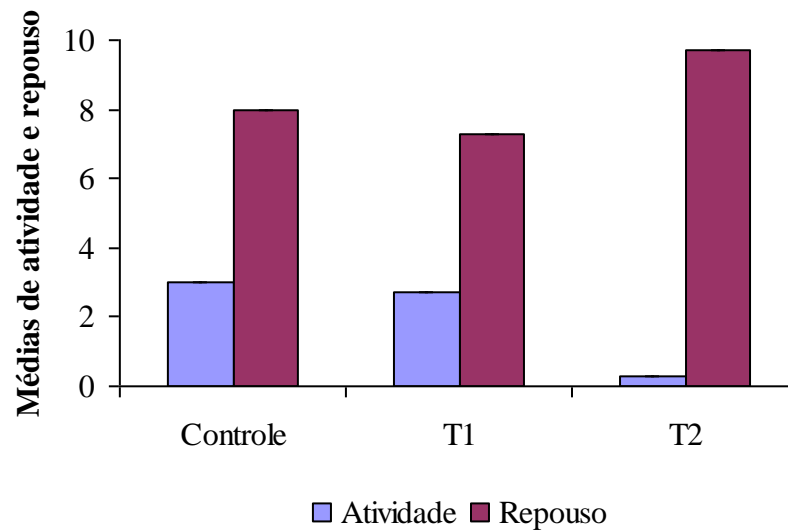


Gráfico 14: Média de atividade e repouso exibidos por *Subulina octona* no momento da aplicação da seiva (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de *Furcraea foetida* nas concentrações de 0,5 e 5%, respectivamente).

Fonte: Do autor

No decorrer das 24 horas do experimento as médias e o desvio padrão da temperatura e umidade foram T máx ( $31,53 \pm 0,53$ ), T mín ( $22,46 \pm 1,32$ ) e UR ( $59,6 \pm 2,6$ ). Com relação ao horário de atividade não houve alteração no grupo T1 (Gráfico 15). Este resultado está de acordo com os obtidos por Paula (2003) que evidenciou o hábito noturno da espécie. Outras espécies de moluscos terrestres também apresentam hábito noturno como, por exemplo, *Achatina achatina* L. (HODASI, 1979; 1982), *Deroceras reticulatum* Müller (ROLLO, 1991) e *Bradybaena similaris* (ALMEIDA; BESSA, 2001). Os indivíduos do grupo T2 só ficaram ativos no momento do teste.

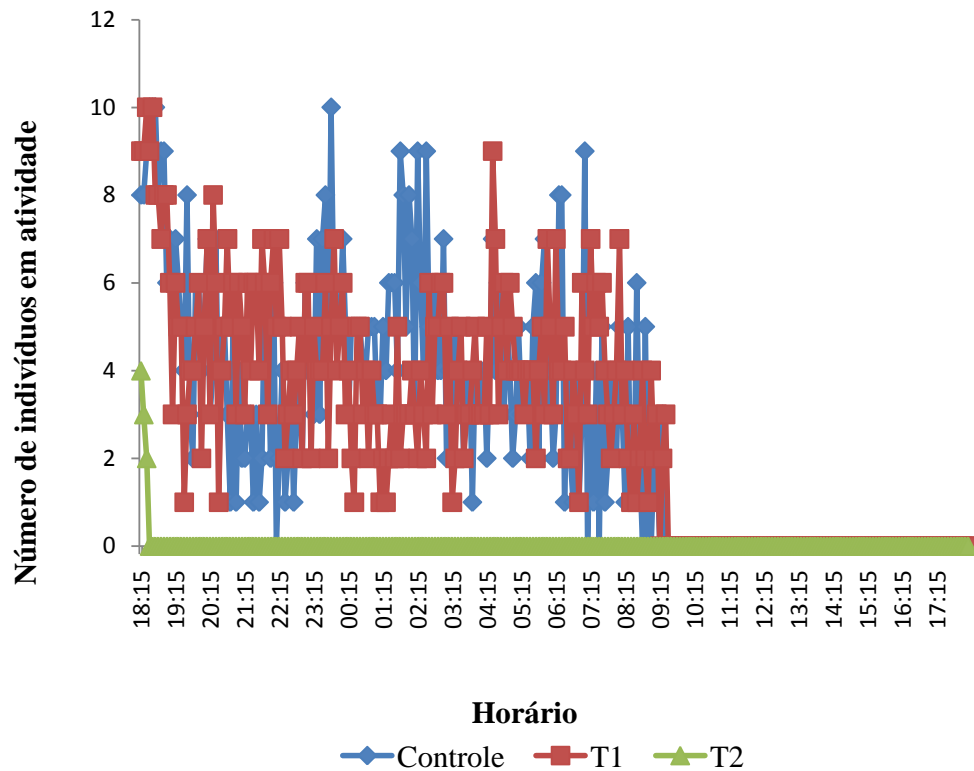


Gráfico 15: Horário de atividade de indivíduos da espécie *Subulina octona*, observados durante uma sessão de 24 horas, quando submetidos à aspersão de água destilada (controle) e a seiva de *Furcraea foetida* nas concentrações de 0,5% (T1) e 5% (T2).

Fonte: Do autor

Quanto à atividade no período de 24 horas, o teste de Kruskal- Wallis demonstrou que não houve diferença significativa entre o grupo controle e o tratado a 0,5% ( $p=0,5228$ ). Já entre o controle e T2 e entre T1 e T2 houve diferença significativa ( $p=0$ ) (Tabela 8 ; Gráfico 16).

Tabela 8: Percentual de atividade exibida por indivíduos adultos de *Subulina octona* no período de 24 horas de observação do comportamento (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de *Furcraea foetida* nas concentrações de 0,5 e 5%).

Tratamento	Média±Desvio Padrão	Atividade (%)
Controle	4,7±2,2 <sub>a</sub>	47
T1	4,4±2 <sub>a</sub>	44
T2	0±0 <sub>b</sub>	0

Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskal-Wallis

Fonte: Do autor

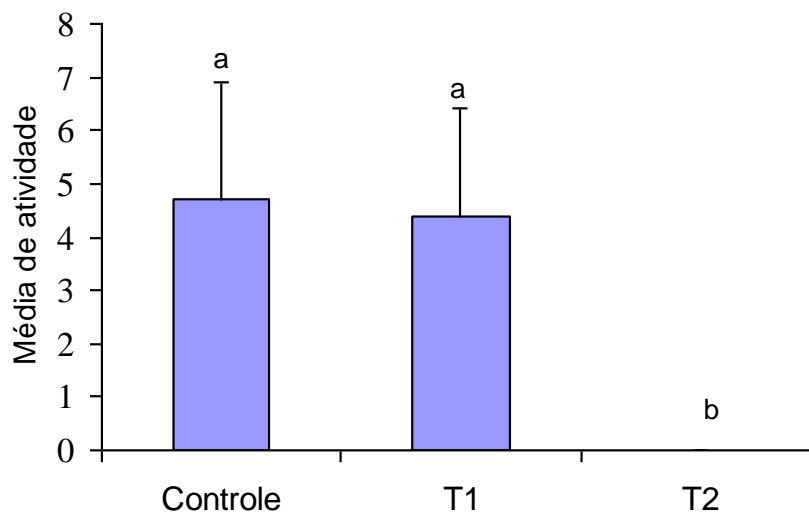


Gráfico 16: Média de atividade exibida por indivíduos adultos de *Subulina octona* no período de 24 horas de observação do comportamento (Controle – aspersão de água destilada; T1 e T2 – aspersão da seiva de *Furcraea foetida* nas concentrações de 0,5 e 5%, respectivamente) (Letras diferentes indicam diferença significativa de acordo com o teste de Kruskal-Wallis)

Fonte: Do autor

No momento da aplicação da seiva, a maioria dos moluscos do grupo T2 retraiu a massa cefalopodal e assim permaneceu até o final do período de observação. A retração da massa cefalopodal é uma resposta reflexa dos gastrópodes frente a alterações no ambiente (PIERI; JURBERG, 1981). Também pode favorecer a sobrevivência dos moluscos em ambiente dessecados. D'ávila et al. (2004) verificaram que indivíduos da espécie *S. octona* apresentaram retração da massa cefalopodal após a exposição contínua de temperatura a 35°C, por 48 horas. Os comportamentos que permitem a sobrevivência dos moluscos em ambientes dessecados podem resultar na ineficácia aos tratamentos com produtos moluscicidas (D'ÁVILA et al. 2004; PIERI; JURBERG, 1981). A retração na concha também pode ocorrer em presença de substâncias tóxicas percebidas pelo molusco, uma vez que o indivíduo retraído na concha tem menor superfície de contato com a substância, diminuindo seus efeitos (PIERI; JURBERG, 1981).

Após as 24 horas de observação, verificou-se que todos os moluscos do grupo T2 estavam mortos (Fotografia 12). Não foi possível determinar o momento exato da morte, pois, para isso, seria necessário à manipulação dos animais que poderia interferir no experimento.

Dessa forma, a seiva de *F. foetida* atuou como eficiente moluscicida, em adultos de *S. octona*, na concentração de 5%. A substância que provavelmente ocasionou a morte dos moluscos foram as saponinas.

Com a realização da análise química da seiva da planta comprovou-se a presença de saponinas, fato este já citado por Itabashi et al. (2000). De acordo com Schenkel et al. (2004) as saponinas são substâncias com ação sobre as membranas celulares, alterando sua permeabilidade ou destruindo-a. A atividade moluscicida, ictiotóxica e hemolítica dessas substâncias está relacionada com sua ação sobre as membranas.



Fotografia 12: Indivíduos mortos de *Subulina octona* submetidos à aspersão da seiva de *Furcraea foetida* na concentração de 5%.

Fonte: Do autor

Os atos comportamentais registrados na sessão de 24 horas foram explorar (EXP), deslocamento horizontal (DH), deslocamento vertical (DV), interagir (INT), enterrar (ENT) e comportamento agregativo (CA) (Fotografia 13 e 14). Esses resultados coadunam os obtidos por Paula (2003) que descreveu o etograma básico de *S. octona* e apontam que não houve diferença no repertório comportamental exibido pelos moluscos dos grupos controle e T1.



Fotografia 13: Atos comportamentais de *Subulina octona*, observados para o grupo controle e T1 (A-Deslocamento horizontal; B – Interação entre indivíduos).  
Fonte: Do autor



Fotografia 14: Comportamento agregativo em *Subulina octona*  
Fonte: Do autor

Não houve diferença significativa na frequência de realização dos atos comportamentais EXP, DH, INT e ENT do grupo controle em relação ao T1 (EXP:  $p=0.2378$  e  $Z=1.1805$ ; DH:  $p=0.8646$  e  $Z=0.1705$ ; INT:  $p=0.8857$  e  $Z=0.1437$ ; ENT:  $p=0.8299$  e  $Z=0.2148$ ). Já o DV e o CA foram significativamente mais frequentes no grupo T1 (DV:  $p=0.0133$  e  $Z=2.4746$ ; CA:  $p=0.0311$  e  $Z=2.1557$ ) (Gráfico 17), o que determina a ação repelente da seiva na concentração de 0,5%.

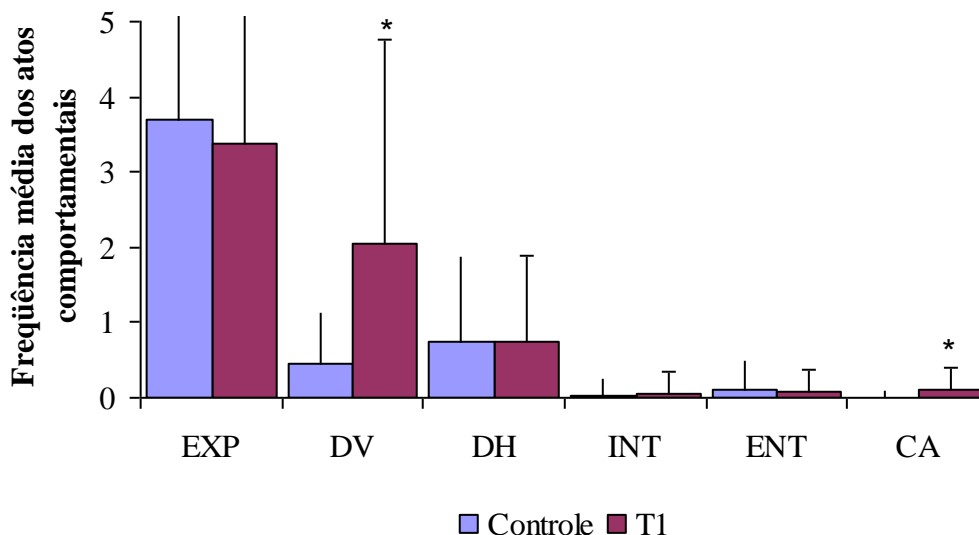


Gráfico 17: Média da frequência de realização dos atos comportamentais exibidos por indivíduos da espécie *Subulina octona* numa sessão de 24 horas de observação do comportamento. (EXP – Explorar; DV – Deslocamento vertical; DH – Deslocamento horizontal; INT – interação, ENT – enterrar, CA – comportamento agregativo) (\* - indica diferença significativa em relação ao grupo controle de acordo com o teste de Mann-Whitney).  
Fonte: Do autor

Resultados semelhantes foram obtidos por Afonso-Neto (2003) quando verificou que o látex de *Euphorbia cotinifolia* L. (Euphorbiaceae) estimulou o deslocamento vertical em *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835), comportamento pouco freqüente para essa espécie. O deslocamento vertical faz parte do repertório comportamental de *S. octona* (PAULA, 2003), e pode favorecer a sobrevivência do molusco ao tratamento com substâncias moluscicidas, pois permite que o animal se afaste do local de aplicação do produto. Dessa forma, a execução desse comportamento representa uma forma de escape.

A respeito do comportamento agregativo, Nascimento et al. (2006) também demonstraram que moluscos adultos da espécie *Bradybaena similaris* formaram agregados quando submetidos ao extrato aquoso de *Allamanda cathartica*. O comportamento agregativo de *S. octona* na presença da seiva de *F. foetida* pode estar relacionado à tentativa de diminuir os efeitos da substância, uma vez que foi observada grande quantidade de muco sendo produzido durante a aplicação da seiva.



De acordo com Cook (1992) o comportamento agregativo pode estar relacionado à economia de água. Em *S. octona* também pode ser uma estratégia para encontrar parceiros sexuais ou para resistir à dessecação (D'ÁVILA; DIAS; BESSA, 2006).

A partir dos resultados obtidos nesse trabalho verificou-se que a seiva de *F. foetida* na concentração de 5% (T2) alterou o repertório comportamental de *S. octona*. Já na concentração de 0,5% (T1) não houve alteração no repertório comportamental. Porém, a frequência de realização do comportamento agregativo e do deslocamento vertical foram mais significativos em função da ação repelente da seiva nessa concentração.

## 5 CONCLUSÃO

A utilização de substâncias moluscidas é uma alternativa para controlar a população de moluscos e, ao mesmo tempo, interromper o ciclo biológico de helmintos parasitos. Os produtos de origem vegetal podem ser mais vantajosos, por serem biodegradáveis, de fácil aplicação e com ação seletiva.

No entanto, a eficácia de uma substância moluscida depende também do conhecimento de aspectos biológicos e etológicos dos moluscos para que se possa controlá-los. Esses animais exibem comportamentos, como retração na concha, enterramento, produção de muco, deslocamento vertical e comportamento agregativo, que permitem sua sobrevivência ao tratamento com substâncias moluscidas.

Neste estudo verificou-se que a seiva de *F. foetida* atuou como ovicida e moluscida. É importante ressaltar que a atividade moluscida foi diferencial nos testes com e sem substrato. Isso porque, o substrato confere sítios de proteção e abrigo para os moluscos, funcionando como uma barreira aos moluscidas.

Também pôde-se verificar que na concentração de 0,5% a seiva alterou a frequência de realização do comportamento agregativo e deslocamento vertical, evidenciando sua ação repelente. A repelência pode ter um efeito desejável em culturas anuais, onde o produtor precisa afastar os moluscos temporariamente. Mas, ao mesmo tempo, pode ser prejudicial, pois se a espécie for exótica, ao se afastar, irá competir com as espécies nativas podendo haver um processo de exclusão competitiva.

Diante dos resultados apresentados pode-se considerar a seiva de *F. foetida* como promissora no controle de moluscos. Pois além da sua eficácia em laboratório, a planta é nativa, com ampla distribuição e sua seiva de fácil extração.

## REFERÊNCIAS

ABDEL-GAWAD, M. N.; EL-SAYDE, M. M. ; ABDEL-HAMEED, E. S. Molluscicidal steroidal saponins and lipid content of *Agave decipiens*. **Fitoterapia**, Milano, v.70, p. 371-381, august, 1999.

AFONSO-NETO, I. S. **Atividade moluscicida e repelente do látex de três espécies de *Euphorbia* (Euphorbiaceae) sobre *Leptinaria unilamellata* d'Orbigny, 1835 (Gastropoda – Subulinidae)**. 2003. 54f. Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2003.

ALFONSO, M. et al. Plantas molusquicidas de Cuba y su utilización. **Revista de Protección Vegetal**, Habana , v. 15, n. 2, p. 118-124, 2000.

ALICATA, J. E. The life cicle of *Postharmostomum gallinum* the cecal fluke of poultry. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 26, n°2, p. 135-143, 1940.

\_\_\_\_\_. Parasitic infections of man and animals in Hawaii. **Agricultural Experiment Station University of Hawaii Technical Bulletin**, Hawaii, v.61, p. 1-138, 1964.

ALMEIDA, M. N.; BESSA, E. C. A. Estudo do crescimento e da reprodução de *Bradybaena similaris* (Mollusca, Xanthonychidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 18, n. 4, p. 1115-1122, dez., 2001.

ALMEIDA, Y. M. et al. Avaliação da atividade moluscicida de 32 plantas do Nordeste Brasileiro. **Revista de Medicina da Universidade Federal do Ceará**, Fortaleza, v. 25, n. 1/2, p. 71-79, 1987.

ALTMANN, J. Observatinal study of behaviour: Sampling methods. **Behaviour**, Leiden, v. 49, p. 227-267, 1974.

AMATO, S. B. ; BEZERRA, J. C. B. Parasitismo natural de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) por *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p. 75-79, jan./mar., 1989.

AMORIM, J. P.; PESSOA, S. B. Experiência de alguns vegetais como moluscicida. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, Brasília, v. 14, p. 255-260,1962.

ANDERSEN, E. et al. First report of *Angiostrongylus cantonensis* in Puerto Rico. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 35, n° 2, p. 319-322, 1986.

ARAÚJO, J. L. B. **Alguns moluscos terrestres como hospedeiros intermediários de parasitas de animais domésticos, no Brasil: estudos sobre a anatomia, sistemática e participação em helmintos**. 1982. 103f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1982.

ARCHIBALD, R.G. The use of the fruit of tree *Balanites aegyptiaca* in the control of schistosomiasis in the Sudan. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 27, n°2, p. 207-210, 1933.

ASH, L. R. Helminth parasites of dogs and cats in Hawaii. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v.48, n°1, p. 63-65, 1962.

BESSA, E. C. A.; ARAÚJO, J. L. B. Ocorrência de autofecundação em *Subulina octona* (Bruguière) (Pulmonata, Subulinidae) sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 12, n. 3, p. 719-723, 1995 a.

\_\_\_\_\_. Ovoposição, Tamanho de ovos e medida do comprimento da concha em diferentes fases do desenvolvimento de *Subulina octona* (BRUGUIÈRE, 1789) (PULMONATA, SUBULINIDAE) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 12, n. 3, p. 647-654, 1995 b.

BESSA, E. C. A. et al. Desenvolvimento biológico de *Angiostrongylus vasorum* (Baillet) Kamensnky (Nematoda, Angiostrongylidae) em *Subulina octona* Bruguière (Molusca, Subulinidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 29-41, 2000.

BONFIM, T.C. B. et al. Toxidez seletiva do extrato etanólico bruto de *Capsicum baccatum* L. sobre *Biomphalaria glabrata* Say e *Biomphalaria tenagophila* Orbigny. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 4, n. 2, p. 55-59, 2002.

BRACKENBURY, T. D.; APPLETON, C. C. A comprehensive evaluation of *Agave attenuata*, candidate plant molluscicide in South Africa. **Acta Tropica**, Basel, v. 68, p. 201-213, 1997.

CASIERRA-POSADA, F.; PÉREZ, W. A.; PORTILLA, F. Relaciones hídricas y distribución de materia seca en especies de fique (*Furcraea sp.* Vent.) cultivadas bajo estrés por NaCl Water relations and dry matter partitioning of NaCl stressed furcraea species (*Furcraea sp.* Vent.). **Agronomía Colombiana**, Bogotá, v. 24, n. 2, p. 280-289, 2006.

CHEVALIER, L. et al. Influence of the quinolizidine alkaloid content of *Lupinus albus* (Fabaceae) on the feeding choice of *Helix aspersa* (Gastropoda, Pulmonata). **Journal of Molluscan Studies**, London, v. 66, p. 61-68, 2000.

CONSOLI, R. A. G. B. Influência de diversos derivados de vegetais na sobrevivência das larvas de *Aedes fluviatilis* (Lutz) (Díptera: Culicidae) em laboratório. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 83, p.87-93, jan./mar., 1988.

COOK, A. The function of trail following in the pulmonate slug, *Limax pseudoflavus*. **Animal Behaviour**, Netherlands, v. 43, p. 813-821. 1992.

COURA, J. R. Control of Schistosomiasis in Brazil: Perspectives and proposals. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p. 257-260, mar./apr., 1995.

D'ÁVILA, S. et al. Resistência a dessecação de três espécies de moluscos terrestres: Aspectos adaptativos e significado para o controle de helmintos. **Revista Brasileira de Zoociências**, Juiz de Fora, v. 6, n. 1, p. 115-127, jul., 2004.

D'ÁVILA, S.; BESSA, E. C. A. Influência do substrato sobre a reprodução de *Subulina octona* (Bruguière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 22, n. 1, p. 197-204, março, 2005 a.

\_\_\_\_\_. Influência de diferentes substratos sobre o crescimento e o número de ovos produzidos por *Subulina octona* (Bruguière) (Mollusca, Subulinidae), sob condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 22, n. 2, p. 349-353, junho, 2005 b.

D'ÁVILA, S., DIAS, R. J. P.; BESSA, E. C. A.. Comportamento agregativo em *Subulina octona* (Bruguière) (Mollusca, Subulinidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, Curitiba, v. 23, n. 2, p. 357-363, junho, 2006.

DUCAN, J. A review of the development and application of molluscicides, in schistosomiasis control. In: Cheng, T.C. **Molluscicides in schistosomiasis control**, London: Academic Press, 1974. p. 9-40.

FERRER, J. R.; DIAZ, R. Estúdio de la actividade molusquicida de diferentes plantas sobre *Biomphalaria havanensis* hospedeiro intermédio potencial de esquistosomiasis em Cuba. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, Habana, v.45, p.118-12, 1994.

FRANCIS, G. et al. The biological action of saponins in animal systems: a review. **British Journal of Nutrition**, London, v. 88, p. 587-605, 2002.

FURTADO, M. C. V.; BESSA, E. C. A.; CASTAÑON, M. C. M. Hystological characterization of ovotestis of *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xantonychidae) in different developmental phases, kept isolated or in groups, under laboratorial conditions. **Revista Brasileira de Zoociências**, Juiz de Fora, v. 4, n. 2, p. 229-300, jul., 2002.

GARCES, R. A.; LOPEZ, J. F. Efecto de las dosis letales de plantas de la familia Agavaceae sobre la actividad cardíaca y la oviposición de *Biomphalaria havanensis* (Mollusca: Planorbidae). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, Habana, v. 48, n. 1, ene./apr., 1996.

HODASI, J. K. M. Life story studies of *Achatina (Achatina) achatina* (Linné). **Journal of Molluscan Studies**, London, v. 45, p. 328-339, 1979.

\_\_\_\_\_. The effects of different lighth regimes on the behaviour and biology of *Achatina (Achatina) achatina* (Linné). **Journal of Molluscan Studies**, London, v. 48, p. 283-293, 1982.

ITABASHI, M. et al. A new biactive steroidal saponin, furcreastantin, from the plant *Furcraea foetida*. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 323, p. 57-62, 2000.

JURBERG, P.; VASCONCELOS, M. C.; MENDES, N. M. Plantas empregadas como moluscidas: uma visão crítica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 1, p. 76-83, outubro, 1989.

LEAHY, W. Comportamento e características anatomofuncionais da reprodução em *Bradybaena similaris* (Molusco pulmonado). **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 36, n.8, p. 1389-1392, agosto, 1984.

MALDONADO, J.F. The life cicle of *Tamerlania bragai* Santos, 1934 (Eucotylidae) a kidney fluke of domestic pigeons. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 31, n. 5, p. 306-314, 1945.

MENDES, N. M. et al. Screening os Asteraceae (Compositae) plant extacts for moluscicidal Activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 3, p. 411-412, may/jun., 1999

- MENDES, N. M. et al. Atividade moluscicida de alguns produtos naturais sobre *Biomphalaria glabrata*. **Memória do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 81, n. 1, p. 87-91, jan./mar., 1986.
- NASCIMENTO, C. A. A. et al. Efeito do extrato aquoso de folhas de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xanthonychidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zociências**, Juiz de Fora, v. 8, n. 1, p. 77-82, abril, 2006.
- PANIGRAHI, A.; RAUT, S. K. On the safe use of pesticides in controlling the terrestrial mollusc pests. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, n. 2, p. 293-297, abr./jun., 1993.
- \_\_\_\_\_. *Thevetia peruviana* (Family: Apocynaceae) in the Control of Slug and Snail Pests. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 89, n. 2, p. 247-250, apr./jun., 1994.
- PAULA, S. D. O. **Influência do substrato sobre o ciclo de vida e o comportamento de *Subulina octona* (Brugüere, 1789) (Mollusca, Subulinidae) em condições de laboratório.** 2003. 106 f. Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal)- Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2003.
- PEREIRA, J. P.; SOUZA, C. P. Ensaio preliminares com *Anacardium occidentale* como moluscicida. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 26, n. 11, p. 1054-1057, novembro, 1974.
- PIERI, O.; JURBERG, P. Aspectos etológicos na sobrevivência dos caramujos vetores da xistosomose ao tratamento com moluscicidas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 76, n. 1, p. 44-55, jan./mar., 1981.
- PINTO, C.; ALMEIDA, A. F. Um novo método para a profilaxia da esquistossomose mansônica. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 3, p. 291-311, jun., 1944.
- PIZARRO, A. P. B. et al. O aproveitamento do resíduo da indústria do sisal no controle de larvas de mosquitos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Brasília, v. 31, p. 23-29, jan./fev., 1999.
- PIZARRO, A. P. B. Utilização do extrato de *Agave americana* L. no controle de *Boophilus microplus*. **Veterinária Notícia**, Uberlândia, v. 4, n.1. 1998.

RAUT, S. K. ; PANIGRAHI, A. Feeding rhythm in the garden slug *Laevicaulis alte* (Soleolifera: Veronicellidae). **Malacological Review**, Michigan, v. 23, p. 39-46,1990.

RAUT, S. K.; RAHMAN, M. S.; SAMANTA, S. K. Influence of temperature on survival, growth and fecundity of the freshwater snail *Indoplanorbis exutus* (Deshayes). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 1, p. 15-19, jan./mar., 1992.

RITCHIE, L.S. Chemical control of snails. In: ANSSARI, N. **Epidemiology and control of schistosomiasis**. Basel: S. Karger , 1973. p.485-532.

ROLLO, C. D. Endogenous and exogenous regulation of activity in *Deroceras reticulatum*, a weather-sensitive terrestrial slug. **Malacologia**, Ann Arbor, v. 33, p. 199-220,1991.

SANTIAGO, G. M. P. et al. 2005. Avaliação da atividade larvicida de saponinas triterpênicas isoladas de *Pentaclethra maculosa* (Willd.) Kuntze (Fabaceae) e *Cordia piauhiensis* Frezen (Boraginaceae) sobre *Aedes aegypti*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, São Paulo, v. 15, n. 3, p. 187-190, jul./set., 2005.

SANTOS, P. F. **Influência da cafeína e do timol sobre a sobrevivência, o crescimento e a reprodução de três espécies de moluscos terrestres, sob condições de laboratório**. 2005. 116f. Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal)- Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2005.

SCHENKEL, E. P., GOSMANN, G.; ATHAYDE, M. L. Saponinas. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Ed. UFSC, 2004. p.711-740.

SINGH, S.; SINGH, D. K. Molluscicidal activity of *Nerium indicum* Bark. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 31, n° 7, p. 951-954, july, 1998.

SMITH, D. B.; RODDICK, J. G.; JONES, J. L. Synergism between the potato glycoalkaloids  $\alpha$ -chaconine and  $\alpha$ -solanine in inhibition of snail feeding. **Phytochemistry**, New York, v. 57, p. 229-234, 2001.

SOUZA, C. P. et al. Quimioprofilaxia da esquistossomose: atividade moluscicida de produtos naturais – ensaios com caramujos adultos e desovas. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 56, n. 3, p. 333-338, 1984.



SOUZA, C. P. et al. Atividade moluscicida do extrato butílico de *Phytolacca dodecandra* (Endod) sobre *Biomphalaria glabrata*.. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 82, n. 3, p. 345-349, jul./set., 1987.

SOUZA, C. V.; LORENZI, H. **Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. São Paulo: Nova Odessa, 2005.

SOUZA, H. E. **Atividade moluscicida e fagoïnibidora da cafeína e do timol sobre três espécies de moluscos gastrópodes em condições de laboratório**. 2003. 45f. Dissertação (Mestrado em Comportamento e Biologia Animal)- Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, 2003.

SOUZA, M. P.; ROUQUAYROL, M. Z. Atividade moluscicida de plantas do Nordeste Brasileiro. **Revista Brasileira de Pesquisas Médicas e Biológicas**, Ribeirão Preto, v. 7, n. 4, p. 389-393, 1974.

STURROCK, R. F. Current concepts of snail control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 90, n. 2, p. 241-248, mar./apr., 1995.

WAGNER, V. A. The possibility of eradicating billarzas by extensive planting of the tree *Balanites*. **South African Medical Journal**, Cape Town, v. 10, p. 10-11, 1936.