

UNIVERSIDADE DO VALE DO RIO DOS SINOS – UNISINOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIVERSIDADE E MANEJO DE
VIDA SILVESTRE
NÍVEL MESTRADO

DANIELA DA COSTA E SILVA

BIOPROSPECÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE
Pomacea canaliculata (LAMARCK, 1804)

SÃO LEOPOLDO

2017

DANIELA DA COSTA E SILVA

**BIOPROSPECÇÃO DE AGENTES DE CONTROLE BIOLÓGICO DE
Pomacea canaliculata (LAMARCK, 1804)**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biologia, pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia da Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS

Área de concentração: Diversidade e Manejo de Vida Silvestre

Orientador: Prof. Dr. Uwe Horst Schulz

SÃO LEOPOLDO

2017

S586b Silva, Daniela da Costa e.
Bioprospecção de agentes de controle biológico de
Pomacea canaliculata (LAMARCK, 1804) / Daniela da
Costa e Silva. – 2017.
41 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Rio dos
Sinos, Programa de Pós-Graduação em Biologia, 2017.
“Orientada: Prof. Dr. Uwe Horst Schulz”.

1. Pragas agrícolas – Controle biológico 2. Arroz – Doenças e
pragas. 3. Produtos químicos agrícolas. I. Título.

CDU 632.937

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(Bibliotecária: Carla Maria Goulart de Moraes – CRB 10/1252)

Dedico esta dissertação a todos que acreditaram em mim e que estiveram comigo nesta jornada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a minha mãe que é meu exemplo de força e dedicação, que me ensinou a nunca desistir e a sempre correr atrás dos meus sonhos por mais difíceis que eles sejam.

Ao meu namorado Felipe Augusto Martini, pela paciência nos momentos de loucura, por estar sempre disposto a me levar para UNISINOS e me ajudar nas cansativas e encharcadas coletas de caramujo.

A Capes/Prosup pela concessão da bolsa de mestrado, possibilitando desenvolver este trabalho. A todos os professores que contribuíram para a formação de conhecimento em cada disciplina, aos que participaram da banca de qualificação e do seminário I pelas contribuições essenciais para finalização desta dissertação.

A Dra. Lidia Mariana Fiuza por todos os ensinamentos, dedicação e atenção, que mesmo longe fez-se presente em todos os momentos necessários. Também a Dra. Neiva Knaak e a Dra. Diouneia Lisiane Berlitz que sempre foram prestativas em todas as dúvidas que surgiram no decorrer do projeto.

A auxiliar de laboratório Irene Olkoski, que sempre me ajudou na preparação e organização de material em todos os bioensaios realizados no Laboratório de Microbiologia.

Ao Instituto Riograndense do Arroz (IRGA), pelo apoio técnico e financeiro no desenvolvimento do projeto, e um agradecimento em especial a Dra. Danielle Almeida e ao Dr. Jaime Vargas pela atenção, e principalmente pela coleta de caramujos.

E o meu mais especial agradecimento para o meu orientador professor Dr. Uwe Horst Schulz pela confiança, dedicação, pela compreensão de todos os momentos, pelos ensinamentos, por ter aceitado me orientar apesar das dificuldades e por além de ser meu orientador se tornou um grande amigo.

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação é pré-requisito para a obtenção do título de Mestre em Biologia pela Universidade do Vale do Rio dos Sinos, está organizada em dois capítulos em formato de artigo científico objetivando facilitar a publicação dos resultados obtidos neste estudo. O manuscrito obedece às normas da ABNT para artigos científicos facilitando assim sua posterior publicação em uma revista científica.

O escopo do estudo foi selecionar bioprodutos, bem como avaliar em bioensaios o potencial moluscicida para biocontrole de *Pomacea canaliculata*.

SUMÁRIO

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUÇÃO GERAL | 3 |
| 1.1 Produção de arroz | 4 |
| 1.2 Uso de agrotóxicos | 5 |
| 1.3 <i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1804) | 7 |
| 1.4 Extratos vegetais | 8 |
| 1.5 <i>Melia azedarach</i> L. | 10 |
| 1.6 <i>Azadirachta indica</i> A. Juss | 10 |
| 1.7 <i>Bacillus thuringiensis</i> (Berliner, 1915) | 11 |
| 2. REFERÊNCIA | 12 |
| 3. Potencial de <i>Melia azedarach</i> L., <i>Azadirachta indica</i> A. Juss e <i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner no controle de <i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1804) | 21 |
| RESUMO | 21 |
| ABSTRACT | 22 |
| 3.1 INTRODUÇÃO | 23 |
| 3.2 MATERIAL E MÉTODOS | 24 |
| 3.2.1 Coleta, identificação e manutenção dos caramujos | 24 |
| 3.2.2 Obtenção do material vegetal e preparação dos extratos aquosos | 25 |
| 3.2.3 Obtenção do <i>Bt</i> | 25 |
| 3.2.4 Ensaios | 26 |
| 3.2.4.1 Testes preliminares | 26 |
| 3.2.4.2 Testes moluscidas | 26 |
| 3.2.5 Análise de dados | 28 |
| 3.3 RESULTADOS | 29 |
| 3.4 DISCUSSÃO | 31 |
| 3.5 CONCLUSÃO | 34 |
| 3.6 REFERÊNCIAS | 35 |

1. INTRODUÇÃO GERAL

O arroz está entre os cereais mais consumidos em todo o mundo, e o Brasil está entre os 10 maiores produtores mundiais, contabilizando uma produção de 12,432 milhões de toneladas em 2015. A safra gaúcha é fundamental no crescimento produtivo do arroz, sendo atualmente o maior produtor, responsável por 68% da produção nacional (MAPA, 2016).

Diversos são os fatores que afetam a produção do arroz irrigado, e estima-se que a perda decorrente de pragas agrícolas possa chegar a 80%, dependendo do cultivo e manejo da lavoura (PATERNIANI, 2001).

O fato do sistema de inundação criar imensos espelhos de água em áreas de várzea, aliada a condições favoráveis de clima e manejo da cultura, proporciona condições favoráveis para a criação de muitos organismos vivendo associados, inclusive diversas pragas (PICANÇO *et al.*, 1999).

Entre as pragas que trazem danos econômicos à produção do arroz, o caramujo *Pomacea canaliculata*, destaca-se como o mais prejudicial. Ocorre predominantemente nas lavouras, tornando-se uma praga devastadora nas monoculturas de zonas úmidas, causando grandes danos a produção, bem como para a diversidade e funcionamento do ecossistema (HICKEL & SCHEUERMANN, 2008).

Os caramujos utilizam como “porta de entrada” os canais de irrigação, e passam a alimentar-se das plântulas de arroz, podendo provocar perda de até 90% em apenas dois dias de infestação (BRITO, 2015).

Embora os praguicidas sintéticos sejam o principal meio de proteção às culturas, o controle da espécie torna-se problemático, pois não há produtos licenciados, nem tampouco recomendados para a cultura, ocasionando aplicações de produtos não recomendados, gerando preocupações em relação a produtos de baixa seletividade e que afetam principalmente organismos não-alvos (MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005).

O aumento da área cultivada de arroz intensifica o uso de agrotóxicos, causando preocupações sobre o destino destes produtos nos mananciais hídricos e sobre a utilização de águas contaminadas no consumo humano (SILVA *et al.*, 2011).

Com isso, a procura por métodos alternativos vem despertando o interesse de diversos estudos, visando a pesquisa de substâncias vegetais que possam ser utilizadas no desenvolvimento de produtos mais econômicos, biodegradáveis, seguros e disponíveis localmente para o controle das populações de caramujos (SILVA *et al.*,

2008). Neste contexto, as plantas da família Meliaceae atualmente são as mais exploradas para uso no controle biológico de pragas.

A família Meliaceae apresenta diversos compostos secundários, que são encontrados em várias partes das plantas, entre eles a azadiractina, um limonóide com baixa toxicidade ambiental que apresenta diferentes modos de ação biológico (SALLES & RECH, 1999).

Dentre as bactérias utilizadas no controle biológico, *Bt* é responsável por 90-95% do mercado de bioinseticidas. Apresentam ampla distribuição, podendo ser encontradas em diversos tipos de ambientes. Produzem proteínas tóxicas, denominadas cristais, na qual são altamente específicas para controlar diferentes espécies de praga (PRAÇA *et al.*, 2004).

Levando em conta que *P. canaliculata* é considerada uma das pragas que interferem no processo produtivo orizícola, podendo causar danos significativos à produção e que até o momento não se encontram produtos registrados no mercado para controle de caramujo, o objetivo do trabalho é realizar uma seleção de substâncias ativas, com potencial de uso como agentes de biocontrole.

1.1 Produção de arroz

Um dos maiores sistemas agrícolas mundiais, ocupando o segundo lugar no *ranking* de alimentos produzidos, é a cadeia produtiva do arroz. Na qual constitui-se por sete espécies: *Oryza barthii*, *Oryza glaberrima*, *Oryza latifolia*, *Oryza longistaminata*, *Oryza punctata*, *Oryza rufipogone* e *Oryza sativa* (BRITO, 2015).

O arroz é considerado a base alimentar de mais de três bilhões de pessoas em todo o mundo, sendo um dos alimentos mais importantes para a nutrição humana. É o segundo cereal mais cultivado no mundo, ocupando área aproximada de 158 milhões de hectares. A produção de cerca de 662 milhões de toneladas de grãos em casca corresponde a 29 % do total de grãos usados na alimentação humana (MEYER, 2013).

Existem três tipos principais de ecossistemas de arroz: terras altas, várzeas úmidas e irrigado por inundação. Dentre eles, o sistema de produção de arroz irrigado por inundação é o mais expressivo, representando 80% do arroz produzido no mundo, responsável por aproximadamente 93% da produção total (BARRIGOSI *et al.*, 2004).

Os sistemas de cultivos utilizados na cultura do arroz irrigado nos estados do Rio Grande do Sul diferenciam-se, basicamente, quanto à forma e época de preparo do solo,

aos métodos de semeadura e ao manejo inicial. Os principais sistemas utilizados são o convencional (utilizado em áreas novas ou quando o clima não permite o preparo antecipado da lavoura), cultivo mínimo (preparo antecipado do solo e semeadura direta e sobre as curvas de níveis), plantio direto (pouco utilizado, devido a experiências fracassadas pelo uso inadequado da ferramenta) e pré-germinado (semeadura de sementes pré-germinadas em áreas sistematizadas - terreno com nível constante), coberta com uma lâmina de água entre 10 e 15cm, que será drenada tão logo as sementes do arroz fixem sua radícula ao solo (CONAB, 2015).

O Brasil, com uma produção anual entre 11 e 13 milhões de toneladas de arroz nas últimas safras, participa com 79,3% da produção do Mercosul (na média de 2008/09 até 2014/15), seguido pelo Uruguai, Argentina e, por último, o Paraguai, que já representa mais de 2,5% do total produzido pelo bloco (SOSBAI, 2014).

O Brasil tem uma posição mundialmente importante. Tendo em vista que, é o país que mais produz fora do continente asiático e que detém mais de 50% da produção da América Latina. O cultivo orizícola brasileiro está concentrado na Região Sul (BRITO, 2015).

O Rio Grande do Sul se destaca como o maior produtor nacional, sendo responsável por mais de 61% do total produzido no Brasil, seguido por Santa Catarina com produção de 8 a 9%. Esse grande volume produzido nos dois estados sulinos, totalizando cerca de 70%, é considerado estabilizador para o mercado brasileiro e garante o suprimento desse cereal à população brasileira (SOSBAI, 2014).

1.2 Uso de agrotóxicos

Ao longo das últimas décadas, com o aumento de área cultivada e do uso de agrotóxicos, intensificou-se a preocupação com o destino destes no ambiente. Os mananciais hídricos, tanto superficiais quanto subterrâneos, estão expostos aos agrotóxicos aplicados em áreas agrícolas e não agrícolas. Nos cultivos de monoculturas, como, normalmente, ocorre com a cultura do arroz, a contaminação das águas subterrâneas por agrotóxicos ocorre de forma difusa, o que a torna mais difícil de ser identificada e controlada (SILVA *et al.*, 2011).

A tendência dos agrotóxicos estarem presentes em águas subterrâneas é a sua acumulação, uma vez que esse ambiente é considerado recalcitrante, ou seja, não existem condições favoráveis para a degradação das moléculas em função de baixas

temperaturas, falta de oxigênio, baixa atividade dos micro-organismos e ausência de luminosidade. Dentre os problemas de contaminação das águas subterrâneas por agrotóxicos destaca-se o fato de ser utilizada para consumo humano, o que poderá acarretar sérios problemas de saúde pública (SILVA *et al.*, 2011).

O Brasil é o segundo maior produtor de alimentos do mundo, atrás apenas dos Estados Unidos, mas é o primeiro no que diz respeito ao consumo de agrotóxicos. Na safra de 2013/2014, foram utilizados cerca de 1 bilhão de litros, o que gera uma média de 5 litros de agrotóxicos por habitante (EBC, 2016).

Os agrotóxicos utilizados no Brasil são classificados de acordo com sua finalidade, sendo definidos pelo seu mecanismo de ação no alvo biológico, sendo os mais comuns, plantas daninhas, doenças e pragas de espécies agrícolas cultivadas. Neste mercado, os herbicidas (48%), inseticidas (25%) e fungicidas (22%) movimentam 95% do consumo mundial de agrotóxicos (PERES, 1999).

No sistema de plantio pré-germinado, os agroquímicos são aplicados diretamente na lâmina de água, seja a lanço (fertilizantes nitrogenados e inseticidas granulados) ou em benzedura (inseticidas e herbicidas aspergidos na lamina d'água). Esta modalidade de aplicação é amplamente utilizada pelos produtores de arroz devido à praticidade, baixo custo e pela viabilidade de aplicação com pulverizadores costais em pequenas propriedades (EPAGRI, 1998).

A implementação do sistema pré-germinado em lavouras de arroz irrigado, no Rio Grande do Sul e Santa Catarina, tem aumentado a demanda pela aplicação de herbicidas, inseticidas e fungicidas. Trabalhos realizados por Deschamps *et al.* (2003), em seis bacias no Estado de Santa Catarina, demonstram que alguns parâmetros, como o fosfato e a turbidez, ultrapassaram os limites máximos estabelecidos pela resolução do CONANA 357/2005 (MOLOZZI *et al.*, 2006).

Uma vez na água, dependendo das características físico-químicas, seus resíduos podem tanto se ligar ao material particulado em suspensão, quanto se depositar no sedimento do fundo ou ser absorvido por organismos, podendo então ser detoxicados ou acumulados. Além disso, podem ser transportados através do sistema aquático por difusão nas correntes de água ou nos corpos dos organismos aquáticos, ou até mesmo retornar à atmosfera por volatilização. Desta forma há uma interação contínua dos agroquímicos entre sedimento e água, influenciada pelo movimento da água, turbulência e temperatura (NIMMO, 1985).

1.3 *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1804)

Entre as pragas que reduzem ou trazem danos econômicos à produção do arroz, destacam-se: pássaros (pássaro-preto: *Agelaius ruficapillus*), insetos (lagarta-da-folha, gorgulho-aquático, percevejo-do-colmo, percevejo-do-grão) e os moluscos. Estes últimos tornaram-se importantes pragas do arroz pré-germinado e também do sistema irrigado, sendo a espécie *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) a mais prejudicial (PADRÓN & LENHARD, 2011).

Os caramujos entram nas lavouras por meio da captação da água em ambientes naturais, podendo permanecer nas lavouras por vários dias em condições de estiva. Com o crescimento do arroz, passam a alimentar-se das plântulas, causando danos significativos a cultura. A espécie torna-se ativamente mais voraz quando atinge o tamanho de 1,5 a 3,0 centímetros, podendo atingir grandes densidades populacionais (BRITO, 2015).

As espécies do gênero *Pomacea* distribuem-se por quase toda a Região Neotropical, geralmente habitando águas de curso lentas e estagnadas, popularmente conhecidas como aruá-do-banhado ou caramujo-do-arroz (BARBOSA, 1995; BRITO, 2015).

A distribuição nativa de *P. canaliculata* é basicamente tropical e subtropical, incluindo Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai e Brasil (COWIE & THIENGO, 2003). Apresentam concha de tamanho médio e grande, de coloração castanho esverdeada ou amarelada, ornamentada com faixas espirais escuras; espira geralmente curta; umbílico presente, às vezes, bem desenvolvido; abertura oval ou arredondada, lábio geralmente simples; opérculo córneo (BARBOSA, 1995).

Considerado uma das mais importantes pragas agrícolas nas lavouras de arroz de muitos países, *P. canaliculata* também é classificada no ranking das 100 espécies mais invasivas do mundo, e reconhecida como praga agrícola severa com maior frequência de ocorrência no Rio Grande do Sul (BRITO, 2015).

Apesar de aquático e possuir brânquias, este caramujo também possui respiração pulmonar e necessita ir à superfície para renovar o ar dos pulmões (JOSHI & SEBASTIAN, 2006). Este duplo sistema respiratório permite a sobrevivência em águas estagnadas, além de possibilitar que a postura seja feita fora d'água, onde as massas de

ovos ficam protegidas de possíveis inimigos naturais aquáticos (YUSA, 2009). Estas e outras características morfo-fisiológicas e comportamentais proporcionam aos indivíduos ampla plasticidade ecológica, o que torna a espécie uma das mais perigosas quando da invasão de novos ambientes (ESTEBENET & MARTIN, 2002; JOSHI & SEBASTIAN, 2006; CAZZANIGA, 2009).

Um dos mais interessantes aspectos da biologia de *P. canaliculata*, é a sua capacidade de hibernação. Neste processo, o animal se enterra na lama por vários centímetros de profundidade, se retrai em sua casca, a qual fecha firmemente com o opérculo e minimiza todas as funções corporais. Nesta condição pode permanecer de 4 a 5 meses até que as condições ambientais tornam-se favoráveis. (ARCARÍA *et al.*, 2011).

Como esse molusco tem uma grande capacidade reprodutiva, há poucas informações sobre os produtos químicos registrados para o seu controle. Portanto, os métodos tradicionais, além de não serem seletivos aumentam as chances de contaminação biótica e abiótica o que os torna não recomendados (HAYES *et al.*, 2012).

1.4 Extratos vegetais

Atualmente, os extratos de plantas surgem com o objetivo de pesquisa, e vem sendo estudados como alternativa no manejo integrado de pragas. A família Meliaceae tem se destacado, tanto pelo número de espécies vegetais, como pela eficiência de seus extratos no controle de diversas pragas (ROEL *et al.*, 2000).

Moluscidas vegetais visam atender às exigências econômicas e ecológicas por apresentam ação seletiva, são biodegradáveis, de baixo custo, localmente viáveis e de fácil aplicação, diferentemente dos moluscidas sintéticos que são onerosos e ainda podem acarretar problemas a organismos não-alvos (WHO, 1983).

Atualmente, os moluscidas derivados de plantas ganharam espaço, por serem produtos naturais, são ecologicamente menos prejudiciais e mais aceitáveis do que produtos sintéticos (SINGH & SINGH, 2005).

Os inseticidas botânicos apresentam vantagens quando comparados aos produtos sintéticos, principalmente por serem de fácil obtenção e uso, apresentam baixa persistência no ambiente (GALLO *et al.*, 2002), além de colaborar com a redução dos custos da produção (ROEL, 2002).

Há diversas formas de se utilizar as plantas, sendo mais comum o seu emprego na forma de pós secos, óleos e extratos aquosos ou orgânicos (metanólico, alcoólico, butanólico, clorofórmico, hexânico etc.). Os pós e extratos aquosos, por serem de fácil obtenção e aplicação, constituem-se na melhor opção para o agricultor de baixa renda, que normalmente não dispõe de recursos econômicos e técnicos para aquisição e aplicação dos produtos sintéticos (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000).

Segundo Marston & Hostettman (1985) e Mott (1987), as condições para que uma planta seja viável como moluscicida são as seguintes:

- A atividade moluscicida deve ser elevada. O extrato bruto obtido de qualquer um dos componentes deve ter atividade a uma concentração menos do que 100 ppm.
- A planta em questão deve ter crescimento abundante ou ser de fácil cultivo. Preferencialmente, devem ser utilizadas as flores e folhas. As cascas devem ser evitadas, pois levam à destruição da planta.
- A extração dos constituintes ativos em água é mais vantajosa, principalmente se for levado em conta o custo dos solventes orgânicos e do equipamento utilizado na extração, que pode tornar-se difícil nos programas de controle.
- Os procedimentos de aplicação devem ser simples e seguros, e as formulações e estocagem, de fácil execução.
- O extrato de planta moluscicida deve possuir baixa toxicidade, para os organismos não-alvos (incluindo humanos).

As espécies mais promissoras para serem usadas como plantas inseticidas pertencem a família Meliaceae, na qual estão *Melia azedarach* L. e *Azadirachta indica* A. Juss (TORRES, *et al.*, 2001).

Apesar do potencial que representa, ainda são poucos os resultados de pesquisas recomendado o uso de extratos vegetais no controle de pragas, no Brasil. Em virtude da importância e das limitações econômicas, ecológicas e toxicológicas para o uso de produtos químicos, a utilização de extratos de plantas apresenta-se como importante método alternativo no controle de *P. canaliculata* (TORRES, *et al.*, 2001).

O emprego de plantas com propriedades pesticidas favorece o pequeno produtor pelo menor custo (MAZZONETTO & VENDRAMIM, 2003), facilidade de utilização e preservação do ambiente.

1.5 *Melia azedarach* L.

A espécie *Melia azedarach*, popularmente conhecida como cinamomo, pára-raios ou santa bárbara é uma árvore caducifólia originária da Índia e da China, amplamente cultivada ou de ocorrência subespontânea na região sul e sudeste do Brasil, sendo muito utilizada como árvore de sombra (LORENZI *et al.*, 2003).

Uma de suas principais características é a alta produção de folhas e frutos (BURKS, 1997). Constitui a espécie mais promissora de utilização dentro da família Meliaceae, por apresentar ampla adaptação, crescimento rápido, com produção abundante e é considerada uma planta com compostos bioativos, apresentando propriedades terapêuticas, inseticidas e tóxicas (MARTINEZ, 2002).

M. azedarach é uma planta que contém substâncias bioativas já comprovadas contra várias pragas. Em 1946, a utilização de extratos de cinamomo já era recomendada para a proteção de culturas contra ataques de gafanhotos no Brasil (LEPAGE *et al.*, 1946).

A bioatividade da *M. azedarach* é atribuída aos limonóides, sobretudo a azadiractina, que possui ação deterrente, classificado como um dos compostos mais promissores extraído de *A. indica* e *M. azedarach*. Os limonóides são tetranotriterpenóides que tem como precursor um triterpeno, que perde quatro carbonos ao originá-lo (LOVATTO, 2012).

Embora menos estudada que *A. indica*, *M. azedarach* também tem sido referida como tendo atividade contra diversas pragas. Várias pesquisas vêm sendo realizadas no Brasil, onde essa tem ampla distribuição geográfica, o que pode favorecer seu emprego como pesticida botânico (BRUNHEROTTO & VENDRAMIM, 2001).

1.6 *Azadirachta indica* A. Juss

A. indica, popularmente conhecida como Nim, trata-se de uma planta pertencente à família Meliaceae, apresenta crescimento rápido, atingindo mais de 10 metros de altura em pouco tempo (FERREIRA, 2013). Originária do continente Asiático, é encontrada na Índia e em regiões tropicais e subtropicais do mundo, como Austrália, África, Ilhas do Pacífico e Américas (PINTO & LANÇAS, 2010). Seu uso tem sido difundido mundialmente no controle de insetos. Na Índia, o Nim é considerado uma planta medicinal, usada há séculos, com propriedades bactericidas, fungicidas,

nematicidas, entre outras, devido aos diversos terpenóides distribuídos nas partes da planta (DEQUECH *et al.*, 2008).

Se destaca como um dos produtos que podem apresentar excelente eficácia no controle de caramujos, por apresentar diversas substâncias com atividade biológica e resultar em menor impacto negativo ao meio ambiente, na qual exibe baixa toxicidade aos organismos não-alvo, baixa persistência no meio ambiente e ação sistêmica (QUINTELA & PINHEIRO, 2004).

Essa planta, cuja principal substância ativa é a azadiractina, é considerada a mais importante e promissora espécie vegetal com atividade pesticida. Os bons resultados obtidos com o Nim têm estimulado estudos com outras meliáceas e diversas outras famílias botânicas no intuito de encontrar novas espécies com atividades contra pragas (VENDRAMIM, 1997).

Os principais efeitos do nim são repelência, inibição alimentar, de crescimento, da biosíntese da quitina e de oviposição, interfere nos hormônios da ecdise e no hormônio juvenil, deformações em pupas e adultos, redução da fecundidade e da longevidade de adultos, inibição de oviposição e mortalidade, podendo afetar tanto por ingestão como por contato (AGUIAR-MENEZES, 2005).

O uso de extratos de nim como controle alternativo de pragas ainda é bastante variável. Há registro de ação sobre mais de 300 espécies. A maior parte dos estudos foi desenvolvido em laboratórios, sendo necessários mais estudos para poder determinar, com maior segurança, quais pragas podem ser controladas, as doses e a frequência de aplicação do produto, bem como o comportamento do mesmo em campo (SCHMUTTERER, 1990).

1.7 *Bacillus thuringiensis* (Berliner, 1915)

O gênero *Bacillus* constitui um grupo homogêneo de bactérias em forma de bastonete, aeróbicas e que produzem esporos. Essa bactéria é considerada ubíqua por ter sido isolada de todas as partes do mundo, de diversos ecossistemas e de diferentes substratos como solo, água, folhas e insetos mortos (RAMOS, 2008).

O *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) é uma bactéria gram-positiva, que pode ser caracterizada pela sua habilidade de formar cristais proteicos durante a fase estacionária e/ou de esporulação (VALICENTE, 2009).

No Brasil, *Bt* é utilizado em cerca de 150.000 ha para o controle de aproximadamente 30 pragas, em diversas culturas. Ocorre em diversos ambientes e é facilmente isolado a partir de diferentes substratos por métodos relativamente simples e eficientes (GLARE & O'CALLAGHAM, 2000). Vem sendo utilizado no controle microbiano há mais de 50 anos pela sua capacidade entomopatogênica, pois produz proteínas com alta toxicidade a diversos organismos (SILVA *et al.*, 2008).

Várias toxinas são produzidas por *Bt* e estas utilizadas no controle de praga. Fosfolipase C, lecitinase ou fosfatidilcolina fosfohidrolase, são enzimas que possuem atividade citolítica ao atuar sobre os fosfolipídeos que formam as membranas de diversos tipos celulares. Estas toxinas são encontradas no sobrenadante de culturas e são altamente tóxica para diversos organismos (MELO & AZEVEDO, 1999).

A produção industrial de *Bt* é realizada por grandes companhias, que dominam o mercado mundial. Mas há produção em pequena escala que favorece o desenvolvimento de tecnologia e um produto mais específico para o organismo-alvo que se deseja controlar. Deve-se ter cuidado com o controle de qualidade e com a padronização do produto final. Até o início da década de 90, somente três produtos estavam disponíveis no mercado, todos a base de *Bt*. Hoje, no Brasil, é muito utilizado o Dipel, Thuricide e XenTari, para o controle de várias pragas (VALICENTE, 2009).

Os produtos à base de *Bt* constituem de 1% a 2% do mercado global de inseticidas, estimado em 8 bilhões de dólares por ano, representando 100 milhões de dólares em vendas anuais (NESTER *et al.*, 2002). Os bioinseticidas à base de *Bt* possuem como característica uma boa estabilidade visto que não necessitam de condições especiais de armazenamento. Hoje em dia existem aproximadamente 60 produtos à base de *Bt* (CERÓN, 2004).

2. REFERÊNCIA

AGUIAR-MENEZES, E.L. 2005. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, p. 58, Brasília.

ARCÁRIA, N.; GARCIA, A.; DARRIGRAN, G. 2011. **Fichas malacológicas: Conozcamos al caracol manzana (*Pomacea canaliculata*)**. Sección Malacología: División Zoología Invertebrados: Museo de La Plata (FCNyM-UNLP).

BARBOSA, F. S. 1995. Tópicos em malacologia médica [online]. Rio de Janeiro: **Fiocruz**, 314 p. ISBN 85-85676-13-2.

BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. 2004. Agrotóxicos no Cultivo do Arroz no Brasil: análise do consumo e medidas para reduzir o impacto ambiental negativo. **Circular Técnica 67**, ISSN 1678-9636.

BASKIN, Y. 1994. Ecosystem function of biodiversity. **BioScience** 44 (10): 657-660.

BRITO, F. C. 2015. **Estudo da eficácia dos extratos de frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* St-Hil (Aquifoliaceae) no controle químico do molusco *Pomacea canaliculata* (Gastropoda, Ampullariidae)**. Programa de pós-graduação em zoologia. Dissertação de mestrado, Porto Alegre - RS- Brasil.

BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J. D. 2001. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. e *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. **Neotropical Entomology**, 30, p. 455-459.

BURKS, K.C. ***Melia azedarach*. Fact sheet prepared by the Bureau of Aquatic Plant Management**. Department of Environmental Protection, State of Florida, Tallahassee, FL, 1997.

CAZZANIGA, N. J. 2009. *Pomacea canaliculata*: harmless and useless in its natural realm (Argentina). In: HICKEL, E. R.; SCHEUERMANN, K. K. Alternativas para manejo do caramujo-grande, *Pomacea canaliculata* (Architaenioglossa: Ampullariidae), em arroz irrigado. **Anais**. VI Congresso Brasileiro Arroz Irrigado, Estresses e sustentabilidade: desafios para a lavoura arrozeira.

CERÓN, J. 2004. Productos comerciales: nativos y recombinantes. **En *Bacillus thuringiensis* en el control biológico**. Bravo, A. y Cerón, J. eds. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. pp. 123-147.

COMPANHIA BRASILEIRA DE ABASTECIMENTO - CONAB. 2015. A cultura do Arroz 2014/2015. Disponível em: Disponível em: < <http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 11 jun, 2016.

COWIE, R.; THIENGO, S. 2003. "The apple snails of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: *Asolene*, *Felipponea*, *Marisa*, *Pomacea*, *Pomella*): a nomenclatural and type catalog." **Malacologia**, 45:41-100.

DARRIGAN, G. A. 1997. Invasores en la Cuenca del Plata. **Ciencia Hoy** 38: 1-6.

DEQUECH, S. T. B.; SAUSEN, C. D.; LIMA, C. G.; EGEWARTHII, R. 2008. Efeito de extratos de plantas com atividade inseticida no controle de *Microthecaochroloma* Stal (Col.: Chrysomelidae), em laboratório. **Revista Biotemas**. v. 21. ed. 1.

DESCHAMPS, F.C.; TOLEDO, L.G.; NOLDIN, J.A. 2003. Índice de qualidade de águas (IQA) na avaliação do impacto da cultura do arroz irrigado sobre a qualidade das águas superficiais. In: Congresso Brasileiro de arroz irrigado. Reunião da cultura do arroz irrigado. **Anais**. Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz. p.700-702.

EBC, 2016. Disponível em: < <http://www.ebc.com.br>>. Acesso em: 16 de junho de 2016.

EPAGRI, 1998. Sistema de produção de arroz irrigado em Santa Catarina: (Pré-Germinado). **Sistema de Produção**, 32. Florianópolis, p. 79.

ESTEBENET, A. L.; MARTÍN, P. R. 2002. *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): life-history traits and their plasticity, **Biocell**, v. 26, n.1, p.83-89.

FERREIRA, E. F. 2013. USO DE EXTRATOS VEGETAIS NO CONTROLE DA ANTRACNOSE (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) EM MAMOEIRO (*Carica papaya* L.). **Rev. Bras. Fruticultura.**, Jaboticabal - SP, v. 36, n. 2, p. 346-352.

GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA-NETO, S.; CARVALHO, R. P. L.; BAPTISTA, G. C.; BERTI-FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S.; OMOTO, C. 2002. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. 2000. *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. **Chichester**: John Wiley, 350 p.

HAYES, K, COWIE, R, THIENGO, S. C, STRONG, E. 2012. Comparing apples with apples: clarifying the identities of two highly invasive Neotropical Ampullariidae. **Zoological Journal of the Linnean Society**, 166:723-753.

HICKEL, E. R.; SCHEUERMANN, K. K. 2008. Alternativas para manejo do caramujo-grande, *Pomacea canaliculata* (Architaenioglossa: Ampullariidae), em arroz irrigado. **SOSBAI - Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado**.

IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. 1987. Avaliação da toxicidade aguda para peixes. In: IBAMA-Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Manual de testes para avaliação de ecotoxicidade de agentes químicos**. Brasília. Parte D.3.1.

JOSHI, R.C., SEBASTIAN, L.S. 2006. Global advances in ecology and management of golden apple snails. **Philippine Rice Research Institute**.

KOGAN, M. 1998. Integrated pest management historical perspectives and contemporary developments. **Annu. Rev. Entomol.** 43: 243-270.

LEPAGE, H.S.; GIAMOTTI, O.; ORLANDO, A. 1946. Proteção de culturas contra gafanhotos por meio de extratos de *Melia azedarach*. **Biológico** v. 12, p. 265-271.

LEVINSON, B. L.; KASYAN, K. K. J; CHIU, S. S; CURRIER, S.; GONZÁLEZ JR. J. M. 1990. Identification of b-exotoxin production, plasmids encoding bexotoxin, and a

new exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by using highperformance liquid chromatography. **Journal of Bacteriology**, Washington, v.172. p. 3172-3179.

LORENZI, H. 2003. **Árvores exóticas do Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas**. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, ISBN: 85-86714-19-4.

LOVATTO, P. B.; MARTINEZ, E. A.; MAUCH, C. R.; SCHIEDECK, G. 2012. A utilização da espécie *Melia azedarach* L. (Meliaceae) como alternativa à produção de insumos ecológicos na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Agroecologia**. 7(2): 137- 149.

LUNA, J. S, SANTOS, A.F.; LIMA, M. R. F.; OMENA, M. C.; MENDONÇA, F. A. C.; SANT' ANA, A. E. G. 2005. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **JE thnopharmacol** 97: 199-206.

MAPA, 2016. Disponível em: < <http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 15 de maio de 2016.

MARSTON, A.; HOSTETTMANN, R. 1985. Plant molluscicides. **Phytochemistry** 24:639-652.

MARTINEZ, S. S. 2002. **O NIM – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Instituto agrônomo do Paraná. Editado por Sueli Souza Martinez. Londrina: IAPAR.p. 9-44/111-120.

MAZZONETTO, F.; VENDRAMIM, J. D. 2003. Efeito de Pós de Origem Vegetal sobre *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) em Feijão Armazenado **Neotropical Entomology**, v.32, n.1, p.145-149.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. 1999. **Controle biológico**. Embrapa Meio Ambiente, 388p. ISBN 85-85771-08-9.

MEYER, J. 2013. **Isolamento e caracterização de bacilos promotores do crescimento vegetal de arroz cultivado em solo com excesso de ferro**. UFRGS, Porto Alegre.

MOLOZZI, J.; PINHEIRO, A.; SILVA, M. R. 2006. Qualidade da água em diferentes estádios de desenvolvimento do arroz irrigado. **Pesq. agropec. bras.** vol.41 no.9.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. 2005. A árvore Nim (*Azadirachta indica*. A. Juss.): múltiplos usos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v.24, n.1, p.139-148.

MOTT, K. 1987. **Plant moluscicides**. UNDP/World Bank/WHO/TDR. John Wiley and Sons Ltda., 326.

NESTER, E.; THOMASHOW, L. S.; METZ, M.; GORDON, M. 2002. 100 years of *Bacillus thuringiensis*: **A critical Scientific Assessment**. Disponível em: <<http://www.asmusa.org>>. Acesso em 01 de ago. 2016.

NIMMO, D. R. 1985. Pesticides. In: RAND, G. M.; PETROCELLI, S. R. (Eds.). **Fundamentals of Aquatic Toxicology: methods and applications**. London: Hemisphere Publishing Corporation. Cap.12, p. 335-373.

OERKE, E. C. 2006. Crop losses to pests. **Journal of Agricultural Science**, 144, 31-43, Cambridge University Press.

OLIVEIRA, J. V.; RAMIREZ, H. V.; MENEZES, V. G.; CRUZ, F. Z. 1999. Controle do molusco *Pomacea canaliculata* em arroz irrigado no sistema pré-germinado. **Anais**. Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, Pelotas: Embrapa Clima Temperado.

PADRÓN, A. I. A.; LENHARD, P. 2011. Continental mollusc fauna of the Great Porto Alegre central region, RS, Southern Brazil. **Biodiversity Journal**, 2 (4): 163-170.

PATERNIANI, E. 2001. Agricultura sustentável nos trópicos. **Estudos Avançados** 15 (43).

PERES, F. 1999. **É veneno ou é remédio? os desafios da comunicação rural sobre agrotóxicos.** Dissertação de mestrado, Rio de Janeiro: Escola Nacional de Saúde Pública, Fiocruz.

PICANÇO, M.; ARAÚJO, M. S.; MACEDO, T. B. 1999. **Manejo integrado de pragas agrícolas.** Viçosa: UFV, 305p.

PINTO, J. S. P.; LANÇAS, F. M. 2010. Hidrólise do óleo de *azadirachta indica* em água subcrítica e determinação da composição dos triacilglicerídeos e ácidos graxos por cromatografia gasosa de alta resolução a alta temperatura e cromatografia gasosa de alta resolução acoplada à espectrometria de massas. **Revista eletrônica Química Nova.** p. 14.

PRAÇA, L. B.; BATISTA, A. C.; MARTINS, É. S.; SIQUEIRA, C. B.; DIAS, D. G. S.; GOMES, A. C. M. M.; FALCÃO, R.; MONNERAT, R. G. 2004. Estirpes de *Bacillus thuringiensis* efetivas contra insetos das ordens Lepidoptera, Coleoptera e Diptera. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.39, p.11-16.

RICCIARDI, A.; MACISAAC, H. J. 2000. Recent mass invasion of the North American Great Lakes by Ponto-Caspian species. **Trends in Ecology and Evolution** 15 (2): 62-65.

ROEL, A. R. 2002. A agricultura orgânica ou ecológica e a sustentabilidade da agricultura. **Revista Internacional de Desenvolvimento**, Campo Grande, v. 3, n. 4, p. 57-62.

ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D.; FRIGHETTO, R. T. S.; FRIGHETTO, N. 2000. Atividade toxica de extratos orgânicos de *Trichillia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). **Na. Soc. Entomol. Bras.**,29: 7999-808.

SALLES, L. A. B; RECH, N. L. 1999. Efeitos de extratos de nim (*Azadirachta indica*) e Cinamomo (*Melia azedarach*) sobre *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, V.5, n.3, p.225-227.

SCHMUTTERER, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual review of entomology**, 35(1), 271-297.

SILVA, D. R. O.; AVILA, L. A.; AGOSYINETTO, D.; BUNDT, A. C. 2011. Ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas de áreas adjacentes a lavouras de arroz irrigado. **Quim. Nova**, Vol. 34, No. 5, 748-752.

SILVA, N. F. S.; COGO, J.; WIEPIESKI, C. C. P.; LAVERDE, J. R. 2008. Bioensaio de atividade moluscicida adaptado para a avaliação de extratos de plantas medicinais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar**. v. 11, p. 179-181.

SIMBERLOFF, D. 1996. Impacts of introduced species in the United States. **Consequences** 2 (2): 13- 24.

SINGH, A.; SINGH, S. K. 2005. Molluscicidal evaluation of three common plants from India. *Fitoterapia*, Milano, v. 76, n. 7-8, p. 747-751.

SINGH, K. et al. 1996. Molluscicidal activity of neem (*Azadirachta indica* A.Juss). **J. Ethnopharmacol.**, Lausanne, v. 52, n. 1, p. 35-40.

SOSBAI - Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. 2014. Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil / **Anais**. XXX Reunião Técnica da Cultura do Arroz Irrigado, Bento Gonçalves, RS, Brasil.

TORRES, A. L., BARROS, R., & OLIVEIRA, J. V. D. 2001. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.)(Lepidoptera: Plutellidae). **Neotropical Entomology**.

VALICENTE, F. H. 2009. Controle biológico de pragas com entomopatógenos. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.30, n.251, p.48-55.

VENDRAMIM, J. D. 1997 Plantas inseticidas. **Anais**. Congresso Brasileiro de Entomologia, 16., 1997, Salvador. SEB; Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMPF, p. 10.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. 2000. Aleloquímicos, Resistência de Plantas e Plantas Inseticidas. In: GUEDES, J. C.; COSTA, I. D.; CASTIGLIONI, E. **Bases e Técnicas do Manejo de Insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, Pallotti. p.113-128.

VITOUSEK, P. M. 1990. Biological invasions and ecosystem processes: towards integration of population biology and ecosystem studies. **Oikos** 57: 7-13.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Report of the Scientific Working Group on Plant Molluscicide & Guidelines for evaluation of Plant Molluscicides. Geneva (TDR/SCH-SWE (4)/83.3).

YUSA, Y. Predators of the introduced apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): their effectiveness and utilization in biological control. In: HICKEL, E. R.; SCHEUERMANN, K. K. 2009. Alternativas para manejo do caramujo-grande, *Pomacea canaliculata* (Architaenioglossa: Ampullariidae), em arroz irrigado. **Anais**. VI Congresso Brasileiro Arroz Irrigado, Estresses e sustentabilidade: desafios para a lavoura arrozeira.

3. Potencial de *Melia azedarach* L., *Azadirachta indica* A. Juss e *Bacillus thuringiensis* Berliner no controle de *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1804)

RESUMO

Considerado uma das mais importantes pragas agrícolas nas lavouras de arroz de muitos países, *Pomacea canaliculata* é reconhecida como praga agrícola severa com maior frequência de ocorrência no Rio Grande do Sul. O objetivo do trabalho é avaliar a atividade moluscicida de *Melia azedarach*, *Azadirachta indica* e o inseticida microbiológico a base de *Bacillus*, sobre o gastrópode aquático *Pomacea canaliculata*. Para os testes preliminares com *Azadirachta indica* e *Melia azedarach*, foram testadas concentrações que variaram de 0,5 a 15%, e com o óleo comercial de *Azadirachta indica*, utilizou-se a recomendação do fabricante (14 ml/L e 7 ml/L). Já com o produto comercial a base de *Bacillus thuringiensis* foram testadas doses que variaram de 0,5 a 15,0 g/L. A concentração do extrato aquoso de *Azadirachta indica* e *Melia azedarach* que apresentou o melhor resultado, foi diluída para 100, 125, 150 e 200 ml/L, e o óleo de *Azadirachta indica* foi diluído em 3,5 ml/L e 1,75 ml/L. A concentração letal 50% (CL₅₀^{-24h}) do extrato aquoso de *Azadirachta indica* foi de 155,45 ml/L com mortalidade máxima na diluição de 200 ml/L. A concentração letal 50% (CL₅₀^{-24h}) do extrato aquoso de *Melia azedarach* foi de 156,60 ml/L e mortalidade máxima de 90% dos indivíduos também na diluição de 200 ml/L. O óleo comercial de *Azadirachta indica* apresentou 100% de mortalidade dos indivíduos em ambas as recomendações do fabricante, e mostrou-se eficiente até a diluição de 3,5 ml/L, com mortalidade máxima de 90% dos indivíduos. Sua concentração letal 50% (CL₅₀^{-24h}) ficou estimada em 2,60 ml/L. A dose de *Bacillus thuringiensis* com maior número de indivíduos mortos foi a de 15g/L, com mortalidade de 100% dos indivíduos. A CL₅₀^{-24h} foi estimada na dose de 9,46g/L. Os resultados demonstram que extrato aquoso de *Azadirachta indica* e *Melia azedarach*, o óleo comercial de *Azadirachta indica*, e o inseticida microbiológico a base de *Bacillus thuringiensis* são eficientes na mortalidade de *Pomacea canaliculata*, e podem ser utilizados como produtos moluscicidas, porém são necessários estudos a campo que visem a toxicidade a organismos não-alvos.

Palavras-chave: Arroz, caramujo, moluscicida, biopesticida.

Potential of *Melia azedarach* L., *Azadirachta indica* A. Juss and *Bacillus thuringiensis* Berliner in the control of *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1804)

ABSTRACT

Considered to be one of the most important agricultural practices in rice plantations in many countries, *Pomacea canaliculata* is recognized as a severe agricultural pest with a frequent occurrence in Rio Grande do Sul. The objective of this work is to evaluate the molluscicidal activity of *Melia azedarach*, *Azadirachta indica* and The microbiological insecticide based on *Bacillus*, on the aquatic gastropod *Pomacea canaliculata*. For the preliminary tests with *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*, concentrations ranging from 0.5 to 15% were tested, and with commercial oil from *Azadirachta indica*, a manufacturer's recommendation (14 ml/L and 7 ml/L). The concentration of the aqueous extract of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*, which presented the best result, was diluted to 100, 125, 150 and 200 ml/L, and *Azadirachta* oil was diluted in 3.5 ml/L and 1.75 ml/L. The 50% lethal concentration (CL_{50}^{24h}) makes aqueous extract of *Azadirachta indica* of 155.45 ml/L with mortality at the dilution of 200 ml/L. The 50% lethal concentration (CL_{50}^{24h}) makes aqueous extract of *Melia azedarach* was of 156.60 ml/L and maximum mortality of 90% of the cases also at the dilution of 200 ml/L. The commercial oil of *Azadirachta indica* presented 100% mortality of the individuals in manufacturer's recommendations, and proved to be efficient until a dilution of 3.5 ml/L, with a maximum mortality of 90% of the individuals. Its 50% lethal concentration (CL_{50}^{24h}) was estimated at 2.60 ml/L. The dose of *Bacillus thuringiensis* with the highest number of dead individuals was 15 g/L, with a mortality rate of 100% of the individuals. CL_{50}^{24h} was estimated at 9.46 g/L. The results demonstrate that aqueous extract of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach*, the commercial oil of *Azadirachta indica*, and the microbiological insecticide based on *Bacillus thuringiensis* are efficient in the mortality of *Pomacea canaliculata*, and can be used as molluscicidal products, targeting non-target organisms.

Key - words: Rice, snail, molluscicide, biopesticide.

3.1 INTRODUÇÃO

Pomacea canaliculata é considerada uma preocupação internacional devido ao seu enorme crescimento e estabelecimento em lavouras de arroz em diversos países, despertando o interesse em vários estudos sobre agentes de biocontrole (ESTEBENET & MARTÍN, 2002).

Os caramujos que chegam nas lavouras de arroz normalmente provêm de reservatórios de água infestados, de onde se obtém a água para irrigação. Pode também haver dispersão ativa de caramujos que se encontram-se em canais à jusante das lavouras. Neste caso os indivíduos deslocam-se pelo fundo dos canais de drenagem (quando estes estão com água) contra o fluxo de água (BEDUHN *et al.*, 2001).

Lavouras de arroz que são cortadas por pequenos regatos ou riachos podem ter problemas crônicos de ocorrência de caramujos. Isto porque o fluxo contínuo de água em determinados canais possibilita a manutenção de uma certa população de caramujos, que migra para as quadras quando o arroz pré-germinado é semeado (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

O manejo de caramujos nas lavouras de arroz irrigado reveste-se da particularidade da inexistência de produtos fitossanitários registrados para este fim. Assim, as medidas para o manejo da praga, nas áreas de ocorrência endêmica, envolvem principalmente manejo manual (BEDUHN *et al.*, 2001).

Drogas moluscidas acarretam prejuízos ao ambiente, e a recolonização das áreas afetadas tornam o processo de aplicação dispendioso e operacionalmente difícil de ser realizado. A preocupação com o desenvolvimento de resistência dos caramujos ao uso destas substâncias e a baixa seletividade que apresentam eleva a procura por substâncias facilmente biodegradáveis (SILVA *et al.*, 2008).

A necessidade de moluscidas eficientes e ecologicamente aceitáveis acompanhou a tendência de se pesquisar e desenvolver produtos alternativos (VIEIRA *et al.*, 2016). Neste contexto, extratos vegetais de plantas da família Meliaceae e produtos microbiológicos a base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) destacam-se pela disponibilidade local e por serem utilizados contra diversas pragas em diferentes culturas no Brasil.

Extratos fitoterápicos de *Melia azedarach* e *Azadirachta indica*, popularmente conhecida como Cinamomo e Nim, tem sido objeto de estudo em diversos trabalhos que descrevem estas plantas como possuidora de inúmeras propriedades, como atividade antifúngica (CARPINELLA *et al.*, 1999), inseticida (GAJMER *et al.*, 2002), antiviral,

antimalárica (KHAN *et al.*, 2001) e anti-helmíntica (MCGRAW *et al.*, 2000; JOSHI & JOSHI, 2000).

No controle biológico no Brasil, a utilização de *Bt* é considerada uma alternativa eficaz e não contaminante, considerado um método seguro aos humanos e ao meio ambiente (GALZER & FILHO, 2016). Diversos biopesticidas à base dessa bactéria encontram-se disponíveis no mercado e tem oferecido bons resultados no controle de diversas pragas (MONNERAT *et al.*, 2000), porém ainda são escassos os trabalhos que visem a utilização de tal biopesticida no controle de caramujos.

Levando em conta que *P. canaliculata* é considerada uma das pragas que interferem no processo produtivo orizícola, podendo causar danos significativos à produção e que a procura por substâncias facilmente biodegradáveis tem aumentado o interesse pelo uso de moluscidas alternativos, o objetivo do trabalho é avaliar a atividade moluscida de *M. azedarach*, *A. indica* e o inseticida microbiológico a base de *Bt* sobre o gastrópode aquático *P. canaliculata*.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Coleta, identificação e manutenção dos caramujos

Os caramujos foram coletados em lavouras de arroz disponibilizadas pelo Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) no município de Candelária/RS nos meses de outubro/novembro de 2015, onde a coleta ocorreu através da utilização de sacos de tecido colocados no fluxo de água entre o canal de irrigação e a lavoura. No município de Teutônica/RS, a coleta ocorreu manualmente com auxílio de puçá nos meses de novembro/dezembro de 2016 em área de barragem artificial.

Os indivíduos foram triados para seleção de indivíduos de 1 a 5 cm de diâmetros e identificados com auxílio de bibliografia específica (AGUDO-PADRÓN, 2008; AGUDO-PADRÓN & LENHARD, 2011).

Os caramujos foram previamente aclimatados por um período de 10 dias, de acordo com as recomendações do Ibama (1987). A aclimação foi realizada em recipientes com água declorada (água em repouso por vários dias, afim de que o cloro evaporasse), utilizando-se 14 indivíduos por litro de água. A troca da água e lavagem dos recipientes foram realizadas diariamente. A temperatura da sala de ensaio foi mantida em $26 \pm 2^{\circ}\text{C}$ para melhor conforto térmico dos caramujos.

Nesse período, os animais foram alimentados, uma vez ao dia, com folhas de alface, plântulas de arroz e ração para peixes.

3.2.2 Obtenção do material vegetal e preparação dos extratos aquosos

No mês de janeiro de 2016 folhas adultas de *M. azedarach* foram coletadas em área urbana do município de Santa Cruz do Sul/RS, secas em estufa com circulação de ar (a 40°C, por cerca de 48h), após o período de secagem, as folhas foram trituradas para obtenção do pó vegetal, e armazenadas em frascos de vidro para posterior preparo dos extratos.

Por ser uma árvore que não é facilmente encontrada na região Sul do Brasil, o pó vegetal de *A. indica*, foi obtido junto a empresa Goneem-Brasil, em São Paulo, na qual o procedimento para obtenção do material vegetal também é realizado através de secagem em estufa e trituração das folhas secas.

O óleo comercial a base de *A. indica* 12% (contendo 8,5 ml de extrato de folhas de neem indiano, 4,5 ml de emulsionante, 4,5 ml de álcool anidro e 100 ml de veículo oleoso (óleo vegetal), também foram obtidos junto a mesma empresa.

Para o preparo dos extratos aquosos, os pós de *M. azedarach* e *A. indica* foram adicionados à água destilada, nas proporções de 0.5; 1.0; 5.0; 10.0 e 15.0 g por 100 ml, após ficaram em repouso por 24 horas, findo este período, foram realizadas filtrações com pano de malha fina para obtenção dos extratos (TORRES et al., 2006).

3.2.3 Obtenção do Bt

A formulação do produto a base de Bt (AGREE®) foi disponibilizado pelo Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA).

O produto é registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA sob nº 06095. Sua composição é a base de *Bacillus thuringiensis aizawai* GC-91 - 1 bilhão de esporos viáveis/g (equivalente a 38,0 g/kg de endotoxina – 25.000 µl/mg de potência), é classificado como Inseticida Microbiológico, na formulação de pó molhável.

3.2.4 Ensaios

3.2.4.1 Testes preliminares

Foram realizados testes preliminares com extrato aquoso de *A. indica* e *M. azedarach*, utilizando as concentrações de 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 e 15g por 100 ml de água destilada, para determinar a concentração da “solução-mãe”. Nos testes utilizou-se um total de 100 indivíduos para cada extrato (Tabela 01), onde cada indivíduo foi acondicionado individualmente em recipientes de vidro contendo 70 ml de extrato puro, por um período de 24 horas de exposição.

Tabela 01: Indivíduos utilizados nos testes preliminares com extrato aquoso de *A. indica* e *M. azedarach*

| | CONCENTRAÇÃO (%) | | | | | Total |
|-------------|------------------|-----|-----|----|----|-------|
| | 0,5 | 1,0 | 5,0 | 10 | 15 | |
| Nº Tratado | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 50 |
| Nº Controle | 10 | 10 | 10 | 10 | 10 | 50 |
| Total | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 100 |

Com o óleo comercial de *A. indica* utilizou-se nos testes preliminares, 10 caramujos para cada recomendação do fabricante para controle de insetos, no qual sugere a concentração máxima (14ml/L) para ambientes infestados, e concentração média (7ml/L) para ambientes de fácil controle, além de um grupo controle, na qual foram utilizados o mesmo número de indivíduos, somente expostos em água de clorada (Figura 02).

Figura 02: Indivíduos utilizados nos testes preliminares com óleo comercial de *A. indica* com diluições recomendadas pelo fabricante.

| | Diluição (ml/L) | | Total |
|-------------|-----------------|----|-------|
| | 14 | 7 | |
| Nº Tratado | 10 | 10 | 20 |
| Nº Controle | 10 | 10 | 20 |
| Total | 20 | 20 | 40 |

3.2.4.2 Testes moluscicidas

A concentração do extrato aquoso de *A. indica* e *M. azedarach* que apresentou maior mortalidade (solução-mãe), foi diluída em 100, 125, 150 e 200 ml/L para avaliar a ação

moluscicida sobre *P. canaliculata*. Os ensaios foram realizados em 4 réplicas, e cada réplica apresentou grupo controle com o mesmo número de indivíduos do tratado, porém somente submersos em água declorada (Tabela 03).

Tabela 03: Indivíduos utilizados nos ensaios moluscicidas em diferentes diluições de extrato aquoso de *A. indica* e *M. azedarach*.

| RÉPLICAS | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|
| | 1 | | | | 2 | | | | 3 | | | | 4 | | | | |
| ml/L | 100 | 125 | 150 | 200 | 100 | 125 | 150 | 200 | 100 | 125 | 150 | 200 | 100 | 125 | 150 | 200 | Total |
| Tratado | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 500 |
| Controle | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 500 |
| Total | 62 | 62 | 62 | 64 | 62 | 62 | 62 | 64 | 62 | 62 | 62 | 64 | 62 | 62 | 62 | 64 | 1000 |

Nos ensaios moluscicidas com óleo comercial de *A. indica*, as recomendações do fabricante foram diluídas em frações menores de 3,5 e 1,75 ml/L. Foram testados 250 indivíduos para cada diluição, sendo utilizado um total 1000 indivíduos nos ensaios (Figura 04). Os ensaios foram realizados em 4 réplicas, e cada réplica apresentou grupo controle com o mesmo número de indivíduos do tratado, porém somente submersos em água declorada.

Figura 04: Indivíduos utilizados nos ensaios moluscicidas em diferentes diluições de óleo comercial de *A. indica*.

| RÉPLICAS | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|----|----|-----|------|-------|
| | 1 | | | | 2 | | | | 3 | | | | 4 | | | | |
| ml/L | 14 | 7 | 3,5 | 1,75 | 14 | 7 | 3,5 | 1,75 | 14 | 7 | 3,5 | 1,75 | 14 | 7 | 3,5 | 1,75 | Total |
| Tratado | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 500 |
| Controle | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 31 | 31 | 31 | 32 | 500 |
| Total | 62 | 62 | 62 | 64 | 62 | 62 | 62 | 64 | 62 | 62 | 62 | 64 | 62 | 62 | 62 | 64 | 1000 |

Com *Bt* foram realizados testes com dosagens que variaram de 0,5 a 15,0 g/L (0,5; 6,0; 10,0; 12,0 e 15,0 g/L), utilizando um total de 500 indivíduos (Tabela 05) os ensaios foram realizados em 4 réplicas, e em todos foram introduzidos grupos controles utilizando-se apenas água declorada.

Nos ensaios moluscicidas, os caramujos foram transferidos para caixas de polietileno contendo 1 litro de água declorada, acrescido das diluições e doses testadas. Cada caramujo ocupa um volume de 70 ml de água, sendo assim, foram utilizados 14 indivíduos por litro, acrescido das diluições testadas. Os indivíduos permaneceram em exposição por um período de 24 horas, após foram retirados do tratamento, lavados e

transferidos para locais com água limpa, onde permaneceram por mais 24 horas em recuperação, para posterior avaliação da mortalidade.

Figura 04: Indivíduos utilizados nos ensaios moluscidas em diferentes doses de *Bt*.

| | RÉPLICAS | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | Total |
|-----------------|----------|-----|----|----|----|-----|-----|----|----|----|-----|-----|----|----|----|-----|-----|----|----|----|-------|
| | 1 | | | | | 2 | | | | | 3 | | | | | 4 | | | | | |
| g/L | 0,5 | 6,0 | 10 | 12 | 15 | 0,5 | 6,0 | 10 | 12 | 15 | 0,5 | 6,0 | 10 | 12 | 15 | 0,5 | 6,0 | 10 | 12 | 15 | |
| Tratado | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 250 |
| Controle | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 13 | 13 | 13 | 13 | 13 | 250 |
| Total | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 500 |

Como critério de mortalidade, foi adotado a retração dos caramujos para dentro de suas conchas ou a liberação da hemolinfa.

No fim do experimento, todos os caramujos, vivos ou mortos foram expostos diretamente a solução concentrada de hipoclorito de sódio (água sanitária comercial) para completa letalidade.

3.2.5 Análise de dados

Foram determinados valores relativos à mortalidade acumulada e corrigida, calculada de acordo com a Equação 1 sugerida por Abbott (1925).

$$\% \text{ mortalidade corrigida} = \frac{\text{números de vivos controle} - \text{número vivos tratado}}{\text{números de vivos controle}} \times 100$$

A concentração que afeta a mortalidade de 50% da população em 24 horas (CL_{50-24h}) e o intervalo de confiança, foram calculados pelo módulo “Probit Analysis” do programa Statgraphics Centurion XVII.

3.3 RESULTADOS

A concentração de 15% foi a que apresentou maior mortalidade nos testes preliminares com extrato aquoso de *A. indica* (100%) e *M. azedarach* (80%), sendo esta concentração definida como “solução-mãe”. No teste preliminar com óleo comercial de *A. indica*, ambas as recomendações do fabricante (14ml/L e 7 ml/L) apresentaram mortalidade de 100% dos indivíduos.

A concentração letal 50% (CL_{50}^{-24h}) estimada do extrato aquoso de folhas secas de *A. indica* foi de 155,45 ml/L. Nas diluições de 100 ml/L não houve mortalidade. Na diluição de 125 ml/L, a mortalidade variou de 3% a 16% entre as réplicas; na de 150 ml/L, a mortalidade máxima foi de 77%, e na diluição de 200 ml/L, a mortalidade variou entre as réplicas de 78% a 94% dos indivíduos (Figura 1).

A concentração letal 50% (CL_{50}^{-24h}) estimada do extrato aquoso de folhas secas de *M. azedarach* foi de 156,6 ml/L. Como no extrato aquoso de *A. indica*, na diluição de 100 ml/L não houve mortalidade dos indivíduos, e na diluição de 125 ml/L, a mortalidade variou de 3% a 16%, seguida de uma variação entre as réplicas de 55% a 68% na diluição de 150 ml/L e mortalidade máxima de 90% dos indivíduos na diluição de 200 ml/L (Figura 2).

Figura 1. Relação diluição (ml/L) resposta/mortalidade (%) do caramujo *P. canaliculata* durante os bioensaios realizados com extrato aquoso de folhas de *A. indica*, com 95% de limite de confiança.

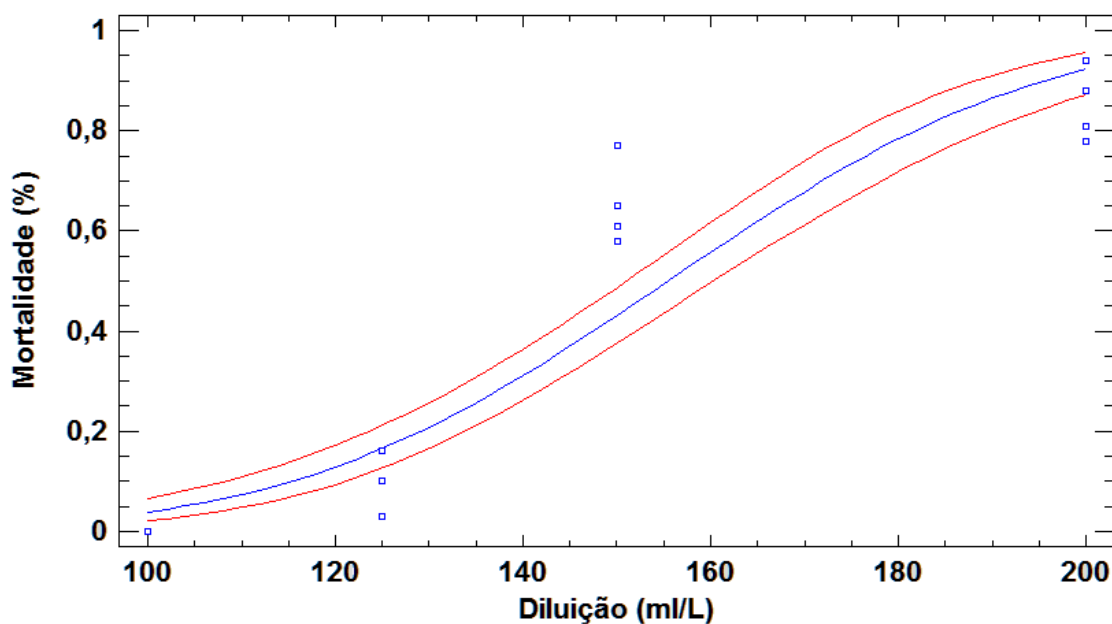
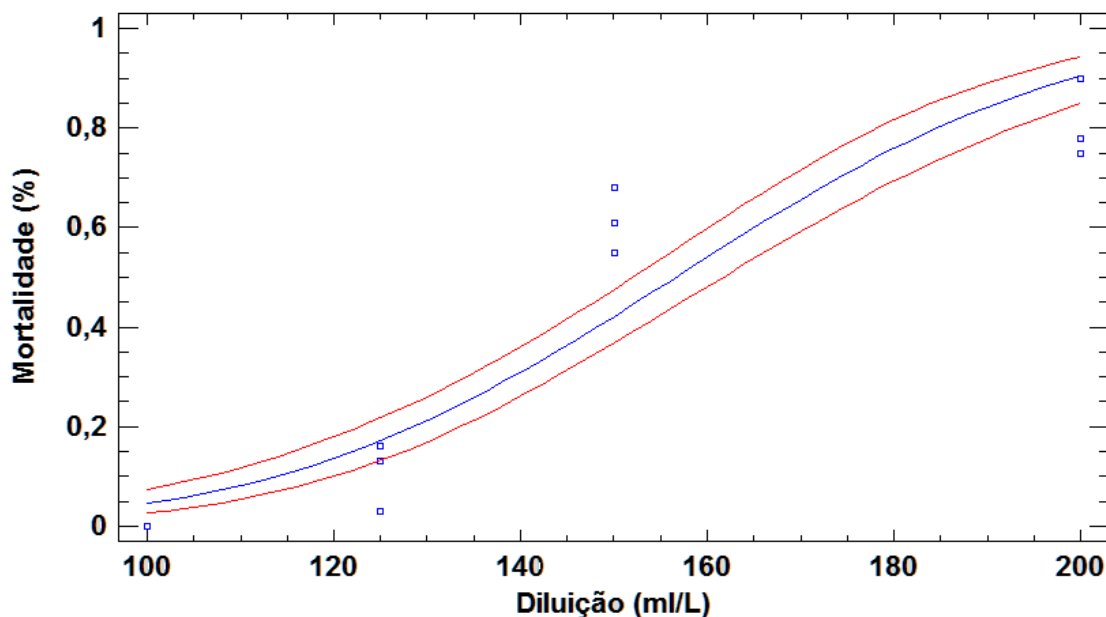
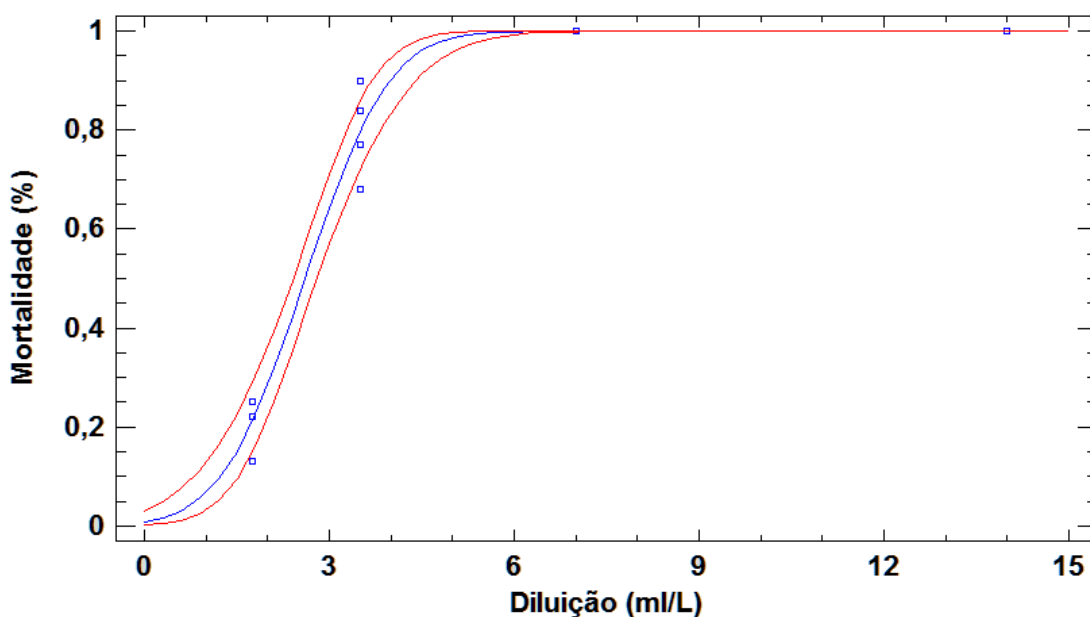


Figura 2. Relação diluição (ml/L) resposta/mortalidade (%) do caramujo *P. canaliculata* durante os bioensaios realizados com extrato aquoso de folhas de *M. azedarach*, com 95% de limite de confiança.



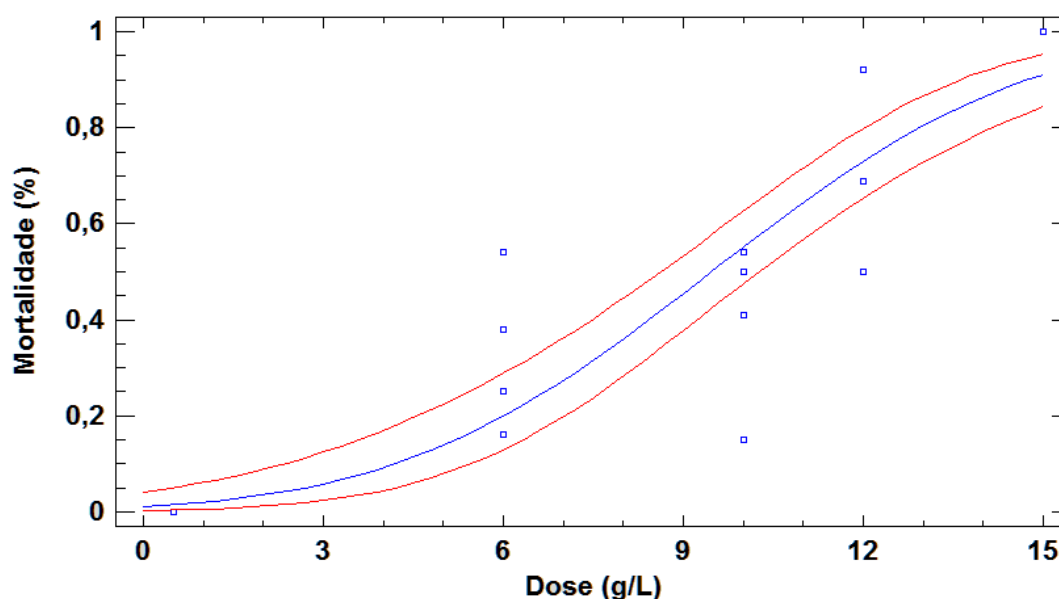
A concentração letal 50% (CL_{50-24h}) estimada do óleo comercial de *A. indica* foi de 2,60 ml/L. Nas duas diluições recomendadas pelo fabricante (14 e 7 ml/L) houve uma mortalidade de 100% dos indivíduos, seguido de uma variação de 68% a 90% de mortalidade entre as réplicas na diluição de 3,5 ml/L e 13% a 25% de mortalidade na diluição de 1,75 ml/L (Figura 3).

Figura 3. Relação diluição (ml/L) resposta/mortalidade (%) do caramujo *P. canaliculata* durante os bioensaios realizados com óleo comercial de *A. indica*, com 95% de limite de confiança.



A dose de *Bt* que apresentou o maior número de indivíduos mortos foi a de 15g/L, onde ocorreu mortalidade de 100% dos indivíduos em todas as réplicas. Na dosagem de 12g/L a mortalidade variou de 50 a 92%, seguida da dosagem de 10g/L e 6g/L que apresentaram os mesmos resultados, variando de 15% a 54% em ambas as dosagens. A dosagem de 0,5g/L não apresentou mortalidade de indivíduos em nenhuma das réplicas (Figura 4). A CL_{50}^{24h} foi estimada na dose de 9,46g/L.

Figura 4. Relação dose (g/L) resposta/mortalidade (%) do caramujo *P. canaliculata* durante os bioensaios realizados com *Bt*, com 95% de limite de confiança.



3.4 DISCUSSÃO

Os resultados encontrados nos ensaios realizados com extrato aquoso de *A. indica*, também foram verificados por Venturini *et al.* (2008), na qual observou em seus estudos sobre toxicidade aguda de extratos de folhas de *A. indica* sobre *P. canaliculata*, uma CL_{50} de 142,75 ml/L.

Produtos derivados de *A. indica* e *M. azedarach*, utilizados no controle de caramujos, podem obter excelente eficácia, menores custos e impacto para o meio ambiente, quando comparados aos moluscidas sintéticos (VENTURINI *et al.*, 2008).

Uma vantagem para a utilização do extrato aquoso de folhas secas de *A. indica* e *M. azedarach*, é que segundo a Organização Mundial de Saúde (WHO, 1983), extratos de plantas com concentração letal 50% menores que 40 mg/ L podem ser empregados

diretamente no controle de populações de moluscos, porém são necessários mais estudos sobre a toxicidade destas plantas em outros organismos não-alvos.

Outro aspecto interessante da utilização de extratos de plantas como moluscicida reside no fato de que a fonte de matérias-primas usadas é renovável e pode ser plantada por indivíduos interessados (TAGUILING, 2015).

Formulações comerciais a base de plantas são claramente mais tóxicas que extratos puros, pois estes são extraídos a base de solventes, que muitas vezes são mais tóxicos do que o próprio composto ativo da planta (BEVILACQUA *et al.*, 2008), o que pode ser observado nos ensaios com óleo comercial de *A. indica*, na qual, além de apresentar alta mortalidade em pequenas diluições, notou-se que os extratos aquosos começaram a causar mortalidade após 12 horas de exposição, diferentemente do óleo comercial, onde verificou-se mortalidade nas primeiras duas horas de exposição.

Bevilacqua *et al.*, (2008), em seu estudo sobre a comparação de produto comercial e produto puro de *A. indica*, também verificou uma alta toxicidade do produto comercial, cuja CL₅₀ foi de 1,59 ml/L, resultado compatível com o encontrado nos ensaios realizados, na qual a CL₅₀ foi de 2,60 ml/L.

Nos ensaios com *Bt*, a ausência de mortalidade na dose de 0,5 g/L também foi observada no estudo de Ramos (2008), sobre toxicidade de *Bt* em caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata*, onde não foram observadas mortes em doses menores que 1g.

Apesar de *Bt* ter se mostrado eficiente no biocontrole de *P. canaliculata*, a utilização de doses de 15g/L, poderia não só causar a mortalidade dos caramujos, mas também de organismos não-alvos. Miranda (2008) relata em seus estudos, que doses de 1g/L causaram a mortalidade de 100% de peixes da espécie *Hyphessobrycon eques*, porém Oliveira-Filho *et al.* (2009) não encontrou mortalidade de peixes das espécies *Danio rerio* e *Oreochromis niloticus* em doses de até 5g/L.

No meio ambiente, já se sabe que *Bt* é moderadamente persistente no solo, sua meia-vida em condições adequadas é de cerca de 4 meses, é rapidamente inativado em solos que têm um pH abaixo de 5,1. Os pesticidas microbianos, como o *Bt*, são classificados como imóveis porque não se movem ou lixiviam com água subterrânea. Devido à sua rápida degradação biológica e baixa toxicidade, não representam qualquer ameaça para as águas subterrâneas (GHASSEMI *et al.*, 1982).

Também não são registradas restrições para o uso de *Bt* em torno de corpos de água. Pode ser considerado eficaz por até 48 horas na água, depois, gradualmente se acumula ou se adere à matéria orgânica em suspensão (DUNKLE & SHASHA, 1989).

A obtenção de dados sobre efeitos adversos em organismos aquáticos torna-se de grande relevância. Os testes de ecotoxicidade que visam predição da periculosidade ambiental dos produtos à base de *B. thuringiensis*, são necessários para detectar danos potenciais a organismos não-alvo (RAMOS *et al.*, 2007).

São escassos os estudos que avaliem a toxicidade de *Bt* em organismos aquáticos, mesmo *Bt* já sendo indicado para controle de larvas de mosquitos. Os trabalhos disponíveis apresentam avaliações sobre toxicidade em aves e camundongos, pois *Bt* é recomendado para controle de insetos em diversas culturas.

Além de avaliações toxicológicas, trabalhos que visem a dosagem, métodos e intervalos de aplicação devem ser investigados. Para aplicação de *Bt* em campo deve-se levar em conta diversos parâmetros ambientais, pois a eficiência e persistência do produto pode variar de acordo com diferentes fatores ambientais, como temperatura, luminosidade e pluviosidade (SILVA *et al.* 2014).

3.5 CONCLUSÃO

Os resultados demonstraram que extrato aquoso de *M. azedarach* e *A. indica* 15% (p/v), podem ser eficazes no controle de *P. canaliculata*, causando mortalidade máxima de 90% e 94% dos indivíduos, respectivamente na diluição de 200 ml/L em 24 horas de exposição.

O óleo comercial de *A. indica*, apresentou mortalidade de 100% dos indivíduos na recomendação mínima do fabricante (7 ml/L), mostrando-se eficiente até a diluição de 3,75 ml/L, na qual ocasionou mortalidade máxima de 90% dos indivíduos testados.

É importante ressaltar que são necessários estudos em campo para a utilização de produtos vegetais como moluscidas, que visam determinar os compostos específicos ativos dos extratos para refinar ainda mais a concentração letal e a taxa de aplicação em condições de campo. São ainda recomendados estudos adicionais sobre a eficácia dos extratos baseados em outros métodos de extração.

O produto comercial a base de *Bt* (*BtAgree*) apresentou alta mortalidade na dosagem de 15g/L (100%).

A formulação se mostra eficiente no biocontrole de *P. canalicula*, e estudos que visem a utilização de *Bt* como produto moluscida são fundamentais, tanto do ponto de vista econômico, como do ponto de vista ambiental.

Até o momento não são registrados trabalhos que recomendem a utilização de *Bt* no controle de caramujos, pois a utilização de tal produto ainda é restrita a ambientes aquáticos por falta de trabalhos toxicológicos com organismos aquáticos.

Sendo assim, torna-se de fundamental importância estudos que visem uma dosagem adequada, que seja eficiente como produto moluscida e não prejudicial a organismos não-alvos.

AGRADECIMENTOS

Ao Instituto Rio Grandense do Arroz, ao Dr. Jaime Vargas, a Dra. Danielle Almeida e a Dra. Lidia Mariana Fiuza, pelo apoio técnico, fornecendo material biológico para o estudo.

3.6 REFERÊNCIAS

AGUDO-PADRÓN, A. I. 2008. Listagem sistemática dos moluscos continentais ocorrentes no Estado de Santa Catarina, Brasil. **Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay**, Montevideo, 9(91): 147-179.

AGUDO-PADRÓN, A. I.; LENHARD, P. 2011. Continental mollusc fauna of the Great Porto Alegre central region, RS, Southern Brazil. **Biodiversity Journal**, 2(4), 163-170.

BEDUHN, A. A.; SILVA, J. J. C.; YUSA, Y. 2001. Padrão de consumo de caramujo do banhado (*Pomacea canaliculata*) pelo gavião caramujeiro (*Rosthramus sociabilis*) na restinga da Lagoa Mirim, Rio Grande, RS, 2001. In: Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IRGA. p.392-393.

BEVILACQUA, A. V.; SUFFREDINI, I. B.; BERNARDI, M. M. 2008. Toxicidade de Neem, *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae), em *Artemia* sp: comparação da preparação comercial e do óleo puro. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**, 26 (2), 157-160.

CARPINELLA, M. C.; HERRERO, G. G.; ALONSO, R. A.; PALACIOS, S. M. 1999. Antifungal activity of *Melia azedarach* fruit extract. **Fitoterapia**, v.70, p.296-298.

DUNKLE, R. L.; B. S. SHASHA. 1989. Response of starch-encapsulated *Bacillus thuringiensis* containing ultraviolet (UV) screens to sunlight. Environ. **Entomol.** 18: 1035-1041.

ESTEBENET, A. L.; MARTÍN, P. R. 2002. *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): life-history traits and their plasticity. **Biocell: official journal of the Sociedades Latinoamericanas de Microscopia Electronica** 26(1), 83-89.

GAJMER, T.; SINGH, R.; SAINI, R. K.; KALIDHAR, S. B. 2002. Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach*) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab) (Lep., Noctuidae). **Journal Applied Entomology**, v.126, p.238-243.

GALZER, E. C. W.; FILHO, W. S. A. 2016. "Utilização do *Bacillus thuringiensis* no controle biológico de pragas." **Revista Interdisciplinar de Ciência Aplicada** 1.1: 13-16.

GHASSEMI, M.; PAINTER, P.; POWERS, M.; AKESSON, N. B.; DELLARCO, M. 1982. Estimating drift and exposure due to aerial application of insecticides in forests. *Environ. Sci. Technol.* 16:510–514.

JOSHI, A. R.; JOSHI, K. 2000. Indigenous knowledge and uses on medicinal plants by local communities of the kali gandaki watershed area, Nepal. **Journal of Ethnopharmacology**, v.73, p.175-183.

KENJI, I. 2003. **Expansion of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata*, and features of its habitat.** Food and Fertilizer Technology Center.

KHAN, M. R.; KIHARA, M.; OMOLOSO, A. D. 2001. Antimicrobial activity of *Horsfieldia helwiigi* and *Melia azedarach*. **Fitoterapia**. v.72, p.423-427.

McGRAW, L. J.; JÄGER, A. K.; van STADEN, J. 2000. Antibacterial, anthelmintic and antiamoebic activity in South African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.72, p.247-263.

MIRANDA, B. C. G. D. 2015. **Avaliação da toxicidade aguda de produtos comerciais à base de *Bacillus thuringiensis* e *Bacillus sphaericus* e da eliminação de esporos em peixes da espécie *Hyphessobrycon eques*.** Centro Universitário de Brasília-UniCEUB. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde- FACES.

MONNERAT, R. G.; BORDAT, D.; CASTELO BRANCO, M.; FRANÇA, F. H. 2000. Efeito de *Bacillus thuringiensis* Berliner e inseticidas químicos sobre a traça-das-crucíferas, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) e seus parasitoides. **An Soc Entomol Bras**, 29, 723-730.

OLIVEIRA FILHO, E. C.; RAMOS, F.; MUNIZ, D. D. F.; LOPES, M.; OLIVEIRA, R. D. S.; ALVES, R.; PONTES, R. G. M. S. 2009. Avaliação dos efeitos adversos de entomopatógenos sobre peixes e camundongos. **Embrapa Cerrados. Boletim de pesquisa e desenvolvimento.**

OLIVEIRA, J. V.; RAMIREZ, H. V.; MENEZES, V. G.; CRUZ, F. Z. 1999. Controle do molusco *Pomacea canaliculata* em arroz irrigado no sistema pré-germinado. **Anais. Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado**, Pelotas: Embrapa Clima Temperado.

RAMOS, F. R.; MUNIZ, D. H. F.; OLIVEIRA-FILHO, E. C.; MONNERAT, R.G. Eliminação de *Bacillus* em Peixes e Caramujos Após Exposição a Inseticidas Bacterianos. 2007. In: X SIMPÓSIO DE CONTROLE BIOLÓGICO - SICONBIOL, 2007, Brasília. **Anais. Brasília : Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.** v. 1. p.204.

SILVA, N. F. S.; COGO, J.; WIEPIESKI, C. C. P.; LAVERDE, J. R. 2008. Bioensaio de atividade moluscicida adaptado para a avaliação de extratos de plantas medicinais. **Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar.** v. 11, p. 179-181.

SILVA, S. A.; LOBO, S. K.; SILV, S. J.; VALE, S. F. C.; TADEI, P. W.; PINHEIRO, S. V. C. 2014. Influencia de los factores abióticos en la efectividad de la *Bacillus thuringiensis israelensis* (Berliner, 1911) contra larvas de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762). **Revista Cubana de Medicina Tropical**, 66(2), 174-190.

TAGUILING, N. K. 2015 Effect of combined plant extracts on golden apple snail (*Pomacea canaliculata* (Lam.)) and giant earthworm (*Pheretima* sp). **International Journal of Agriculture and Crop Sciences** 8(1):55-60.

TORRES, A. L.; JÚNIOR, A. B.; MEDEIROS, C. A. M.; B ARROS, R. 2006. Efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica*, *Melia azedarach* e *Aspidosperma pyrifolium* no desenvolvimento e oviposição de *Plutella xylostella*. **Bragantia**, 65(3), 447-457.

VENTURINI, F. P.; CRUZ, C.; PITELLI, R. A. 2008. Toxicidade aguda do sulfato de cobre e do extrato aquoso de folhas secas de nim para o caramujo (*Pomacea canaliculata*). **Acta Scientiarum: Biological Sciences**, 179-183.

VIEIRA, L. R.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. 2016. Avaliação da atividade moluscicida de extratos vegetais sobre *Achatina fulica* Bowdich (Mollusca, Achatinidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, 83, 01-06.

WHO-WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1983. Reports Of The Scientific Working Group On Plant Molluscicides. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 61, n. 6, p. 927-929.