

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DOUTORADO EM COMPORTAMENTO E BIOLOGIA ANIMAL

Paula Ferreira de Abreu

**ATIVIDADE MOLUSCICIDA E OVICIDA DO TIMOL E DO MENTOL SOBRE
Achatina fulica (BOWDICH, 1822) e *Bradybaena similaris* (FÉRRUSAC, 1821),
(GASTROPODA, MOLLUSCA)**

Juiz de Fora

2020

Paula Ferreira de Abreu

**ATIVIDADE MOLUSCICIDA E OVICIDA DO TIMOL E DO MENTOL SOBRE
Achatina fulica (BOWDICH, 1822) e *Bradybaena similaris* (FÉRRUAC, 1821),
(GASTROPODA, MOLLUSCA)**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) - Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial a obtenção do grau de Doutor em Comportamento Animal. Área de concentração: Biodiversidade

Orientador: Dra. Marta Tavares d'Agosto

Juiz de Fora

2020

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ferreira de Abreu, Paula .

Atividade moluscicida e ovicida do timol e do mentol sobre *Achatina fulica* Bowdich, 1822 e *Bradybaena similaris* (Férrusac, 1821), (Gastropoda, Mollusca) / Paula Ferreira de Abreu. -- 2020. 64 p.

Orientadora: Marta Tavares d'Agosto

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Comportamento Animal, 2020.

1. Biocidas . 2. Praga-agrícola. 3. Moluscos-exóticos. 4. controle . 5. moluscicida . I. Tavares d'Agosto, Marta , orient. II. Título.

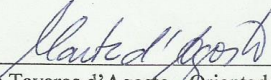
Paula Ferreira de Abreu

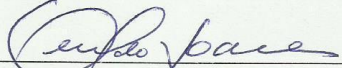
Atividade moluscicida e ovicida do timol e do mentol sobre *Achatina fulica* Bowdich, 1822 e *Bradybaena similis* (Férussac, 1821), (Gastropoda, Mollusca)

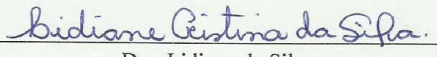
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Zoologia) - Comportamento e Biologia Animal, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial a obtenção do grau de Doutor em Comportamento Animal. Área de concentração: Biodiversidade

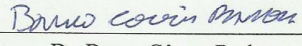
Aprovada em 31 de janeiro de 2020

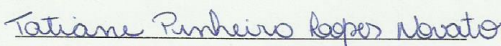
BANCA EXAMINADORA


Dra. Marta Tavares d'Agosto, Orientadora
Universidade Federal de Juiz de Fora


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


Dra. Lidiane da Silva
Prefeitura Municipal de Juiz de Fora


Dr. Bruno Córrea Barbosa
Universidade Federal de Juiz de Fora


Dra. Tatiane Pinheiro Lopes Novato

*Dedico este trabalho ao meu amado filho, Arthur
Abreu, e ao meu querido Prof. Erik Daemon.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus em primeiro lugar por todas as oportunidades que me permitiu viver e por ter estado sempre ao meu lado, sempre pude sentir o seu amparo nos momentos difíceis.

Agradeço ter tido o privilégio de conviver e ser amiga da minha orientadora e Prof. Elisabeth Bessa. Foi com você que tudo começou e com você aprendi um pouco mais sobre os moluscos terrestres. Sua lembrança esteve comigo em todos os momentos deste trabalho, você me fez muita falta.

Agradeço também a Deus ter permitido fazer parte da minha vida, o meu grande amigo, Prof. e orientador Erik Daemon. Sua partida me deixou atordoada, perplexa, sem acreditar que você se foi, por alguns meses fiquei perdida. Até hoje, em alguns momentos parece que ainda posso escutar o som da sua voz, posso ouvir o alarme do seu carro chegando no estacionamento e as vezes quase consigo te ver sentado no banquinho do café! Quis o destino que eu fosse sua última orientação neste programa, você me deixou esta missão, espero ter cumprido. você faz muita falta nessa vida meu Prof. Erik Daemon favorito!!

Agradeço de todo o meu coração a Prof., amiga e orientadora Marta d'Agosto, você me acolheu e me amparou, quando na verdade também precisa ser amparada!! Você é uma guerreira Marta, queria muito ter a metade da força que você tem. Muito obrigada por estar comigo nessa jornada, sua presença foi fundamental!!

Ao meu amado filho Arthur, que me ensinou o que é amar sem esperar nada em troca e o que é dar vida por alguém. Agradeço a sua paciência, foram alguns fins de semana vendo a mãe sentada no computador!!

Helba, te agradeço por fazer parte da minha vida!! Também tenho várias definições pra você, mas a que eu mais gosto é a de amiga-irmã. Sem você eu jamais teria consigo chegar até aqui. Você foi o meu apoio de todos os momentos difíceis, você esteve ao meu lado e me ajudou em tudo que eu precisei. Se não fosse a sua ajuda, amizade e carinho eu não teria conseguido finalizar este trabalho. Talvez tenhamos sido irmãs em outras vidas rs... Aproveito pra agradecer ao Fabio Prezoto, nunca vou esquecer a sua frase em um momento que eu estava muito perdida: “Você não está sozinha”, foi muito importante naquele momento.

Agradeço também a minha mãe, Ruth, pelo apoio incondicional e ao meu irmão Jean, pelo incentivo e socorro estatístico.

Aos alunos do CES, que me ajudaram nas coletas e em alguns testes no laboratório:
Ana Carolina, Moisés, Mariana, Cassiano e Karina meu muito obrigada.
A todos do LAP, principalmente a querida Tatiane Novato, ao Ralph e ao Diego.
Também agradeço a Marlú pelas conversas e carinho e a Dayane por toda atenção!
Agradeço em especial aos membros da banca, Geraldo, Bruno, Lidiane e Tatiane, que
dedicaram seu tempo a fim de trazer contribuições a este trabalho.

“Que ninguém se engane, só se consegue a simplicidade através de muito trabalho”

CLARICE LISPECTOR

RESUMO

Achatina fulica, Bowdich, 1822 e *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) são espécies de moluscos terrestres exóticas que conseguiram se estabelecer em quase todos os Estados brasileiros. Estas espécies são citadas na literatura como hospedeiros de parasitos, incluindo espécies de interesse médico-veterinário. Também são citadas como pragas agrícolas, pragas urbanas e causadoras de desequilíbrio da malacofauna nativa. Em áreas de grandes infestações esses moluscos são causadores de grandes prejuízos econômicos. Além disso, as conchas vazias desses animais no ambiente representam um local propício para formação de criadouros do mosquito o *Aedes aegypti*, transmissor da dengue, da febre Chikungunya e do Zika Vírus, acarretando grave problema para saúde pública. Os produtos utilizados para o controle desses animais possuem em sua composição química a presença de metaldeído, substância tóxica também para outros animais incluindo seres humanos. Podendo inclusive ser responsável pela contaminação de lençóis freáticos. Substâncias de origem vegetal podem ser seletivas, menos tóxicas para o ambiente e biodegradáveis. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade moluscicida e ovicida do timol e mentol sobre as espécies *A. fulica* e *B. similaris* em condições de laboratório. Os moluscos adultos foram coletados em quatro bairros da cidade de Juiz de Fora, aclimatados às condições laboratoriais por 72 horas. Nos testes do timol P.A em ovos, jovens e adultos de *A. fulica* foram utilizadas as concentrações de 80g/L, 75g/L, 70g/L, 65g/L, 60g/L, 50g/L, 40g/L, 30g/L, 20g/L, 10g/L, 9g/L, 8g/L, 7g/L, 6g/L, 5g/L, 4g/L, 3g/L, 2g/L, 1g/L, 0.9g/L, 0.8g/L, 0.7g/L 0.6 g/L, 0.5 g/L, 0.4 g/L, 0.3 g/L, 0.2 g/L, 0.1 g/L, 0.02g/L e 0.01g/L, acrescido de dimetilsulfóxido (DMSO) 1%, com água destilada aquecida a 60°C, que foram aspersas nos terrários. Nos testes do mentol P.A em ovos, jovens e adultos de *B. similaris* foram testadas as concentrações 0.1g/L, 1g/L, 2.5g/L, 3g/L, 5g/L, 10g/L, 20g/L e 50g/L, ambos com seis repetições. O primeiro controle recebeu água destilada acrescida de DMSO a 1% e o segundo apenas água destilada. O timol e mentol apresentaram atividade moluscicida e ovicida para as espécies em que foram testados, causando em algumas concentrações 100% de mortalidade e impedindo a eclosão dos jovens de forma eficaz. Essas duas substâncias representam uma forma eficiente e menos tóxica para o ambiente. O estabelecimento de um protocolo de utilização em campo dessas substâncias pode representar uma forma eficaz de controle, em áreas infestadas, por moluscos exóticos.

Palavras-chave: biocidas. Praga-agrícola. Controle. Moluscos-exóticos.

ABSTRACT

Achatina fulica, Bowdich, 1822 and *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) are species of exotic terrestrial snails that have spread to almost all Brazilian states. These species are cited in the literature as parasite hosts, including species of veterinary interest. They are also mentioned as agricultural pests, urban pests and causes of imbalance of native malacofauna. In areas of large infestations, these snails cause major economic losses. Besides that, their empty shells are favorable breeding places of the mosquito *Aedes aegypti*, transmitter of dengue fever, chikungunya fever and zika virus, causing serious public health problems. The products used to control these animals contain metaldehyde, also toxic to other animals including humans, as well as causing groundwater contamination. Substances of plant origin can be selective, less environmentally toxic and biodegradable. Therefore, the objective of this work was to evaluate the molluscicidal and ovicidal activity of thymol and menthol on *A. fulica* and *B. similaris* under laboratory conditions. Adult snails were collected in four different districts of the city of Juiz de Fora, acclimated to laboratory conditions for 72 hours. In the tests of thymol PA on eggs, juveniles and adults of *A. fulica*, concentrations of 80g / L, 75g / L, 70g / L, 65g / L, 60g / L, 50g / L, 40g / L, 30g / L, 20g / L, 10g / L, 9g / L, 8g / L, 7g / L, 6g / L, 5g / L, 4g / L, 3g / L, 2g / L, 1g / L, 0.9g / L, 0.8g / L, 0.7g / L, 0.6g / L, 0.5g / L, 0.4g / L, 0.3g / L, 0.2g / L, 0.1g / L, 0.02g / L, and 0.01g / L were used, plus 1% dimethyl sulfoxide (DMSO) with distilled water heated to 60 ° C, which were sprayed into the terrarium. In the menthol PA tests on *B. similaris* eggs, juveniles and adults, the concentrations tested were 0.1g / L, 1g / L, 2.5g / L, 3g / L, 5g / L, 10g / L, 20g / L and 50 g / L, both with six repetitions. The first control received distilled water plus 1% DMSO and the second only distilled water. Thymol and menthol showed molluscicidal and ovicidal activity on the species for which they were tested. Some concentrations caused 100% mortality, preventing the juveniles from hatching. These two substances are thus efficient and less toxic to the environment. The establishment of a protocol for the field use of these substances can be an effective way to control exotic snails in infested areas.

Key words: Biocides. Agricultural pests. Control. Exotic snails.

RESUMO DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

As espécies de moluscos terrestres *Bradybaena similaris* e *Achatina fulica* não fazem parte da malacofauna nativa do nosso país e competem diretamente com os moluscos nativos por sítios de alimentação e reprodução, fato este, que pode levar ao desequilíbrio ecológico em áreas de infestação. Essas espécies foram introduzidas no país e conseguiram se adaptar ao novo ambiente, proliferando em várias regiões do Brasil. São consideradas pragas agrícolas e urbanas, estando presentes em quase todos os Estados brasileiros. Esses moluscos são hermafroditas, podem fazer a autofecundação, mas também realizam cópula cruzada, possuem vários eventos reprodutivos ao longo do ano e liberam um grande número de ovos por evento reprodutivo.

A espécie *B. similaris*, conhecida popularmente como caracol de jardim, é originária da China e provavelmente chegou ao Brasil por meio do comércio de plantas cultivadas. Estes moluscos são capazes de produzir cerca de 60 ovos por evento reprodutivo, com uma taxa de eclosão dos jovens de aproximadamente 80%. É consumidora por excelência de hortaliças de consumo humano e por isso causa prejuízos a agricultura nas áreas de infestação. Também pode atuar como hospedeira de vários parasitos de interesse médico veterinário, entre os principais, podemos citar o *Angiostrongylus cantonensis*, *A. costaricensis*, relacionados a angiostrongilíase abdominal e meningoencefalite humana.

Achatina fulica é conhecida popularmente como Caramujo gigante africano, foi introduzida no Brasil na década de 80 para substituir o “escargot”. Como não obteve aceitação comercial, os criadores abandonaram os animais no ambiente. Os moluscos conseguiram uma rápida adaptação e hoje são encontrados em 23 Estados brasileiros. Nas áreas de grande infestação é capaz de devastar culturas inteiras de hortaliças, causando grande prejuízos à agricultura do país. Além das horticulturas, podem ser encontradas em áreas urbanas, principalmente em terrenos abandonados, lixões e beira de córregos e por isso é considerada também como praga urbana. Esta espécie produz anualmente cerca de 50 a 400 ovos por evento reprodutivo, com taxa de eclosão e sobrevivência de jovens semelhante a *B. similaris*. Associada as condições reprodutivas temos a ausência do predador natural, todos esses fatores permitem o crescimento descontrolado da população.

O controle dessas espécies representa a interrupção do ciclo de vida dos parasitos e a diminuição dos danos causados a agricultura e a malacofauna nativa. O controle de moluscos terrestres tem sido feito pela catação manual, utilização de iscas ou moluscidas sintéticos. Os produtos utilizados possuem em sua composição química a presença de metaldeído,

substância tóxica também para outros animais incluindo seres humanos. Podendo inclusive ser responsável pela contaminação de lençóis freáticos. Várias substâncias produzidas a partir do metabolismo secundário de plantas possuem bioatividade e podem ser utilizadas no controle de vários tipos de pragas, inclusive moluscos. O timol e o mentol são exemplos dessas substâncias e apresentaram comprovada atividade ovicida e moluscicida sobre essas duas espécies, chegando a causar 100% de mortalidade em algumas concentrações testadas.

Substâncias de origem vegetal que sejam eficientes no controle desses animais representam uma forma eficaz e mais segura na sua utilização, uma vez, que são menos tóxicas para o ambiente, de baixo custo e biodegradáveis. O estabelecimento de um protocolo de utilização dessas substâncias associadas a outras formas de controle, pode representar o efetivo controle desses invasores.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 -** Coleta e criação moluscos utilizados no experimento. A - Local da coleta; B- *Achatina fulica* no solo na área de coleta; C - Moluscos adultos coletados; D - Cópula entre os indivíduos; E - Ovos no útero de *A. fulica*; F -Estabelecimento da matriz no laboratório de Artrópodes e Parasitos da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sudeste do Brasil, 2017.....23
- Figura 2 -** Estrutura química do timol.....24
- Figura 3 -** A - Teste com *Achatina fulica* adultas. B -Teste com *Achatina fulica* 30 dias de idade, obtidos da matriz estabelecida no Laboratório de Artrópodes e Parasitos da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sudeste do Brasil.....25
- Figura 4 -** Curva resposta do tratamento de adultos de *Achatina fulica* com diferentes concentrações de timol+DMSO.....28
- Figura 5 -** Curva resposta do tratamento de jovens de 30 dias de idade de *Achatina fulica* com diferentes concentrações de timol+DMSO.....28
- Figura 6 -** Liberação de substância viscosa por *Achatiana fulica* após aplicação do timol. A- Substância liberada imediatamente após a aplicação; B- Animal morto após 20 minutos da aplicação na concentração de 20g/L.....29
- Figura 7 -** Coleta de *Bradybaena similaris*, no bairro Valadares, Município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Sudeste do Brasil, 20178. A - Local da coleta; B- *B. similaris* no solo na área de coleta; C – Ovos obtidos na matriz para realização dos testes ovicidas.....41
- Figura 8 -** Moluscos distribuídos nos terrários, com seis repetições para cada concentração de timol testada. Laboratório de Artrópodes Parasitos, Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sudeste do Brasil.....42

Figura 9 -	Estrutura química do mentol.....	42
Figura 10 -	<i>Bradybaena similaris</i> morta 24 horas após aplicação do mentol com a massa cefalopodal exposta.....	44
Figura 11 -	Curva dose- resposta de mortalidade de adultos de <i>Bradybaena similaris</i> submetidos a diferentes concentrações do mentol no período de 24 horas em condições de laboratório.....	45
Figura 12 -	A - Ovos de <i>Bradybaena similaris</i> ; B- ovos de <i>Achatina fulica</i> nos terrários..	57
Figura 13 -	Ovos de <i>Achatina fulica</i> tratados com timol.....	58

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Mortalidade (%) de adultos e jovens de 30 dias de idade de *Achatina fulica* tratados com timol+DMSO em diferentes concentrações (g /L), em condições de laboratório.....27
- Tabela 2 -** Mortalidade (%) de adultos de *Bradybaena similaris* submetidas a diferentes concentrações de mentol P. A+DMSO, no período de 24 e 72 horas e ao longo de 90 dias em condições de laboratório.....45
- Tabela 3 -** Taxa de mortalidade (%) dos ovos de *Achatina fulica* e *Bradybaena similaris* tratados com diferentes concentrações de Timol P. A+DMSO e Mentol P. A+DMSO.....46
- Tabela 4 -** Taxa de mortalidade (%) dos ovos de *Achatina fulica* e *Bradybaena similaris* tratados com diferentes concentrações de Timol P.A. + DMSO e Mentol P.A. + DMSO.....59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

TA	Temperatura atmosférica
UR	Umidade relativa do ar
CL	Concentração letal
DMSO	Dimetilsulfóxido
P.A.	PURO

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 CONTROLE DA PRAGA EXÓTICA <i>Achatina fulica</i> BOWDICH,1822 (MOLLUSCA, GASTROPODA).....	21
2.1 INTRODUÇÃO.....	21
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	23
2.3 RESULTADOS.....	26
2.4 DISCUSSÃO.....	29
2.5 CONCLUSÃO.....	32
3 UTILIZAÇÃO DO MENTOL NO CONTROLE DA ESPÉCIE EXÓTICA <i>Bradybaena similares</i> (FÉRUSSAC, 1821) (MOLLUSCA: BRADYBAENIDAE).....	39
3.1 INTRODUÇÃO.....	39
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	40
3.3 RESULTADOS.....	43
3.4 DISCUSSÃO.....	46
3.5 CONCLUSÃO.....	49
4 ATIVIDADE OVICIDA DO TIMOL E MENTOL SOBRE DUAS ESPÉCIES DE MOLUSCOS INVASORES.....	55
4.1 INTRODUÇÃO.....	55
4.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	57
4.3 RESULTADOS.....	58
4.4 DISCUSSÃO.....	59
4.5 CONCLUSÃO.....	61
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	65
6 REFERÊNCIAS.....	65

1 INTRODUÇÃO

Achatina fulica, Bowdich, 1822 e *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) são espécies de moluscos terrestres exóticas que conseguiram se estabelecer em quase todos os estados brasileiros (VASCONCELLOS e PILE, 2001; FARACO e LACERDA, 2004). Estas espécies são citadas na literatura como hospedeiros de parasitos de interesse médico-veterinário (CALDEIRA et al., 2007; THIENGO et al., 2008, PORTO et al., 2012; VALENTE, et al., 2017), pragas agrícolas, pragas urbanas e causadoras de desequilíbrio da malacofauna nativa (TELES et al., 1997; PAIVA, 1999; VASCONCELLOS e PILE, 2001; TELES e FONTES, 2002; FISHER e COLEY, 2005; COLLEY e FISCHER, 2009).

Além do Brasil *A. fulica* se encontra disseminada em várias regiões: Sudeste asiático (Tailândia, Vietnã, Sumatra, Malásia, Indonésia, Taiwan e Filipinas), China, Ilhas do Pacífico (Havaí, Taiti, Célebes e outras), Austrália, Japão e continente Americano (MALEK e CHENG, 1974; WILSON, 1991), estando na lista das 100 principais espécies invasoras do mundo (ALOWE et al., 2004). Segundo Simone (1999), esta espécie invade áreas naturais e compete com os moluscos nativos; espaço e alimento tal fato pode causar a destruição da malacofauna nativa, que fatalmente levará ao desequilíbrio ecológico. A espécie *B. similaris* é originária da China e atualmente pode ser encontrada do Amapá ao Rio Grande do Sul e provoca prejuízos na agricultura em áreas infestadas (ALMEIDA E BESSA, 2001; THIENGO et al., 2005).

Existe também a possibilidade desses animais albergarem microorganismos patogênicos, uma vez que podem ser encontrados em ambientes contaminados, como por exemplo, lixões, cemitérios e beiras de córregos (ROCCO et al., 2004; SILVA et al., 2019). Outro problema que preocupa é que após a morte do animal, suas conchas permanecem expostas no ambiente podendo ocorrer acúmulo de água e conseqüentemente servirem como criadouro de mosquitos como o *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762), transmissor da dengue, da febre Chikungunya e do Zika Vírus, acarretando grave problema para saúde pública (COELHO, 2005; CARVALHO e NUNES, 2009). O controle da população desses moluscos representa a interrupção do ciclo de vida de alguns parasitos e a diminuição dos danos causados à agricultura e à malacofauna da região infestada.

A utilização de produtos químicos industrializados no combate a estes moluscos provoca graves danos ao ambiente (DELLAMATRICE e MONTEIRO, 2014). A Organização

Mundial de Saúde (OMS) (Who, 1983) recomenda a substituição dos moluscicidas sintéticos por princípios bioativos extraídos de vegetais.

Trabalhos com moluscos terrestres tem se intensificado e alguns resultados apontam para utilização de substâncias de origem vegetal, que podem contribuir para o controle desses animais (SOUZA, 2003; NASCIMENTO et al., 2006; ARÉVOLO et al., 2006; FERREIRA et al., 2009; 2010; 2011; AFONSO-NETO et al., 2010; SOUZA et al., 2013; SILVA et al., 2013; SOUZA et al., 2014; SILVA-JÚNIOR et al., 2017; NASCIMENTO et al., 2018). No entanto, novos estudos ainda são necessários para que um efeito eficaz seja encontrado. Atualmente, a tentativa de controle de *A. fulica* baseia-se apenas na catação manual e posterior incineração (COLLEY, 2010; MIRANDA et al., 2012; SILVEIRA et al. 2012). Outra forma de controle de moluscos terrestres envolve a utilização de iscas contendo metaldeído, substância tóxica para vertebrados (BARONIO et al., 2014). Porém, tais medidas não têm impedido a invasão e proliferação desses animais em diversas áreas do Brasil e do mundo.

O timol e o mentol são substâncias formadas no metabolismo secundário de plantas da família Lamiaceae. Possuem baixa toxidez para vertebrados e são encontrados em vários produtos de consumo humano. O timol ($2[(CH_3)_2CH]$) possui comprovada atividade bactericida e fungicida, além de possuir comprovada atividade antiinflamatória (BUDAVARI, 1989; OKAZAKI et al., 2002; WICHT et al., 2004). Sua atividade moluscicida foi verificada sobre *Lymnaea acuminata* Lamarck, 1811 (SINGH & SINGH, 1997) e *Biomphalaria* spp. (BEZERRA et al., 1981). Com relação aos moluscos terrestres o timol atuou como moluscicida e ovidica sobre as espécies *B. similaris*, *Subulina octona* (Brugüiere, 1789) e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (SOUZA, 2003; FERREIRA et al., 2009, 2010).

O mentol $C_{10}H_{20}O$ é encontrado em diversos produtos industrializados de utilização humana como, por exemplo, chicletes, balas, creme dental e xarope. Isso indica sua baixa toxidez ao ser humano e ao ambiente. Estudos sobre bioatividade do mentol em larvas do carrapato *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) mostrou ação repelente (NOVELINO et al., 2007), o que pode indicar seu potencial moluscicida.

A falta de medidas eficazes que impeçam crescimento populacional descontrolado de moluscos terrestres invasores, mostram a necessidade da descoberta de novas formas de controle além da catação manual. Por isso, estudos que apontam novas substâncias com potencial moluscicida aliado a outras técnicas representam uma alternativa de controle efetivo.

2 CONTROLE DA PRAGA EXÓTICA *Achatina fulica* BOWDICH, 1822 (MOLLUSCA, GASTROPODA)

ABSTRACT

Achatina fulica is a terrestrial snail native to the African continent but currently found in many countries all over the world. It is considered both an urban and agricultural pest, causing significant economic losses. Substances extracted from plant have shown effective results in pest control. Thymol (=5-methyl-2-isopropyl-1-phenol) is a substance obtained from the oil of species of the Lamiaceae family. It is used in oral microbicide products, acting both as bactericide and fungicide. The aim of this work was to evaluate the molluscicidal activity of thymol on adults and 30-day-old juveniles of *A. fulica* in bioassays. Nine hundred sixty adults and 960 juvenile snails. Thirty concentrations, between 80 and 0.01g / L, were tested. Thymol acted as a molluscicide on *A. fulica* adults and juveniles at concentrations of 80 to 30g/L causing 100% mortality. No deaths were recorded for the control group. These results contribute to the control of this gastropod in highly infested areas, including in association with other control techniques. Since this is a difficult pest to control and even at present there is no effective control pest.

Key words: vegetable molluscicide, snail-terrestrial, molluscicide substance.

2.1 INTRODUÇÃO

Achatina fulica Bowdich, 1822 é um molusco terrestre nativo da África Oriental e Central (RAO e SINGH, 2000), está entre as 100 principais pragas do mundo (ALOWE et al., 2007). É chamado de gigante africano devido as dimensões corporais que pode atingir, 20cm de comprimento. Atualmente esta espécie encontra-se disseminada em vários países do mundo especialmente no Sudeste Asiático (Tailândia, Vietnã, Sumatra, Indonésia, Taiwan e Filipinas), China, Ilhas do Pacífico (Havaí, Taiti, Celebes), Austrália, Japão e Américas (WILSON, 1991; MALEK e CHENG, 1974). No Brasil é considerada praga em quase todo o território nacional sendo encontrada em 23 estados brasileiros (VASCONCELLOS e PILE, 2001; FARACO e LACERDA, 2004; ZANOL et al., 2010). Também é citada na literatura como hospedeira de parasitos (CALDEIRA et al., 2007; THIENGO et al., 2008; PORTO et al., 2012; THIENGO et al., 2013; SANTOS e OLIVEIRA, 2019), praga agrícola e urbana, que

causa danos à malacofauna nativa (TELES et al., 1997; PAIVA, 1999; VASCONCELLOS e PILE, 2001; FISCHER e COLLEY, 2005; COLLEY e FISCHER, 2009; SARMA et al., 2015) e, portanto, grandes prejuízos econômicos e ambientais.

Além disso, estes moluscos podem hospedar microorganismos patogênicos, uma vez que normalmente são encontrados em ambientes contaminados, como córregos, lixões, cemitérios e bordas de riachos poluídos (SILVA, et al., 2019). Outro problema é a presença de suas conchas expostas no ambiente. Em caso de acúmulo de água, servem como criadouros do mosquito *Aedes aegypti*, transmissor da dengue, Chikungunya e Zika Vírus, causando sérios problemas de saúde pública (COELHO, 2005; CARVALHO e NUNES, 2009; ANDREAZZI et al., 2017).

O controle desses animais em áreas infestadas representa a redução dos danos causados à agricultura, ao meio ambiente e à malacofauna nativa. No entanto, o uso de produtos químicos sintéticos pode causar poluição grave ao ambiente, uma vez que os produtos utilizados são altamente tóxicos, podendo contaminar as águas superficiais e os lençóis freáticos (DELLAMATRICE e MONTEIRO, 2014). Além disso, esses produtos são caros e ineficazes no controle desses animais. As atuais tentativas são baseadas principalmente na coleta manual seguida de incineração (EDUVIRGEM e FERREIRA, 2019). No entanto, essas medidas não impediram que esses animais invadissem e se espalhassem incontrolavelmente em diferentes áreas do país e do mundo. Diante disso, aumentam as buscas por substâncias extraídas de plantas que sejam, menos tóxicas, biodegradável, seletivas, eficazes, mais baratas e de fácil aplicação (VASCONCELOS, 2000; FERREIRA et al., 2009; SILVA et al., 2012; SOUZA et al., 2013; NASCIMENTO et al., 2018; SILVA-JÚNIOR et al., 2018).

Substâncias produzidas pelo metabolismo secundário de algumas espécies de plantas possuem várias atividades biocidas que podem ser usadas para controlar moluscos (SILVA et al., 2012, SOUZA et al., 2013; SOUZA et al., 2014; NASCIMENTO et al. 2018). O timol (= 5-metil-2-isopropil-1-fenol) é um monoterpênóide obtido a partir do óleo de espécies de Lamiaceae, como *Monarda punctata* L. (hortelã), *Thymus vulgaris* L. (tomilho) e *Thymus persicus* L. O timol atuou como agente moluscicida e ovicida nas espécies *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821), *Subulina octona* (Brugüière, 1879), e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835), (SOUZA, 2003; FERREIRA, 2005).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade moluscicida do timol+DMSO em moluscos jovens e adultos de *A. fulica* por meio de bioensaios em condições de laboratório e, a partir disso, gerar subsídios e estabelecer protocolos de aplicação em campo.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

Bioensaios

Os testes foram realizados no Laboratório de Pós-Graduação Artrópodes Parasitos, da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil. Os moluscos adultos foram coletados em três bairros (Santa Luzia, Jóquei Clube e Bairro de Lurdes) da cidade de Juiz de Fora, aclimatados às condições laboratoriais por 72 horas a 25-27°C. Foram utilizados 527 moluscos adultos, com diâmetro de concha de 6,1-10,5cm e 527 moluscos com 30 dias de idade com diâmetro de concha de 1,8-2,4cm, que foram obtidos a partir de uma matriz estabelecida no laboratório (FIG. 01 A, B, C, D, E, F).

Figura 01 – Coleta e criação moluscos utilizados no experimento. A - Local da coleta; B- *Achatina fulica* no solo na área de coleta; C- Moluscos adultos coletados; D - Cópula entre os indivíduos; E- Ovos no útero de *A. fulica*; F -Estabelecimento da matriz no laboratório de Artrópodes Parasitos da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sudeste do Brasil, 2017.



Fonte: Arquivo Pessoal, 2017



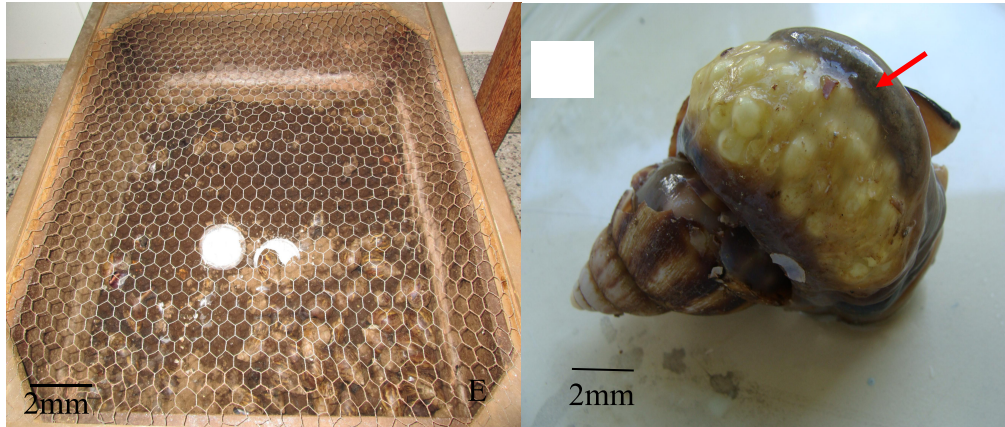
Fonte: Arquivo Pessoal, 2017



Fonte: Arquivo Pessoal, 2017



Fonte: Arquivo Pessoal, 2017

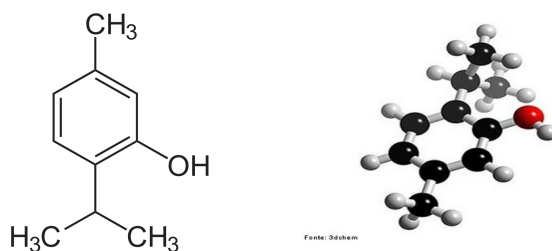


Fonte: Arquivo Pessoal, 2017

Fonte: Arquivo Pessoal, 2017

As concentrações de timol+DMSO utilizadas nos testes foram 80g/L, 75g/L, 70g/L, 65g/L, 60g/L, 50g/L, 40g/L, 30g/L, 20g/L, 10g/L, 9g/L, 8g/L, 7g/L, 6g/L, 5g/L, 4g/L, 3g/L, 2g/L, 1g/L, 0.9g/L, 0.8g/L, 0.7g/L, 0.6 g/L, 0.5 g/L, 0.4 g/L, 0.3 g/L, 0.2 g/L, 0.1 g/L, 0.02g/L e 0.01g/L. Para emulsificação do timol P.A (Synth®) (FIG. 02), insolúvel em água, foi utilizado dimetilsulfóxido (Isofar®) (DMSO) a 1%, com água destilada aquecida a 60°C. Foram estabelecidos dois grupos controle, o primeiro com água destilada e DMSO a 1% e o segundo apenas com água destilada (FERREIRA et al., 2011).

Figura 02- Estrutura molecular do Timol.



Fonte: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Estrutura-de-timol-e-carvacrol_fig1_259971943

Para cada concentração, foram utilizados 18 moluscos jovens e adultos, distribuídos em grupos de três e colocados em terrários de 20cm x 10cm contendo 7cm de terra vegetal previamente esterilizado (120°C/1h) (FIG. 03). Cada terrário foi pulverizado com 30mL de cada uma das concentrações de timol+DMSO, de acordo com o tratamento para cada grupo. Os moluscos foram mantidos no terrário por 24 horas, após este período foram removidos e observados sob microscópio estereoscópico para confirmar a morte. A mortalidade foi observada até 72 horas após a exposição.

Figura 03 – A - Teste com *Achatina fulica* adultas. B -Teste com *Achatina fulica* 30 dias de idade, obtidos da matriz estabelecida no Laboratório de artrópodos e Parasitos da Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sudeste do Brasil.



Fonte: Arquivo pessoal, 2017

Fonte: Arquivo pessoal, 2017



Fonte: Arquivo pessoal, 2017

Fonte: Arquivo pessoal, 2017

Determinação das concentrações letais (CL₉₀) e sub-letais (CL₅₀)

Para determinar o CL₅₀ e o CL₉₀, um modelo estatístico foi construído com base na correlação de amostras entre concentração e mortalidade/eclosão. A partir daí, foi possível estimar e prever as doses sub-letais de CL₅₀ e LC₉₀.

Novos ensaios foram realizados com 30 indivíduos adultos e 30 jovens (com 30 dias de idade), os quais foram expostos às concentrações por 24 horas. Após esse período, os indivíduos foram observados por 90 dias para registrar eventos de sobrevivência e oviposição. As observações foram realizadas a cada três dias, quando era realizada a manutenção de terrários (troca de alimentos e umidificação). A temperatura e a umidade relativa do ar foram registradas com um termo-higrômetro.

Para análise estatística foi utilizada a análise de variância, Bioestat versão 5.3, (ANOVA, $p < 0,05$), seguida pelos testes de Tukey-Kramer e Bonferroni. Para investigar a relação entre concentração e mortalidade, foi utilizado o índice de correlação de Pearson. Todas as estatísticas foram consideradas significativas com um nível de $\alpha = 5\%$.

2.3 RESULTADOS

Ensaio de bioatividade

O timol causou 100% de mortalidade em moluscos adultos de *A. fulica* nas concentrações de 80 a 30g/L ($p < 0,05$). Os moluscos não apresentaram nenhum tipo de mobilidade após 20 minutos da aplicação. Não foi encontrada mortalidade nos grupos controle (Tabela 1). A mortalidade nas concentrações de 20 a 6g/L também diferiu do grupo controle ($p = 0,01$). O coeficiente de Pearson mostrou correlação positiva entre as concentrações testadas e a mortalidade ($r = 0,725$; $p = 0,01$). Nos indivíduos jovens, o timol causou 100% de mortalidade em concentrações de 80 a 5g/L ($p = 0,01$). O coeficiente de Pearson apresentou fraca correlação positiva ($r = 0,376$; $p = 0,04$) (Tabela 01).

Tabela 01- Mortalidade (%) de adultos e jovens de 30 dias de idade de *Achatina fulica* tratadas com timol+DMSO em diferentes concentrações (g/L), em condições de laboratório.

Tratamento com timol+DMSO 1% (g/L)	Adultos (% mortalidade)	Jovens de 30 dias de idade (% mortalidade)
80g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
75g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
70g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
65g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
60g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
50g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
40g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
30g/L	100.00 ^a	100.00 ^a
20g/L	96.33 ^a	100.00 ^a
10g/L	96.33 ^a	100.00 ^a
9g/L	86.66 ^a	100.00 ^a
8g/L	80.00 ^a	100.00 ^a
7g/L	83.33 ^a	100.00 ^a
6g/L	80.00 ^a	100.00 ^a
5g/L	53.33 ^b	100.00 ^a
4g/L	50.00 ^b	93.66 ^a
3g/L	43.33 ^b	96.66 ^a
2g/L	36.66 ^b	93.66 ^a
1g/L	06.66 ^c	90.00 ^a
0.9g/L	00.00 ^c	90.00 ^a
0.8g/L	00.00 ^c	86.66 ^a
0.7g/L	00.00 ^c	90.00 ^a
0.6g/L	00.00 ^c	86.00 ^a
0.5g/L	00.00 ^c	86.00 ^a
0.4g/L	00.00 ^c	76.66 ^b
0.3g/L	00.00 ^c	73.33 ^b
0.2g/L	00.00 ^c	73.33 ^b
0.1g/L	00.00 ^c	00.00 ^c
0.02g/L	00.00 ^c	00.00 ^c
0.01g/L	00.00 ^c	00.00 ^c
Controle (água destilada)	00.00 ^c	00.00 ^c
Controle (destilada+DMSO 1%)	00.00 ^c	00.00 ^c

Valores com letras diferentes são significativamente diferentes.

Determinação das concentrações letais (CL₉₀) e sub-letais (CL₅₀)

A CL_{90} de timol encontrada para adultos de *A. fulica* foi de 33g/L e o CL_{50} foi de 3g/L. Para os moluscos jovens com 30 dias de idade, a CL_{90} encontrada foi de 4,52 g/L e a CL_{50} foi de 0,05 g/L (FIG. 04; 05).

Figura 04. Curva resposta do tratamento de adultos de *Achatina fulica* com diferentes concentrações de timol+DMSO.

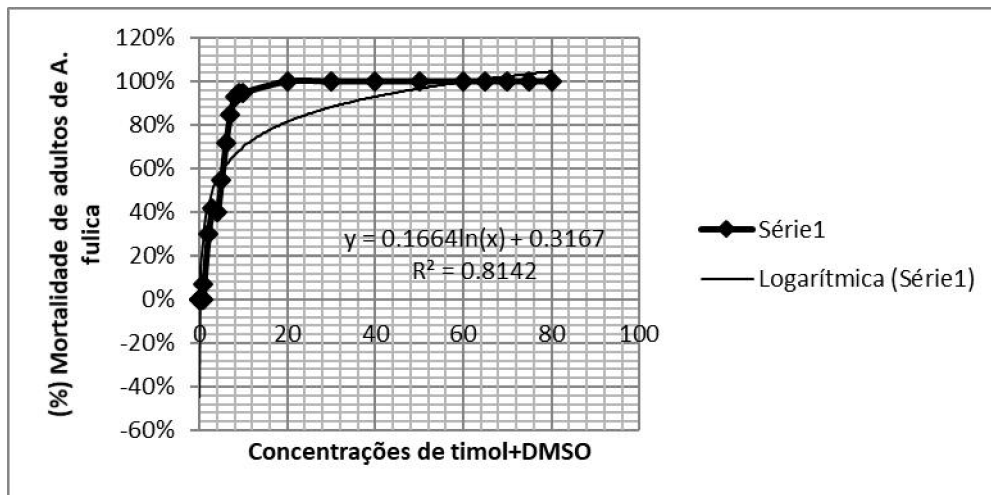
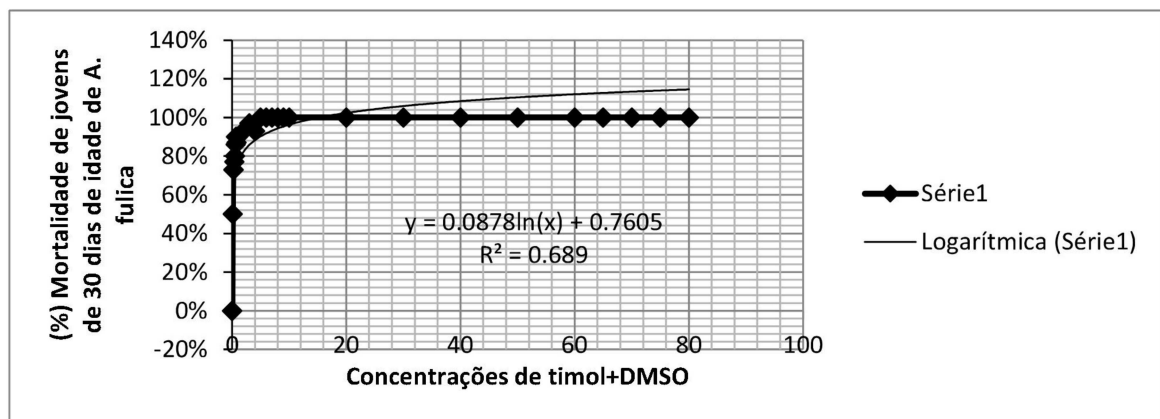


Figure 05. Curva resposta do tratamento de jovens de 30 dias de idade de *Achatina fulica*, diferentes concentrações de timol+DMSO.

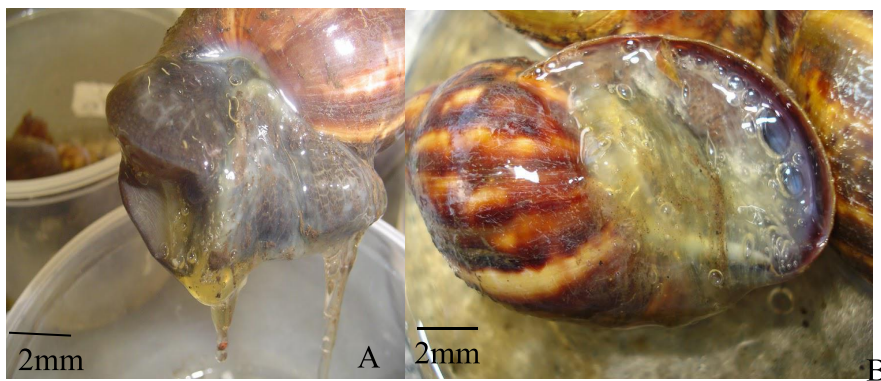


No final do experimento (90 dias), nenhuma oviposição foi registrada nos grupos tratados com as concentrações de timol (CL_{50} ou LC_{90}). Ao longo do experimento foi registrada a morte de 16 animais que foram tratados com a CL_{50} . De todos os animais expostos ao CL_{90} , apenas um sobreviveu até o final do experimento. Nenhuma mortalidade foi verificada nos grupos controle. No grupo controle tratado com água destilada, foram encontrados 215 ovos no terrário, com uma taxa de eclosão de 82% de jovens. No grupo

controle tratado com água mais 1% de DMSO, o número de ovos encontrados foi 232, com uma taxa de eclosão de 87%.

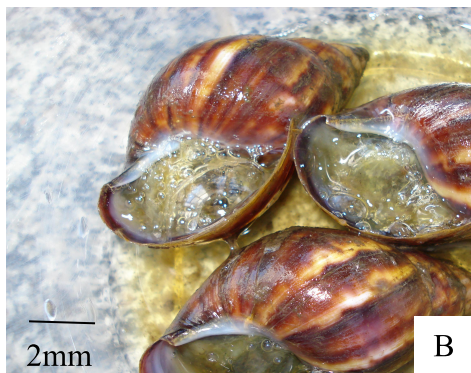
Durante a aplicação do timol, os moluscos liberaram uma grande quantidade de uma substância viscosa, provavelmente vinda da produção excessiva de muco e liberação da hemolinfa, causada pela ruptura celular. Essa resposta foi verificada em todas as concentrações testadas (FIG. 06).

Figure 06. Liberação de substância viscosa por *Achatina fulica* após aplicação do timol. A- Substância liberada imediatamente após a aplicação; B- Animal morto após 20 minutos da aplicação da concentração de 20g/L.

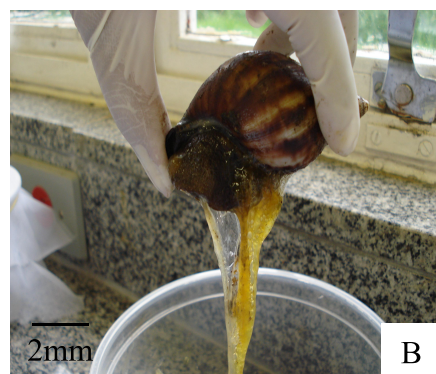


Fonte: Arquivo Pessoal, 2018

Fonte: Arquivo pessoal, 2018



Fonte: Arquivo Pessoal, 2018



Fonte: Arquivo Pessoal, 2018

2.4 DISCUSSÃO

O timol atuou como um moluscicida eficaz no controle de *A. fulica* a partir da concentração de 30g /L, a mortalidade verificada em jovens e adultos comprova sua eficiência e possível utilização em áreas infestadas. Também possui vantagem sobre outras substâncias

por apresentar baixa toxidez em vertebrados (BUDAVARI, 1989; ZAURA-ARITE e TEM CATE, 2000).

É uma substância comumente encontrada em produtos utilizados dia a dia no combate a microrganismos da boca, atuando como bactericida e fungicida. Também é utilizado no tratamento da candidíase em concentrações de 3% (30gmL), possui atividade anti-inflamatória eficaz (OKAZAKI et al., 2002; BUDAVARI, 1989; WICHT et al., 2004). Além disso, é uma substância biodegradável, de baixo custo e menos tóxica ao meio ambiente (MUSTAFA, 2018). Miranda et al. (2012) testaram o extrato aquoso de *Morus rubra* L. sobre adultos desta espécie. Porém, não houve atividade moluscicida. O Potencial biocida do extrato aquoso de *Ruta graveolens* L. (Rutaceae), *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) e *Arnica chamissonis* Less (Asteraceae), também foram avaliados e mais uma vez, nenhum resultado moluscicida encontrado (MORAES et al., 2014). Vieira et al. (2016) testaram o extrato aquoso de quatro espécies de plantas (*Baccharis dracunculifolia* DC.), amora (*Morus rubra* L.), tiririca (*Cyperus rotundus* L.), leiteira (*Euphorbia heterophylla* L.) e cravo-da-índia (*Syzygium aromaticum* (L.)), esses autores utilizaram concentrações de até 100% e apenas o extrato de *E. heterophylla* apresentou 50% de mortalidade. Sell et al. (2018) testaram o extrato aquoso de *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. sobre indivíduos adultos de *A. fulica*, nenhuma atividade moluscicida foi verificada.

No entanto, ainda existem poucos estudos sobre o efeito do timol em moluscos terrestres. Aqui, destacamos os resultados encontrados por Souza (2003), que verificou atividade moluscicida do timol nos gastrópodes adultos terrestres *B. similaris*, *S. octona* e Ferreira et al., (2009, 2010, 2011), que verificaram a ocorrência da atividade moluscicida e ovicida desta substância em ovos e jovens de 10 e 30 dias de idade para as mesmas espécies, resultados semelhantes aos encontrados neste trabalho. A eficácia do timol em moluscos jovens o torna um moluscicida ainda mais promissor, uma vez que os moluscos jovens são relatados na literatura como resistentes aos moluscicidas, exigindo concentrações muito mais altas dos produtos (SOUSA et al., 1987). Desta forma, o timol é uma substância que pode atuar efetivamente em todas fases de desenvolvimento deste molusco.

A liberação da substância viscosa verificada durante a aplicação das concentrações testadas está relacionada à intensa produção de muco, o que indica uma tentativa de minimizar os efeitos do timol no organismo, criando uma barreira protetora evitando o contato direto com o produto. Também pode ter havido liberação de hemolinfa devido aos danos causados nos tecidos. Silva et al., (2012) também observaram forte produção de muco em *S. octona* quando em contato com a substância moluscicida utilizada.

A diminuição da fecundidade verificada neste experimento também foi registrada para indivíduos de *B. similaris* sobreviventes ao tratamento com timol (FERREIRA et al., 2010), o mesmo sendo observado por Rao e Singh (2000) para *A. fulica* tratado com doses subletais de extratos vegetais contendo timol. Esse efeito pode estar relacionado as alterações fisiológicas na metabolização da glicose e glicogênio na hemolinfa, o que causa uma diminuição nas taxas de reprodução desses moluscos, conforme afirma Silva et al. (2012) que utilizou o extrato aquoso de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) e *Solanum lycocarpum* A.St.-Hil. (Solanaceae) em *B. similaris*.

Alterações fisiológicas associadas a danos celulares causados por moluscidas vegetais podem contribuir para uma menor disponibilidade de recursos energéticos para a reprodução. Yousef et al. (2013) relataram a destruição de células da glândula digestiva de duas espécies de moluscos tratados com extratos vegetais de *Ziziphusspina-cristi* (L.) Willd. † (Rhamnaceae), *Maritima ambrosia* L. (Asteraceae) e *Euphorbia splendens* var. *hislopiae* N.E.B. (Euphorbiaceae). Da mesma forma, Kela e Bowen (1995) observaram necrose nas células secretoras da glândula digestiva de *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) tratada com extrato de microcarpo de *Detarium* (Fabaceae). Esses autores também encontraram menor atividade da enzima ATPase e uma diminuição resultante na produção de ATP, significando menores quantidades de energia disponível, interferindo diretamente nos eventos reprodutivos. Mustafa (2018) encontrou lesões na glândula digestiva *Limax maximus* (Linnaeus, 1758) após o tratamento com timol CL₅₀, o que pode explicar os resultados encontrados no presente trabalho.

O uso de produtos químicos industriais, contendo substâncias tóxicas como metaldeído, representa uma séria ameaça ambiental, pois essas substâncias são altamente tóxicas para vertebrados e podem contaminar os lençóis freáticos. Além disso, esses produtos geralmente são caros, inespecíficos e por isso, ineficazes para controlar a praga alvo. Para controle dos moluscos terrestres, os moluscidas são usados na forma de iscas, que além de caros e tóxicos para outros animais da biota terrestre, podem conter metais pesados. Atualmente, o moluscida mais popular para controlar os caracóis aquáticos é o Bayluscide®, que é extremamente tóxico para peixes e outros vertebrados (STURROCK, 1995).

Por outro lado, os produtos derivados de plantas são facilmente obtidos, são baratos, biodegradáveis e menos tóxicos, representando uma alternativa eficaz para o controle desses moluscos.

O conjunto de resultados encontrados neste estudo, juntamente com os baixos custos e riscos ambientais, mostra que o timol é uma substância promissora para ser utilizada em programas de controle de *A. fulica* em áreas densamente infestadas.

2.5 CONCLUSÃO

O timol atuou como um moluscicida eficaz em moluscos de 30 dias e moluscos adultos da espécie *A. fulica*, podendo indicar uma forma alternativa de controle desta espécie em áreas infestadas.

REFERÊNCIAS

ANDREAZZI, M. A.; GASPAROTO, F.; PACCOLA, E. A. S.; SILVA, C. N., RODRIGUES, C. A. F.; LIZAMA, M. L.A. P. (2017): Giant African snail, *Achatina fulica* (Férussac, 1821): an environmental and public health problem in the northwestern of Paraná Stat, Brazil. **Acta Scientiarum Biological Sciences** v. 39 p. 301-307, 2017.

ALOWE, S, BROWNE, M, BOUDJELAS, S. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database. Disponível em <www.issg.org/database> [2019]. Acesso em: 20 dez 2019.

BUDAVARI S., (1989): The Merck index – An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 17th edition, Rahway, Merck & Co., Inc., pp. 1606.

CALDEIRA, R. L.; MENDONÇA, C.L.G.F.; GOVEIA C.O.; LENZI H.L.; GRAFF-TEIXEIRA, C.; LIMA, W.S.; MOTA E.M.; PECORA, I.L.; MEDEIROS, A.M.Z., CARVALHO, O.S. First record of naturally infected with *Angyostrongylus cantonensis* (Chen,1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, 102(7): 887-889, 2007.

CARVALHO, JUNIOR V. C. B.; NUNES, J. R. S. Ocorrência e distribuição do caramujo africano "*Achatina fulica*" Bowdich, 1822, no Município de Várzea Grande-MT. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.6, n.2, p.606-620, 2009.

COELHO, L. M. Informe técnico para o controle do caramujo africano (*Achatina fulica*, Bowdich 1822 em Goiás.Goiânia. **Agência Rural**, 12p, (2005). Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/links/arq_253_informecaramujo.pdf>. Acesso em: 27dez. 2017.

COLLEY, E. & FISHER. M.L. 2009. Avaliação dos problemas enfrentados no manejo do caramujo gigante africano *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata) no Brasil. **Revta. Bras. Zool.** 26: 674-683, 2009.

COLLEY, E. 2010. Medidas de controle do *Achatina fulica*. p. 203-228. In: FISCHER, M. L.; COSTA, L. C. M. O caramujo gigante africano *Achatina fulica* no Brasil. Curitiba: Champagnat, **Coleção Meio Ambiente 1**, PUC/PR, 2010.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiro por pesticidas. **Revista brasileira de engenharia agrícola e Ambiental**. V.18, n.12, p.1296- 1301, 2014.

EDUVIRGEM, R. V.; FERREIRA, M. E. C. Identificação do Melhor período de Controle de *Achatina fulica* em Maringá, Paraná, Brasil. **Vértice**, Rio de Janeiro, v.21, n.1, p.109-124, 2018.

FARACO, F.A. & LACERDA, A.C.R. Contaminação biológica em unidades de conservação – o caso do caramujo africano (*Achatina fulica*, Mollusca, Gastropoda). In Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Rede Nacional Pró Unidades de Conservação, Curitiba, p. 78-84, 2004.

FERREIRA P.A., SOARES G.L.G., D'ÁVILA S., BESSA E.C.A. The influence of caffeine and thymol on survival, growth and reproduction on *Subulina octona* (Brugüere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Brazilian Archives of Biology and thecnology** 52 (4): 945-952, 2009.

FERREIRA P., SOARES G.L.G., D'ÁVILA S., BESSA E.C.A. Influência da cafeína sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *Bradybaena similaris* (Ferrussác, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae). **Revista Brasileira de Zoociências** 12 (2): 157-163, 2010.

FERREIRA P.A., SOARES G.L.G., D'ÁVILA S., BESSA E.C.A. The influence of Thymol+DMSO on survival, growth and reproduction of *Bradybaena similaris* (Mollusca, Bradybaenidae). **Zoologia** (2) 48: 145-150, 2011.

FERREIRA, P. (2005): Influência da cafeína e do timol sobre a sobrevivência, crescimento e a reprodução de três espécies de moluscos terrestres, sob condições de laboratório. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Juiz de Fora**. Juiz de Fora, pp. 116.

FISCHER, M.L. AND COLLEY, E. Espécie invasora em reservas naturais: Caracterização da população de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca, Achatinidae) na Ilha Rasa, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. **Biota Neotropica** 5 (1): 2-18, 2005.

JUNIOR, V. O.S.; OLIVEIRA, A.; ABREU, P.F. Uso de extrato aquoso de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) em testes de sobrevivência sobre *Achatina fulica* (Bowdich, 1822) (Mollusca, Gastropoda). **Revista Brasileira de Zoociências** 19(1): 142-150, 2017.

KELA, S.L., BOWEN I.D. The histopathological effect of *Detarium microcarpum* extract, naturally occurring plant molluscicide on the mid-gut and digestive gland of *Lymnaea stagnalis*. **Cell Biology International** 19 (3): 175-181, 1995.

MALEK, E.A. AND CHENG, T.C. Medical and economic malacology. New York. **Academic Press**. 398pp, 1974.

MIRANDA, A. C. M.; ARIELLY SOUZA BATISTA, A.S.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. Efeito alelopático e moluscicida de amora *Morus rubra* L. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 28-36, 2012.

MORAES, P. R.; SILVA, R. A. C.; SILVA, D. A. M.; BITTENCOURT, A. H. C. Potencial biocidade extratos aquosos de *Ruta graveolens* L., *Baccharis dracunculifolia* DC e *Arnica chamissonis* Less sobre indivíduos adultos de *Achatina fulica*. *Revista Científica da Faminas* - v. 9, n. 1, 91-101, 2014.

MUSTAFA, O. M. Effects of a plant product (Thymol) on the salivary gland of the giant slug *Limax maximus* in Egypt (Histological and Ultrastructural study). *Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries* Vol. 22(3): 55- 69, 2018.

NASCIMENTO, C. A. A.; TOLEDO, A. M.; BESSA, E. C.A.; ABREU, P.F. Influência de *Furcraea foetida* (L.) Haw. sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *Subulina octona* (Brugüiere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Revista Brasileira de Zoociências** 19(1): 31-43, 2018.

OKAZAKI, K.; KAWAZOE, K., TAKAISHI, Y. Human platelet aggregation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Phytother. Res.** 16 (4): 398-399, 2000.

PAIVA C.A.L. (Ed). *Achatina fulica* (Moluscos): praga agrícola e ameaça à saúde pública no Brasil. Página lançada em 10 de maio de 1999 e atualizada em 25 de abril de 2004. Available at: http://www.geocites.com/lagopaiva/achat_tr.htm.

PORTO, S. M. A.; SOUZA, K. C. P.; CÁRDENAS, M. Q.; ROQUE, R. A., PIMPÃO; D. M., ARAÚJO; C. S., MALTA, J. C.O. **Acta Amazonica**, Vol. 42 (2) 245-250, 2012.

RAUT K. AND BARKER G. (2002): *Achatina fulica* Bowdich and others Achatinidae pest in tropical agriculture in Mollusks as crop pest. (Barker & Hamiltons eds). **New Zealand: CAB Publishing.**

RAO, I.G.; SINGH, D.K. Effect of single binary combinations of plant-derived Molluscicides on Reproduction and Survival of the snail *Achatina fulica*. **Arch. Environ. Contamination and Toxicology**, 39: 486-493, 2000.

SANTOS, S. B.; OLIVEIRA, J. L. Distribution of cystus of *Strongyluris* sp. (Nematoda) in the pallial system of *Achatina fulica* Bowdich, 1822 from Vila Dois Rios and Vila do Abraão Ilha Grande, Angra dos Reis, Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Biology**. Vol. 79, 38-44, 2019.

SARMA, R. R.; MUNSI, M.; ANANTHRAM, A. N. Effect of climate change on invasion risk of giant African snail (*Achatina fulica* Férussac, 1821 Achatinidae) in India. **PLOS One**, 1-16. 2015.

SELL, M. S.; SOUZA, I. R.; LEANDRO, AC. Influência do extrato de capim limão (*Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. sobre a germinação de alface (*Lactusa sativa* L.) e verificação da atividade moluscicida sobre *Achatina fulica*. *Analecta*, v. 4, 2018.

SILVA, G. M., SANTOS; M. B., MELO, C. M.; JERALDO, V. L. S. (2019). *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata): Occurrence environmental aspects and presence of nematodes in Sergipe, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, 1-10, 2019.

SILVA L.; SOUZA B.; BESSA, E. C. A.; PINHEIRO, J. Effect of successive applications of the sublethal concentration of *Solanum paniculatum* in *Subulina octona* (Subulinidae). **Journal of Natural Products**. 5: 157- 167, 2012.

SOUZA, B. A.; SILVA, L. C.; CHICARINO, E. D.; BESSA, E. C. A. Preliminary phytochemical screening and molluscicidal activity of the aqueous extract of *Bidens Pilosa* Linné (Asteraceae) in *Subulina octona* (Mollusca, Subulidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol 85(4): 1557-1566, 2013.

SOUZA, B. A.; SILVA, L. C.; CHICARINO, E. D.; BESSA, E. C.A. Phytochemical and molluscicidal activity of *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae) in different lifestages of *Subulina octona* (Mollusca, Subulinidae). **Braz. arch. biol. Technol**, vol. 57 (2) 261-268, 2014.

SOUZA H. E. 2003. Atividade moluscicida e fagoinibidora da cafeína e do timol sobre três espécies de moluscos gastrópodes terrestres em condições de laboratório. Juiz de Fora, Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Juiz de Fora**. pp. 45.

SOUZA, C. P.; MENDES N. M.; ARAÚJO N.; KATZ N. Atividade moluscicida do extrato butílico de *Phytolaca dodecandra* sobre *Biomphalaria glabrata*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 82:345-359, 1987.

STURROCK, R. F. Current concepts of snail control. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, vol. 90 (2): 241-248, 1995.

TELES, H. M. S.; VAZ J. F.; FONTES, L. R.; DOMINGOS, M. F. Registro de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca, Gastropoda) no Brasil: caramujo hospedeiro intermediário de Angiostrongilíase. **Revista de Saúde Pública**, 31: 310-312, 1997.

THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A.; TORRES, E. J. L.; COELHO, P. M.; LANFREDI, R. M. First record of a nematode Metastrongyloidea (*Aelurostrongylus abstrusus* larvae) in *Achatina (Lissachatina) fulica* (Mollusca, Achatinidae) in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.98, n.1, p.34-39, 2008.

THIENGO, S. C.; SIMÕES, R. O.; FERNANDEZ, M. A.; MALDONADO JÚNIOR, A. M. *Angiostrongylus cantonensis* and rat lungworm disease in Brazil. **Hawaii Journal of Asisa Pacific Medicine & Public Health**, vol. 72, p 18-22, 2013.

VALENTE, R.; DIAZ, J. I.; SALOMÓN, O. D.; NARVONE, G. T. Natural infection of the feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in the invasive snail *Achatina fulica* from Argetina. **Veterinary Prasitology**, vol. 235, 17-19, 2017.

VASCONCELOS M. C. (2000): Controle de *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Pulmonata: Lymnaeidae), Hospedeiro intermediário de *Fasciola hepática* Linnaeus, 1758 (Trematoda: Fasciolidae), com o látex de *Eufhorbia splendens* var. *hislopii* n.e.b. (Euphorbiaceae) no Vale de Paraíba – SP. Seropídica, Tese de doutorado, **Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**. pp.146.

VASCONCELOS, M. C.; PILE E. Ocorrência de *Achatina fulica* no Vale do Paraíba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, 35: 582- 584, 2001.

VIEIRA, L. R.; GRASIELLE SOARES GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. Avaliação da atividade moluscicida de extratos vegetais sobre *Achatina fulica* Bowdich (Mollusca, Achatinidae). **Arq. Inst. Biol.**, v.83, 1-6, 2016.

WICHT, M. J.; HAAK, R.; SCHÜTT-GEROWITTH, KNEIST, S.; NOACK, M. J. Suppression of caries-related microorganisms in dentine lesions after short-term chlorhexidine or antibiotic treatment. **Caries Res.** 38: 436-441, 2004.

WILSON M. E., (1991): A world guide to infections: diseases, distribution, diagnosis. New York: **Oxford University Press.**769pp.

YOUSEF, A. A. A.; EL-KASSAS, N. B. Ultrastructure and histopathological effects of some plant extracts on digestive gland of *Biomphalaria alexandrina* and *Bulinus truncatus*. **The Journal Basic & applied Zoology**, 66: 27-33, 2013

ZANOL, J.; FERNANDEZ, M. A.; OLIVEIRA, A. M.; RUSSO, C. M.; THIENGO, S. C. O caramujo exótico invasor *Achatina fulica* (Stylommatophora, Mollusca) no Estado do Rio de Janeiro (Brasil): situação atual. **Biota Neotrop.** vol.10 no.3, 447-441, 2010.

ZAURA-ARITE, E.; TEM CATE J. M. Effects of fluoride and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and demineralization of dentinal grooves in situ. **Eur. J. Oral sci.**, 108 (2): 154-161, 2000.

3 UTILIZAÇÃO DO MENTOL NO CONTROLE DA ESPÉCIE EXÓTICA *Bradybaena similaris* (FÉRUSSAC, 1821) (MOLLUSCA: BRADYBAENIDAE)

ABSTRACT

Bradybaena similaris is an exotic snail originating in China that is now scattered throughout the world. It is considered an agricultural pest because it is a generalist herbivore that feeds on plants for human consumption. It can also act as an intermediate helminth host and as a vector of microorganisms. The use of plant molluscicides has been studied to control this pest, since they harm the environment less. The present work aimed to evaluate the molluscicidal and ovicidal activity of menthol on adults, juveniles and eggs of *B. similaris*. The concentrations used for the evaluation were 0.1 g / L, 1 g / L, 2.5 g / L, 3 g / L, 5 g / L, 10 g / L, 20 g / L and 50 g / L. The experiment was organized in randomized blocks with 6 repetitions. The parameters used were 24-hour, 90-hour and 90-day adult and juvenile mortality, and for ovicidal activity, hatching follow-up after 30 days. Menthol acted as a molluscicide on 10-day old adults and an ovicide on *B. similaris* eggs, with promise as a new way to control this snail species.

Key words: Bioactivity. Agricultural pest. Pest control. Molluscicide. Plant molluscicide.

3.1 INTRODUÇÃO

Bradybaena similaris (Ferussác, 1821) é um molusco exótico originário da China, de habito alimentar herbívoro generalista. Considerado praga agrícola, pois, em períodos de atividade é capaz de devastar culturas de hortaliças e plantas ornamentais (ARAUJO, 1989; LEAHY 1980; 1984; BRUSCHI-FIGEIRO e VEITENHEIMER-MENDES, 2002). Pode atuar como hospedeiro intermediário dos nematódeos *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923, parasito de galináceos (AMANTO e BEZERRA, 1989), *Eurytrema coelomaticum* Giard & Billet, 1882 (PINHEIRO e AMATO, 1995), *Angiostrongylus costaricensis* Morera & Céspedes, 1971 e *Angiostrongylus cantonensis* sendo os dois últimos, parasitos do homem, causadores da meningoencefalite eosinofílica e angiostrongilíase abdominal (JAUME et al.,

1981; RAMBO et al., 1997; CALDEIRA et al., 2007; WANG et al., 2012; ESPIRITO-SANTO et al., 2013)

Esta espécie possui a capacidade de repovoar rapidamente o ambiente e apresenta resistência às variações ambientais, dificultando assim o seu controle (LEAHY, 1984). No Brasil sua ocorrência abrange do Amapá ao Rio Grande do Sul (ALMEIDA e BESSA, 2001; THIENGO et al., 2008). Os principais problemas associados ao controle efetivo desta praga estão relacionados à sua capacidade de reprodução, taxa de eclosão de jovens e sobrevivência em torno de 80% (LEAHY, 1980).

Para controle de moluscos terrestres não existe um produto específico, especialmente moluscidas de origem vegetal. O uso de produtos químicos sintéticos no controle desses animais possui custo elevado e trazem danos à fauna e a flora por apresentarem toxidez elevada, uma vez que possuem metaldeído (BARONIO, et al., 2014). A busca por substâncias biomoluscidas de origem vegetal que possuam como característica a seletividade, sejam biodegradáveis e que possam ser utilizadas de forma padronizada representa uma alternativa segura de controle (FERREIRA et al. 2009, 2010, 2011; CANTANHEDE et al., 2010; SILVA et al., 2012; SOUZA et al., 2014, SOUZA, et al., 2013; JUNIOR et al., 2018; NASCIMENTO, et al, 2018).

O mentol ($C_{10}H_{20}O$) é um monoterpeno derivado do metabolismo secundário de diferentes espécies vegetais. É encontrado em plantas do gênero *Mentha* como, por exemplo, *Mentha viridis* (L.) e *Mentha villosa* Huds. (Lamiaceae). Esta substância possui propriedades descritas na literatura como anestésicas (FAÇANHA et. al. 2005; SIMÕES, 2009), anti-inflamatórias e antivirais (LORENZO et al., 2002) e repelente para carrapatos da espécie *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Canestrini, 1987) (NOVELINO et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade ovicida e moluscida do mentol sobre moluscos adultos, jovens de 10 dias e ovos de *B. similaris* em condições de laboratório.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares de *B. similaris* foram coletados em uma horticultura situada no bairro Valadares, Juiz de Fora, Minas Gerais (21° 45' 51", 43° 21' 01" W) Foi estabelecida uma matriz para obtenção de ovos e jovens de 10 dias de idade (FIG. 07 A, B, C).

Figura 07- Coleta de *Bradybaena similaris*, no bairro Valadares, Município de Juiz de Fora, Minas Gerais, Sudeste do Brasil, 20178. A - Local da coleta; B- *B. similaris* no solo na área de coleta; C – Ovos obtidos na matriz para realização dos testes ovicidas.



Fonte: Arquivo Pessoal, 2018



Fonte: Arquivo Pessoal, 2018



Fonte: Arquivo Pessoal, 2018



Fonte: Arquivo Pessoal, 2018

O experimento foi montado em delineamento casualizados com seis repetições para cada concentração testada. Foram utilizados 330 moluscos adultos e 330 jovens de 10 dias de idade, com cinco indivíduos em cada repetição, e 660 ovos, com 10 ovos em cada repetição. Os animais foram distribuídos em terrários de propileno que continham terra vegetal previamente esterilizada à 120°C durante uma hora. Para a alimentação dos moluscos foi utilizada ração para aves em crescimento acrescida de carbonato de cálcio na proporção de 3:1, (BESSA e ARAÚJO, 1995). A troca da alimentação e a umidificação dos terrários foram realizadas a cada três dias durante 90 dias (FIG. 08).

Figura 08 – Moluscos distribuídos nos terrários, com seis repetições para cada concentração de timol testada. Laboratório de Artrópodes Parasitos, Universidade Federal de Juiz de Fora, Minas Gerais, sudeste do Brasil.



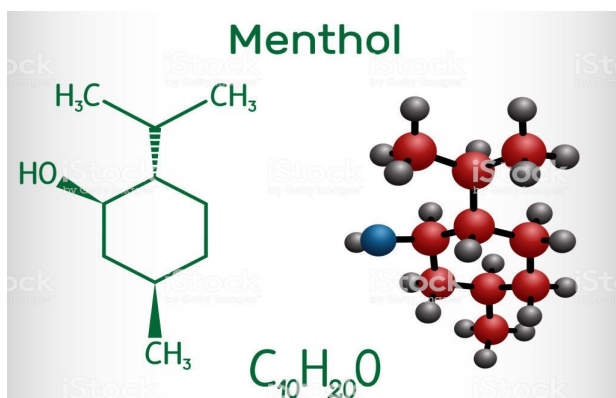
Arquivo Pessoal, 2018.



Arquivo Pessoal, 2018.

Para preparação das concentrações o mentol P.A (Synth®) (FIG. 09) foi dissolvido em água destilada aquecida a 60°C acrescida de dimetilsulfóxido P. A (Isofar®) (DMSO) a 1% nas concentrações 0.1g/L, 1g/L, 2.5g/L, 3g/L, 5g/L, 10g/L, 20g/L e 50g/L (Ferreira et al., 2011).

Figura 09 – Estrutura química do Mentol.



Fonte: <https://br.depositphotos.com/81499074/stock-illustration-menthol-natural-and-synthetic-substance.html>

Foram montados dois experimentos para verificação das diferentes atividades: Experimento I – Com Cinco indivíduos em cada repetição testada avaliou a atividade moluscicida do mentol sobre adultos e jovens de 10 dias de idade de *B. similaris*. Foi feita a aspersão das soluções dentro dos terrários com os animais, que permaneceram em contato com substância durante 24h. Após este período os sobreviventes foram retirados e colocados

em outros terrários e observados por 48 e 72 horas, para verificação da resposta aguda do contato com o mentol. Os moluscos foram acompanhados durante 90 dias, a cada três dias foram feitas a verificação da mortalidade e a troca da alimentação, para verificação de um possível efeito residual e também para observação da reprodução. Os grupos controles receberam água destilada e DMSO a 1% e o segundo controle apenas água destilada.

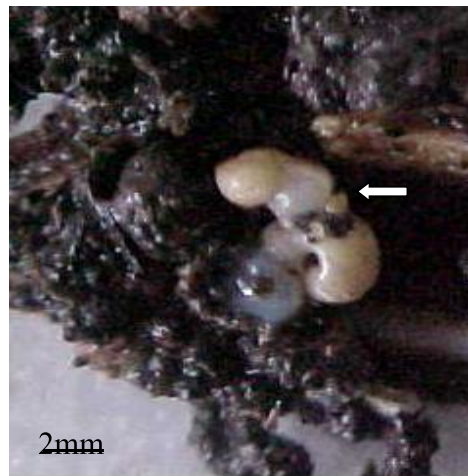
Experimento II - avaliou a mortalidade de ovos tratados com mentol. Foram utilizadas seis repetições, para cada concentração testada, com 10 ovos em cada repetição. As soluções foram aspersas dentro dos terrários e os ovos permaneceram em contato com a substância durante todo o experimento. A observação da mortalidade dos ovos, para verificação da possível eclosão de jovens, foi feita durante 30 dias. Durante todo o experimento foram registradas as temperaturas máxima, mínima e umidade relativa do ar.

Para análise estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$), seguida pelos testes de Tukey-Kramer e Bonferroni. Para investigar a relação entre concentração e mortalidade, foi utilizado o índice de correlação de Pearson. Todas as análises estatísticas foram consideradas significativas com um nível de $\alpha = 5\%$.

3.3 RESULTADOS

O mentol apresentou atividade biomoluscicida nas concentrações testadas, verificadas após 24 horas, sobre adultos e jovens de 10 dias de *B. similaris* (FIG. 10). Para os adultos o Teste Anova mostrou ser significativa a diferença entre as médias de mortalidade ($p = 0,0001$). O teste Tukey-kramer ($p = 0,01$) mostrou ser significativa a diferença de mortalidade dos tratamentos 2.5g/L, 3g/L, 5g/L, 10g/L, 20g/L e 50g/L em relação ao controle. A mortalidade de adultos de *B. similaris* para os tratamentos 0.1 e 1g/L não foi significativa em relação ao controle.

Figura 10 - *Bradybaena similaris* morta 24 horas após aplicação do mentol com a massa cefalopodal exposta.



Arquivo pessoal, 2018.

Após 72 horas da aplicação do mentol a mortalidade dos adultos foi novamente verificada. As médias de mortalidade dos indivíduos expostos ao mentol mostraram ser significativas (Anova, $p=0,0001$). O teste Tukey-kramer ($p=0,01$) mostrou ser significativa a diferença entre o controle e os tratamentos 0.1g/L, 1g/L, 2.5g/L, 3g/L, 5g/L, 10g/L, 20g/L e 50 g/L (Tabela 02).

A verificação das médias de mortalidade ao longo de 90 dias após a aplicação do mentol também apresentou resultados significativos ($p=0,0001$). O teste Tukey-kramer ($p=0,01$) mostrou ser significativa a diferença entre as médias de mortalidade entre os grupos controle e os tratamentos 3g/L, 5g/L, 10g/L, 20g/L e 50g/L.

Tabela 02 – Mortalidade (%) de adultos de *Bradybaena similaris* submetidas a diferentes concentrações de mentol P. A+DMSO, no período de 24 e 72 horas e ao longo de 90 dias em condições de laboratório.

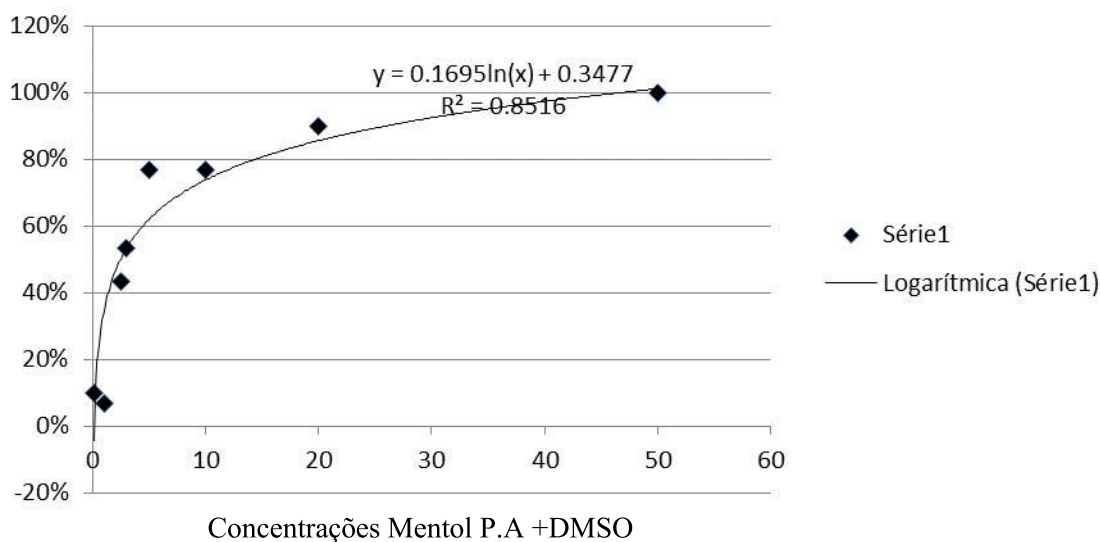
Tratamento	Indivíduos Adultos					
	24 horas		72 horas		90 dias	
	Mortalidade		Mortalidade		Mortalidade	
	X ± SD	%	X ± SD	%	X ± SD	%
Água destilada+DMSO 1%	0 ± 0 ^a	0	0 ± 0 ^a	0	0.47 ± 0,5 ^a	46,66
Água destilada	0 ± 0 ^a	0	0 ± 0 ^a	0	0.48 ± 0,5 ^a	47,00
0,1g/L	0.1 ± 0,3 ^a	10	0.33 ± 0,49 ^b	36.66	0.5 ± 0,5 ^a	50.00
1g/L	0.07 ± 0,25 ^a	6.67	0.3 ± 0,47 ^b	30.00	0.53 ± 0,5 ^a	53.33
2,5 g/L	0.43 ± 0,5 ^b	43.33	0.6 ± 0,5 ^{bc}	60.00	0.67 ± 0,5 ^{ab}	66.66
3g/L	0.53 ± 0,5 ^{bc}	53.33	0.77 ± 0,43 ^c	76.66	0.77 ± 0,43 ^{bc}	76.66
5g/L	0.77 ± 0,43 ^{cd}	76.67	0.9 ± 0,3 ^d	90.00	0.93 ± 0,25 ^{bc}	93,33
10g/L	0.77 ± 0,43 ^{cd}	76.67	0,8 ± 0,4 ^{cd}	80.00	0.87 ± 0,34 ^{bc}	86.66
20g/L	0.90 ± 0,30 ^d	90.00	0.97 ± 0,18 ^d	96.66	0,97 ± 0,18 ^{bc}	96.66
50g/L	0.87 ± 0,34 ^d	86.67	0.93 ± 0,25 ^d	93.33	1 ± 0 ^c	100

*Valores com letras diferentes são significativamente diferentes.

A CL₉₀ verificada para os adultos foi de 19.94g/L e a CL₅₀ de 2.6g/L. A curva dose-resposta foi utilizada para cálculo das CL₉₀ e CL₅₀ (FIG. 11).

No presente trabalho, foi verificado aumento de mortalidade de *B. similaris* submetidas a diferentes concentrações do mentol durante as primeiras 24 e 72 horas. A morte dos moluscos até 72 horas após o contato com a substância mostra que os danos causados ao animal podem aparecer ao longo desse período levando à sua morte.

Figura 11- Curva dose- resposta de mortalidade de adultos de *Bradybaena similaris* submetidos a diferentes concentrações do mentol no período de 24 horas em condições de laboratório.



No grupo controle, foi registrada uma porcentagem de 46,66% de mortalidade ao final do experimento, que pode ser justificado pela alta taxa de oviposição (5.787 ovos) realizada pelos animais deste grupo.

Para os jovens de 10 dias de idade o mentol atuou como biomoluscicida apresentando 100% de mortalidade nas primeiras 24 horas para todos os tratamentos.

O mentol também apresentou atividade ovicida impedindo a eclosão de jovens de *B. similis* tratados com diferentes concentrações. As concentrações 10, 20 e 50 g/L apresentaram 100% de letalidade para os ovos. O teste ANOVA mostrou ser significativa a diferença entre as médias de eclosão dos grupos tratados e os grupos controle ($p = 0,0001$). O teste de Tukey-Kramer ($p = 0,0001$) mostrou ser significativa a diferença entre as médias dos grupos controle e entre os tratamentos 0.1 g/L, 1 g/L, 2.5 g/L, 3 g/L, 5 g/L, 10 g/L, 20g/L e 50 g/L (Tabela 03).

A temperatura média durante o experimento foi de 25.5° C e a média da umidade relativa do ar registrada foi de 75%.

Tabela 03 – Eclosão de jovens de ovos de *Bradybaena similis* submetidos a diferentes concentrações do mentol P. A+DMSO em condições de laboratório.

Concentração	Sobrevivência X ± SD	Eclosão (%)
Água destilada+DMSO 1%	0.9 ± 0,30 ^a	80
Água destilada	0.9±0,30 ^a	92
0,1 g/L	0.3 ± 0,46 ^b	30
1 g/L	0.25 ± 0,44 ^b	25
2,5 g/L	0.15 ± 0,36 ^b	15
3 g/L	0.23 ± 0,43 ^b	23
5 g/L	0.15 ± 0,36 ^b	15
10 g/L	0 ± 0 ^c	0
20 g/L	0 ± 0 ^c	0
50 g/L	0 ± 0 ^c	0

Valores com letras diferentes são significativamente diferentes.

3.4 DISCUSSÃO

Diversos pesquisadores tem se dedicado a testar a ação biomoluscicida de metabólitos secundários de plantas, como princípios bioativos, para empregar no controle de moluscos que se tornam pragas ou podem atuar como potenciais transmissores de doenças. O uso

dessas substâncias associado a outros métodos pode representar uma forma eficaz de controle, principalmente se possuir baixo custo e causarem menos danos ao ambiente (SOUZA, 2003; NASCIMENTO et. al., 2006; NASCIMENTO, 2008; FERREIRA et. al., 2009; 2010; 2011; AFONSO-NETO et al., 2010, MIRANDA et. al., 2012; SILVA et al., 2012; SOUZA, 2014). A descoberta de uma substância que seja eficaz, biodegradável, seletiva, de baixo custo e que seja de fácil manipulação para população, associados a protocolos de utilização, pode representar uma forma segura para o controle de moluscos terrestres, principalmente em áreas de grande infestação.

De acordo Souza (2014) uma substância moluscicida que causa aumento da mortalidade de acordo com o aumento da concentração pode ser considerada um potencial moluscicida. O controle de desses animais nem sempre é realizado com sucesso, devido à capacidade de se esquivarem, se dispersarem e se enterrarem no substrato (SILVA et al., 2013). O recolhimento da massa cefalopodal, o deslocamento vertical e o enterramento, representam comportamentos de sobrevivência muito importantes, pois possibilitam a esses animais o retorno e repovoamento do local tratado.

Para moluscos terrestres são indicadas concentrações letais eletivas de 100g/L (10%), por estes moluscos possuírem o comportamento de fuga, permitindo que se desloquem para regiões com concentração mais baixas da substância, diminuindo assim a eficiência do controle (SILVA et al., 2012). O comportamento de fuga foi registrado por Nascimento et al. (2006) com *B. similaris* tratadas com extrato aquoso de *Allamanda catártica* L. (Apocynaceae), e formação posterior do epifragma. Nascimento et al., (2018) registraram o comportamento de fuga para *Subulina octona* (Bruguère, 1789) submetidas a tratamentos com *Furcraea foetida* (L.) Haw. (Agavaceae) e Silva et al. (2012) registrou o comportamento de deslocamento vertical de *B. similaris* e *S. octona* tratadas com extrato aquoso de folhas de *Solanum paniculatum* (L.) (Solanaceae). Por isso, é importante que a substância utilizada cause a morte do molusco no menor número de horas possível ou provoque danos fisiológicos capazes de promover a sua morbidade para não permitir que ele se afaste do local da aplicação e consiga povoar outras áreas. Gusmão et al. (2018) verificaram a atividade moluscicida do extrato aquoso de *Agave americana* L. (Asparagaceae) em indivíduos adultos de *B. similaris* nas concentrações de 1%, 0,5% e 0,25%.

O mentol apresentou a 50g/L, 100% de mortalidade para indivíduos adultos de *B. similaris* e a 0.1g/L causou a morte de todos os jovens de 10 dias de idade, o que mostra a eficácia dessa substância como biomoluscicida.

Neste experimento não houve registro de comportamento de fuga. Porém, no momento da aplicação, foi verificada a retração da massa cefalopodal dos indivíduos adultos submetidos às diferentes concentrações do mentol. De acordo com Mccullough et al. (1980) a retração ou projeção da massa cefalopodal está ligado à quebra do equilíbrio osmótico provocada por substâncias moluscicidas. Silva (2012) verificou que os indivíduos mortos de *B. similaris*, *Subulina octona* (Brugüière, 1879) e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) tratados com extrato aquoso de folhas de *S. paniculatum* e frutos de *S. lycocarpum* projetaram a massa cefalopodal. A toxidez do extrato de *Euphorbia milii* dês Moul. *Var splendens* (Bojer ex hook) sobre *L. unilamellata* foi verificada por Afonso-neto et al. (2010) por meio da projeção da massa cefalopodal.

Resultados de ação moluscicida após 72 horas de aplicação são pouco relatados na literatura. Ferreira et al. (2010; 2011) observou mortalidade significativa para jovens de 30 dias de *B. similaris* tratados com cafeína e timol nas primeiras 72 horas. Souza (2013) obteve índices de mortalidade de *B. similaris*, *L. unilamellata* e *S. octona* quando submetidas a diferentes concentrações do timol e cafeína. Hollingsworth et al. (2002) obtiveram índice de mortalidade de *Zonitoides arboreus* (Say, 1817) quando submetidos às doses de cafeína nas proporções 5g/L e 20 g/L após 24h. Silva (2012) registrou mortalidade significativa para pré-adultos de *B. similatris* (60 dias) e *L. unilamellata* (60 dias) e *S. octona* (30 dias) sob extratos de 45 g/L de folhas de *S. paniculatum*. Junior et al, (2018) verificaram que após 24h da aplicação, o extrato aquoso de *Capsicum. frutescens* (L.) atuou como atividade moluscicida em jovens de 30 dias de idade, interferindo na sobrevivência dos moluscos e causando 100% de mortalidade em todas as concentrações testadas.

Outro fator que pode afetar a eficácia de uma substância moluscicida é a intensa produção de muco que os moluscos podem liberar no momento da aplicação da substância (FERREIRA et al., 2011). O muco pode funcionar como uma barreira para a penetração da substância. Porém, apesar de ter sido registrada produção de muco durante o experimento ele não conseguiu amenizar os efeitos do mentol.

A mortalidade do grupo controle ao final do experimento pode ser explicada pela intensa produção de ovos. *B. similaris* é uma espécie de molusco que quando inicia a fase reprodutora faz um alto investimento energético, com alocação de recursos para produção de ovos, o que determina uma menor taxa de sobrevivência após vários eventos reprodutivos (CARVALHO et al., 2008).

Esta substância também foi capaz de causar a mortalidade dos ovos em concentrações de 10g/L. Uma substância que seja eficaz em várias fases de desenvolvimento do molusco, se

torna ainda mais promissora para a efetividade do seu controle. O que mais uma vez, evidencia a ação eficaz dessa substância para o controle do molusco terrestre *B. similaris* em áreas infestadas a partir do estabelecimento de protocolos de aplicação.

3.5 CONCLUSÃO

O mentol atuou como biocida em todas as fases de desenvolvimento de *B. similaris*, podendo desta forma, ser utilizado como uma alternativa para o controle dessa espécie.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, M. N.; BESSA, E. C. A. Efeito da densidade populacional sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Molluca, Xanthonychidae) e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Subulinidae). **Rev. bras. Zool.**, 2 (1) :97-104, 2000.
- AFONSO-NETO, I. S.; BESSA, E. A.; SOARES, G. L. G. Avaliação da atividade moluscicida do látex de três espécies de *Euphorbia* (Euphorbiaceae) sobre *Leptinaria unilamellata* D'Orbigny, 1835 (Gastropoda - Subulinidae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.1, p.90-95, 2010.
- AMATO, S. B.; J. C. B. BEZERRA. Parasitismo natural de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) por *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1983. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 84 (1): 75-79, 1989.
- ARAÚJO, J. L. B. Moluscos de importância econômica no Brasil. I. Xanthonychidae: *Bradybaena similaris* (Férussac. 1821). (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). **Revta bras. Zool.** 6 (4): 583-592,1989.
- BARONIO, C. A.; BOTTON, M.; GOMES, S. R.; ROBINSON, D. G. First record of qualitative losses caused by *Meghimatium pictum* in vineyards of Southern Brazil and the effects of two molluscicides for its control. **Ciência Rural**, v.44, n.10, 1715-1720, 2014.

BESSA, E.C. A. & J. L. B. ARAÚJO. Oviposição, tamanho de ovos e medida do comprimento da concha em diferentes fases do desenvolvimento de *Subulina octona* (Brugüere, 1789) (Pulmonata, Subulinidae) em condições de Laboratório. **Revista brasileira de Zoologia**, 12(3): 647-654, 1995.

BRUSCHI-FIGUEIRÓ, G; VEITENHEIMER, I. L. Moluscos em área de horticultura no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revta bras. Zool.** 19 (Supl. 2): 31 - 37, 2002.

CALDEIRA, R. L.; MENDONÇA, C. L.; GOVEIA, C. O.; LENZI, H. L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C.; LIMA, W. S.; CARVALHO, O. D. S. First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(7): 887-889, 2007.

CANTANHEDE, S. P. D.; MARQUES, A. M.; SILVA-SOUZA, N.; VALVERDE, A. L. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy** 20(2): 282-288, 2010.

ESPÍRITO-SANTO, M. C. C.; PINTO, P. L. S.; MOTA, D. J. G.; GRYSCHKEK, R. C. B. The first case of *Angiostrongylus cantonensis* eosinophilic meningitis diagnosed in the city of São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop.** 129- 132, 2013.

FERREIRA, P., SOARES, G. L. G., D'ÁVILA, S.; BESSA, E. C. D. A. The influence of caffeine and thymol on the survival, growth and reproduction of *Subulina octona* (Brugüiere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 52(4):945-952, 2009.

FERREIRA, P.; SOARES, G. L. G.; D'ÁVILA, S.; BESSA, E. C. D. A. A influência da cafeína sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Xanthonychidae), com diferentes idades. **Revista brasileira de Zoociências**, 12(2): 47-53, 2010.

_____. The influence of thymol+DMSO on survival, growth and reproduction of *Bradybaena similaris* (Mollusca: Bradybaenidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 28: 145-150, 2011.

FAÇANHA, M. F.; GOMES, L. D. C. Efficacy of menthol as an anesthetic for tambaqui (*Colossoma macropomum*, Characiformes: Characidae), **Acta Amazonica**, 35(1): 71-75, 2005.

GUSMÃO, M. H. A.; SARTORELLO, M. G.; LEANDRO, AC.; ABREU, P. F. Atividade moluscicida do extrato aquoso de *Agave americana* (Asparagaceae) sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae). **Analecta**, V. 4, 149-161, 2018.

HOLLINGSWORTH, R. G.; ARMSTRONG, J. W.; CAMPBELL, E. Caffeine as a repellent for slugs and snails. **Nature** 417: 915- 916, 2002.

JAUME M.L.; PUGA G. P.; AGUIAR, P. H. *Bradybaena similaris* (Férussac): hospedeiro intermediário de *Angiostrongylus cantonensis* em Cuba. **Revista Cubana de Medicina Tropical** 33: 207-209, 1981.

JUNIOR, V. O. S.; OLIVEIRA, A.; ABREU, P. F. Uso de extrato aquoso de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) em testes de sobrevivência sobre *Achatina fulica* (Bowdich, 1822) (Mollusca, Gastropoda). **Revista Brasileira de Zociências** 19(1): 142-150, 2018.

LEAHY, W. M. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda. Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. **Bol. Fisiol. Animal Univ. São Paulo** 5: 131-138, 1980.

LEAHY, W. M. Comportamento e características anatomofuncionais da reprodução em *Bradybaena similaris* (Molusco Pulmonado). **Cio Cult.**, São Paulo, 36 (8): 1389-1392, 1984.

LORENZO, D.; PAZ, D.; DELLACASSA, E.; DAVIES, P.; VILA, R.; CANIGUERAL, S. Essential oils of *Mentha pulegium* and *Mentha rotundifolia* from Uruguay, **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 45: 1-6, 2002.

MCCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, P. H.; DUNCAN, J.; CHRISTIE, D. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, (5): 681-689, 1980.

MELO, B. A. O, S, R, LEITE, D, T, BARRETO, C, F, & DE SOUZA SILVA, H. Inseticidas botânicos no controle de pragas de produtos armazenados, **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 6(4): 01-10. 2011.

MIRANDA, A. C. M.; ARIELLY SOUZA BATISTA, A.S.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. Efeito alelopático e moluscicida de amora *Morus rubra* L. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 28-36, 2012.

NASCIMENTO, C. A. A.; ARÉVALO, E.; AFONSO NETO, I. S.; BESSA, E. C. A.; SOARES, G.L.G. Efeito do extrato aquoso de folhas de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) sobre *Bradybaena similaris* (Ferussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoociências**, v.8, n.1, p.77-82, abr. 2006.

NASCIMENTO, C. A. A. 2008. Influência de *Furcraea foetida* (L.) Haw. sobre a sobrevivência, crescimento, reprodução e comportamento de *Subulina octona* (Brugüiere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Juiz de Fora, 58. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora.**

NASCIMENTO, C. A. A.; TOLEDO, A. M.; BESSA, E. C. A.; ABREU, P. F. Influência de *Furcraea foetida* (L.) Haw. sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *Subulina octona* (Brugüiere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Revista Brasileira de Zoociências** 19(1): 31-43, 2018.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E. ; SOARES, G. L. G. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitol. Res.**, 101, pp. 809-811, 2007.

PINHEIRO, J.; AMATO, S. B. Influence of the infection on the reproduction and nucleic acids contents in the albumen gland and ovotestis of *Bradybaena similaris*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 90 (5): 635-638, 1995.

RAMBO, P. R.; AGOSTINI, A. A. C.; GRAFF-TEIXEIRA. Abdominal angiostrongylosis in Southern Brazil – prevalence and parasitic burden in mollusk intermediate hosts from eighteen endemic foci. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 92 (1): 9-14, 1997.

SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, 61(3): 613-620, 2009.

SILVA, L.; SOUZA, B.; BESSA, E. C. A.; PINHEIRO, J. Effect of successive applications of the sublethal concentration of *Solanum paniculatum* in *Subulina octona* (Subulinidae). **Journal of Natural Products**. Washington, v. 5, p. 157-167, 2012.

SOUZA, B. A.; SILVA, L. C.; CHICARINO, E. D.; BESSA, E. C. A. Preliminary phytochemical screening and molluscicidal activity of the aqueous extract of *Bidens Pilosa* Linné (Asteraceae) in *Subulina octona* (Mollusca, Subulinidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, vol 85(4): 1557-1566, 2013.

SOUZA, H. E. 2003. Atividade moluscicida e fagocinibidora da cafeína e do timol sobre três espécies de moluscos gastrópodes terrestres em condições de laboratório. **Juiz de Fora**, 45. **Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Juiz de Fora**.

SOUZA, B. A. D.; SILVA, L. C. D.; CHICARINO, E. D.; BESSA, E. C. D. A. Phytochemical and molluscicidal activity of *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae) in different lifestages of *Subulina octona* (Mollusca, Subulinidae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** 57 (2): 261-268, 2014.

THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A.; TORRES, E. J. L.; COELHO, P. M.; LANFREDI, R. M. First record of a nematode Metastrongyloidea (*Aelurostrongylus abstrusus* larvae) in *Achatina (Lissachatina) fulica* (Mollusca, Achatinidae) in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.98, n.1, p.34-39, 2008.

WANG, Q. P.; WU, Z. D.; WEI, J.; OWEN, R. L.; LUN, Z. R. Human *Angiostrongylus cantonensis*: an update. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases** vol. 31 (4), 389-395, 2012.

4 ATIVIDADE OVICIDA DO TIMOL E MENTOL SOBRE DUAS ESPÉCIES DE MOLUSCOS INVASORES

ABSTRAT

Bradybaena similaris (Ferussác, 1821) and *Achatina fulica* Browdich, 1822 are two species of exotic terrestrial snails that cause economic and environmental damage. They have high reproductive capacity, releasing a large number of eggs with each reproductive event. Eggs are naturally resistant to the molluscicides used, since the shell acts as a mechanical barrier, preventing their penetration. In addition, most molluscicides are used in the form of bait, which besides being toxic to the environment, has no effect on eggs. Thymol and menthol are substances of plant origin that have biocidal activity, are inexpensive and biodegradable. The objective of this work was to verify the ovicidal capacity of thymol and menthol on eggs of *A. fulica* and *B. similaris* under laboratory conditions. Totals of 960 eggs of *A. fulica*, with five eggs in each of six repetitions, and 450 eggs of *B. similaris*, also with five eggs in six repetitions, were used. For *A. fulica* eggs, the concentrations of 0.1g / L, 1g / L, 2.5g / L, 3g / L, 5g / L, 10g / L, 20g / L and 50g / L, 60g / L, 65g / L, 70g / L, 75g / L and 80g / L were tested, while for *B. similaris* eggs the concentrations were 0.01g / L, 0.02g / L, 0.1g / L, 0.2g / L, 0.3g / L, 0.4 g / L, 0.5g / L, 0.6g / L, 0.7g / L, 0.8g / L, 0.9g / L, 1g / L and 2g / L. The solutions were sprayed into the terrarium and the eggs remained in contact with the substance throughout the experiment. Thymol and menthol showed ovicidal activity, preventing the hatching of *B. similaris* juveniles treated with different concentrations. In *A. fulica* eggs, both thymol and menthol caused 100% lethality at concentrations of 5 to 80g / L. Snail eggs are reported in the literature as the most resistant to bioactive principles. Therefore, the results found in this experiment show the efficacy of these two substances for the control of these terrestrial snail species.

Key words: Biocides. Snail eggs. Pest control. Exotic snails.

4.1 INTRODUÇÃO

Bradybaena similaris (Ferussác, 1821) e *Achatina fulica* Browdich, 1822 são duas espécies de moluscos terrestres exóticas causadoras de prejuízos a agricultura e consideradas

hospedeiras intermediários de vários parasitos de interesse médico-veterinário. Essas espécies conseguiram se adaptar às condições ambientais no Brasil e hoje são encontradas em praticamente todo território nacional, são citadas como pragas agrícolas em vários países do mundo (ARAÚJO, 1989; LEAHY 1980; 1984; BRUSCHI-FIGEIRO e VEITENHEIMER-MENDES, 2002; CALDEIRA et al., 2007; THIENGO et al., 2008).

A proliferação desses moluscos está relacionada à sua capacidade reprodutiva, com vários eventos de reprodutivos no ano, com um grande número de ovos. No caso da espécie *A. fulica* o número de ovos pode variar entre 50 a 400 ovos por evento reprodutivo (PAIVA, 2004; COLLEY E FISCHER, 2009). *B. similaris* libera em torno de 60 a 70 ovos. Além disso, a taxa de eclosão dos jovens, para as duas espécies, é em torno de 80% (LEAHY 1980).

Esses fatores fazem com que esses animais consigam rapidamente colonizar novos ambientes e se disseminar de forma descontrolada, se tornando uma praga, podendo devastar culturas inteiras de hortaliças.

A resistência dos ovos desses moluscos aos moluscidas utilizados é um dos grandes entraves para o controle eficaz dessas espécies. Os ovos possuem uma casca que funciona como barreira mecânica que impede a penetração dos moluscidas (FERREIRA, 2005). Além disso, a maioria dos moluscidas é comercializado na forma de isca que, além de serem tóxicas, atrai o molusco adulto, mas não tem efeito algum sobre os ovos que já estão no ambiente.

Por isso, uma substância de origem vegetal que seja biodegradável, menos tóxica para o ambiente e que consiga efeito ovicida sobre os ovos desses moluscos em áreas infestadas, representam uma forma eficaz de controle.

O timol e o mentol são substâncias formadas no metabolismo secundário de espécies plantas da família Lamiaceae. O timol (=5-metil-2-isopropil-1-fenol) é um monoterpenóide presente no óleo essencial das espécies *Monarda punctata* L. (mint), *Thymus vulgaris* L. e *Thymus persicus* L., encontrado em produtos utilizados como enxaguante bucal (BUDAVARI, 1989). O mentol também é um monoterpeno (C₁₀H₂₀O) encontrado no óleo essencial de plantas do gênero *Mentha* sp., utilizado em diversos produtos industrializados de utilização humana como, por exemplo, chicletes, balas, creme dental e xarope (SIMÕES e GOMES, 2009). Essas informações indicam a baixa toxidez dessas substâncias ao ser humano e ao ambiente.

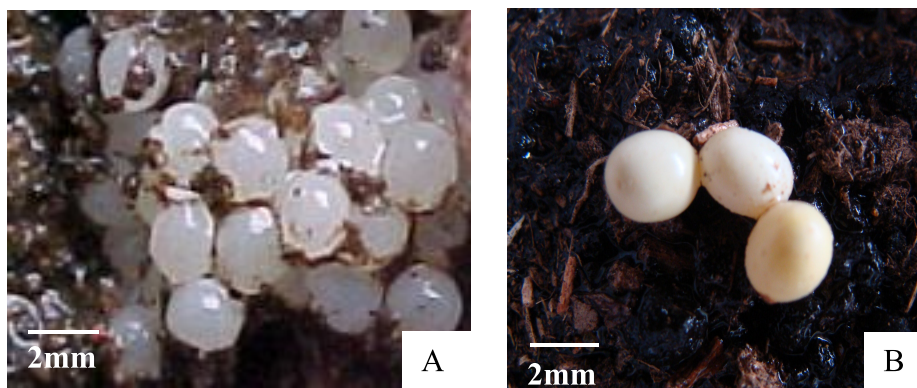
O objetivo deste trabalho foi verificar a atividade ovicida do timol e do mentol, em diferentes concentrações, sobre os ovos das espécies *B. similaris* e *A. fulica*, em condições de laboratório.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Exemplares de *B. similaris* foram coletados em uma horta situada no bairro Valadares, Juiz de Fora, Minas Gerais (210 45' 51'', 430 21' 01' W) (Fig. 06A, B). Em laboratório foi estabelecida uma matriz para obtenção dos ovos.

O experimento foi montado em delineamento casualizados com seis repetições para cada concentração testada. Foram utilizados 960 ovos de *A. fulica*, com cinco ovos em cada repetição e 450 ovos de *B. similaris*, também com seis repetições. Os ovos foram retirados da matriz estabelecida no laboratório. Todos foram distribuídos em terrários de propiletileno que continham terra vegetal previamente esterilizada à 120°C durante uma hora (FIG. 12 A, B).

Figura 12. Ovos de *Bradybaena similaris* (A) e ovos de *Achatina fulica* nos terrários (B).

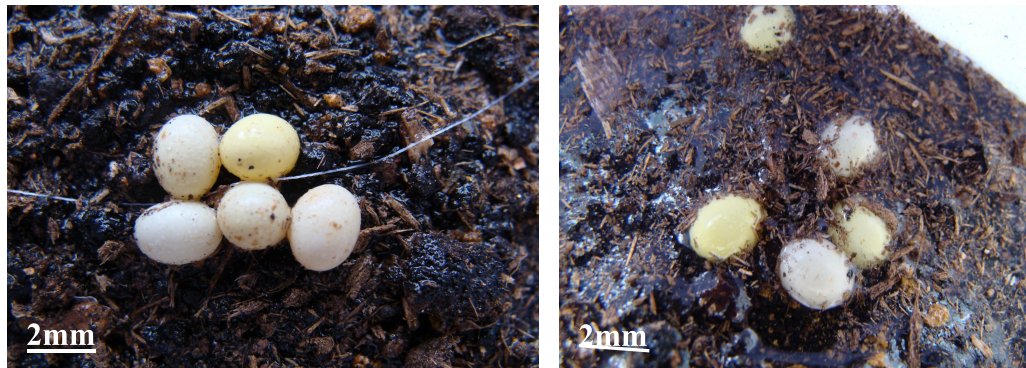


Arquivo pessoal, 2018.

Arquivo pessoal, 2018.

Para preparação das concentrações o mentol P.A (Synth®) e timol P.A (Synth®) foram dissolvidos em água destilada aquecida a 60°C acrescida de dimetilsulfóxido P.A (Isofar®) (DMSO) a 1%. Nos ovos de *A. fulica* foram utilizadas as concentrações 0.1g/L, 1g/L, 2.5g/L, 3g/L, 5g/L, 10g/L, 20g/L e 50g/L, 60g/L, 65g/L, 70g/L, 75g/L e 80g/L nos ovos de *B. similaris* foram utilizadas as concentrações 0.01g/L, 0.02g/L, 0.1g/L, 0.2g/L, 0.3g/L, 0.4g/L, 0.5g/L, 0.6g/L, 0.7g/L, 0.8g/L, 0.9g/L, 1 g/L e 2g/L pois concentrações superiores foram testadas por Ferreira et al., (2011). As soluções foram aspersas dentro dos terrários e os ovos permaneceram em contato com a substância durante todo o experimento (FIG. 13). A observação da mortalidade dos ovos, para verificação da possível eclosão de jovens, foi feita durante 30 dias. Durante o experimento, com a utilização de um treme-higrômetro, foram registradas as temperaturas máxima e mínima e a umidade relativa do ar.

Figura 13. Ovos de *Achatina fulica* tratados com timol.



Para análise estatística foi utilizada a análise de variância (ANOVA, $p < 0,05$), Programa Bioestat, versão 5.3, seguida pelos testes de Tukey-Kramer e Bonferroni. Para investigar a relação entre concentração e mortalidade, foi utilizado o índice de correlação de Pearson. Todas as análises estatísticas foram consideradas significativas com um nível de $\alpha = 5\%$.

4.3 RESULTADOS

O timol e mentol apresentaram atividade ovicida impedindo a eclosão de jovens de *B. similaris* tratados de 4 a 80g/L. Nos ovos de *A. fulica*, tanto o timol quanto o mentol causaram 100% de letalidade nas concentrações de 5 a 80g/L.

O teste ANOVA mostrou ser significativa a diferença entre as médias de eclosão dos jovens dos grupos tratados com timol e os grupos controle ($p = 0,0001$). O teste de Tukey-Kramer ($p = 0,0001$) mostrou ser significativa a diferença entre as médias dos grupos controle e entre todos os tratamentos. Nos ovos de *B. similaris* tratados com o timol não houve nenhuma eclosão de jovens em nenhum dos tratamentos (Tabela 04). Para efeito de comparação os testes com mentol e os ovos de *B. similaris* realizados no capítulo anterior foram repetidos na tabela 04.

Tabela 04. Taxa de mortalidade (%) dos ovos de *Achatina fulica* e *Bradybaena similaris* tratados com diferentes concentrações de timol P.A. + DMSO e mentol P.A. + DMSO

Concentrações	<i>Achatina fulica</i>	<i>Achatina fulica</i>	<i>Bradybaena similaris</i>	<i>Bradybaena similaris</i>
	Timol P.A + DMSO	Mentol P.A + DMSO	Timol P.A + DMSO	Mentol P.A + DMSO
80g/L	0	0 ^a	--	--
75 g/L	0	0 ^a	--	--
70 g/L	0	0 ^a	--	--
65 g/L	0	0 ^a	--	--
60g/L	0	0 ^a	--	0a
50 g/L	0	0 ^a	--	0a
40 g/L	0	0 ^a	--	0a
30 g/L	0	0 ^a	--	0a
20 g/L	0	0 ^a	--	0a
10 g/L	0	0 ^a	--	0a
9 g/L	0	0 ^a	--	0a
8 g/L	0	0 ^a	--	0a
7 g/L	0	0 ^a	--	0a
6 g/L	0	0 ^a	--	0a
5 g/L	0	0 ^a	--	15b
4g/L	0	0 ^a	--	23c
3 g/L	0	3.3 ^a	--	23c
2 g/L	0	6.6 ^a	0	20c
1 g/L	0	10.0 ^a	0	25c
0.9 g/L	3.3	16.6 ^a	0	25c
0.8 g/L	6.6	23.3 ^a	0	24c
0.7 g/L	6.6	26.6 ^a	0	26c
0.6 g/L	10.0	33.3 ^a	0	27c
0.5 g/L	10.0	40.0 ^a	0	28c
0.4 g/L	23.3	50.0 ^a	0	27c
0.3 g/L	26.6	50.0 ^a	0	26c
0.2 g/L	23.3	53.3 ^a	0	25c
0.1 g/L	26.6	56.6 ^a	0	30d
0.02 g/L	30.0	66.6 ^a	0	30d
0.01 g/L	36.6	73.3 ^a	0	60e
Água+DMSO	83.3	80.0 ^a	50%	80f
Água destilada	90.0	80.0 ^a	90%	92f

Valores com letras diferentes são significativamente diferentes.

4.4 DISCUSSÃO

Resultados encontrados neste experimento mostram a eficiência do timol e do mentol como substância ovicida sobre os ovos de *A. fulica* e *B. similaris*, o que significa que a utilização dessas substâncias em áreas de infestação desses moluscos representa um futuro promissor de controle eficaz. Substâncias moluscicidas que tenham efeito também sobre os ovos mostram-se as mais promissoras para controle, uma vez que poderão atuar sobre os ovos que já foram deixados no ambiente. De acordo com Marston e Hostettman (1985) para que uma substância seja considerada eficaz ela deve atingir todas as fases de vida do animal.

Ovos de moluscos são tratados na literatura como forma mais resistente aos princípios bioativos (FERREIRA, 2005), muito provavelmente pela presença da membrana que envolve os ovos e funciona como uma barreira física a entrada do moluscicida.

Ainda são poucos os trabalhos que avaliam a atividade ovicida de substâncias de origem vegetal (FERREIRA et al., 2011; MIRANDA et al., 2012; VIEIRA et al., 2016), principalmente sobre espécies de moluscos terrestres. A maioria dos trabalhos que envolvem verificação de atividade ovicida ainda são realizados em moluscos aquáticos (SUKUMARAN et al., 2002; SINGH e SINGH, 2008; EL-SHERBINI et al., 2009; CHAUHAN e SINGH, 2011; GOHAR et al., 2014; PINHEIRO et al. 2017; MANDEFRO et al., 2017) principalmente da espécie *Biomphalaria glabrata* (Say, 1817), hospedeira intermediária do parasito *Schistosoma mansoni*, causador da esquistossomose (SOUZA et al., 1987; SIMON et al., 1995; MASSOUD E HABIB, 2003; SHERBINI et al., 2009;; SILVA et al., 2013; SÁ et al., 2016; GOMES et al., 2019). Gardioli et al., (2017) testaram o extrato hidroalcolico de *Davilla elliptica* St. Hill e *Davilla nitida* Vahl (Dilleniaceae) sobre ovos da espécie de molusco *Lymnaea columela* Say, 1817, eles consideraram a capacidade inibitória de oviposição dos moluscos como atividade ovicida, neste caso, somente o extrato de *D. ellipca* apresentou resultado considerado satisfatório com 60% de inibição.

Com relação aos moluscos terrestres a atividade ovicida do extrato aquoso de *Morus rubra* (L.) foi verificada sobre os ovos de *A. fulica* e não apresentou nenhuma atividade (Miranda et al., 2012).Vieira et al. (2016) Testaram o extrato aquoso do alecrim-do-campo *Bacharis dracunculifolia* DC., amora *Morus rubra* L., tiririca *Cyperus rotundus* L., leiteira *Euphorbia heterophylla* L. e cravo-da-índia *Sygygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry, sobre ovos de *A. fulica*. Nenhum dos extratos testados apresentaram atividade ovicida, portanto, sem interferência na eclosão dos jovens de *A. fulica*. Já Ferreira et al. (2011) verificaram a eficiência do timol sobre os ovos de *B. similaris* nas concentrações de 2,5g/L e 5g/L. Essas concentrações causaram 100% de mortalidade dos ovos, o mesmo percentual verificado neste experimento em concentrações bem menores (0.01g/L). Estes autores testaram também a cafeína sobre os ovos de *B. similaris* e não obtiveram resultados eficientes.

A capacidade de uma substância matar jovens, adultos e a atingir também os ovos indica uma forma segura e eficaz no controle desses moluscos em áreas onde esteja ocorrendo um crescimento descontrolado dessas populações com prejuízos econômicos e ambientais.

4.5 CONCLUSÃO

Os resultados deste trabalho mostram que o timol e o mentol podem ser utilizados para uma estratégia de controle eficaz, em áreas de infestação, do molusco africano invasor *A. fulica* e *B. similaris*, conseguindo atuar sobre todas as etapas de desenvolvimento das duas espécies.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, J. L. B. Moluscos de importância econômica no Brasil. I. Xanthonychidae: *Bradybaena similaris* (Férussac. 1821). (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). **Revta bras. Zool.** 6 (4): 583-592, 1989.
- CALDEIRA, R. L.; MENDONÇA, C. L.; GOVEIA, C. O.; LENZI, H. L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C.; LIMA, W. S.; CARVALHO, O. D. S. First record of molluscs naturally infected with *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 102(7): 887-889, 2007.
- CHAUHAN, S.; SINGH, A. Impact of taraxerol in combination with extract of *Euphorbia tirucalli* plant on biological parameters of *Lymnaea acuminata*. **Rev. Inst. Med. Trop.** 53(5):265-270, 2011.
- COLLEY, E. & FISHER. M.L. 2009. Avaliação dos problemas enfrentados no manejo do caramujo gigante africano *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata) no Brasil. **Revta. Bras. Zool.** 26: 674- 683, 2009.
- EL-SHERBINI, G. T.; RAWIA A. Z.; EL-SHERBINI. T. E. Molluscicidal Activity of Some Solanum Species Extracts against the Snail *Biomphalaria alexandrina*. **Journal of Parasitology Research** 1-5, 2009.
- FERREIRA, P. (2005): Influência da cafeína e do timol sobre a sobrevivência, crescimento e a reprodução de três espécies de moluscos terrestres, sob condições de laboratório. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Juiz de Fora**. Juiz de Fora, pp. 116.

- FERREIRA, P.; SOARES, G. L. G.; D'ÁVILA, S.; BESSA, E. C. D. A. The influence of thymol+DMSO on survival, growth and reproduction of *Bradybaena similaris* (Mollusca: Bradybaenidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, 28: 145-150, 2011.
- GOHAR, A. A.; MAATOOQ , G. T; GADARA , S. R.; ABOELMAATY, W. S.; EL-SHAZLY·A. M. Molluscicidal Activity of the Methanol Extract of *Callistemon viminalis* (Sol. ex Gaertner) G.Don ex Loudon Fruits, Bark and Leaves against *Biomphalaria alexandrina* Snails. **Iran J Pharm Res**, 13(2): 505–514, 2014.
- GOMES, P. R.; REIS, J. B.; SILVA, J. C.; RAYONE, W. S. O.; PAULA, M. L.; LOUZEIRO, H. C.; MOUCHEREK-FILHO, V. E.; FONTENELE, M. A. Avaliação da toxicidade e atividade moluscicida do óleo essencial *Cinnamomum zeylanicum* Blume contra o caramujo *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.**, Vol. 48(1), 112-127, 2019.
- LEAHY, W. M. Aspectos adaptativos de *Bradybaena similaris* Férussac, 1821 (Mollusca, Gastropoda. Pulmonata) submetido ao jejum e dessecação. **BoI. Fisiol. Animal Univ. São Paulo** 5: 131-138, 1980.
- MANDEFROL, B.; MERETA1, S. T.; TARIKU, Y; AMBELU, A. Molluscicidal effect of *Achyranthes aspera* L. (Amaranthaceae) aqueous extract on adult snails of *Biomphalaria pfeifferi* and *Lymnaea natalensis*. **Infectious Diseases of Poverty** (6) 2- 5, 2017.
- MARSTON A, HOSTETTMANN K. Review: Plants moluscicidas. **Phytochemistry** 24: 639-652, 1985.
- MASSOUD, H.; HABIB, F. The effects of myrrh (*Commiphora molmol*) on the infected snails of *Schistosoma* sp. and their egg masses: effect on shedding of cercariae and on snail fecundity. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology** 33(2):585-5962003.
- MELO, B. A. O, S, R, LEITE, D, T, BARRETO, C, F, & DE SOUZA SILVA, H. Inseticidas botânicos no controle de pragas de produtos armazenados, **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, 6(4): 01-10. 2011.

MIRANDA, A. C. M.; ARIELLY SOUZA BATISTA, A.S.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. Efeito alelopático e moluscicida de amora *Morus rubra* L. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 28-36, 2012.

PAIVA C. A. L. (Ed). *Achatina fulica* (Moluscos): praga agrícola e ameaça à saúde pública no Brasil. Página lançada em 10 de maio de 1999 e atualizada em 25 de abril de 2004. Available at: http://www.geocites.com/lagopaiva/achat_tr.htm.

PINHEIRO, P. F.; GONÇALVES, L. V.; CRICCO, K. B.; PINHEIRO, C. A.; TULER, A.; CUNHA, J. B.; COSTA, A. V.; PEREIRA JÚNIOR, O. S.; IGNACCHITI, M. D. C. Chemical Characterization and Molluscicidal Activity of Essential Oil from Leaves of *Eugenia uniflora* L. on *Lymnaea columella* (Say, 1817) and *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835) **Journal of Essential Oil Bearing Plants** 20 (6) 1482 – 1491, 2017.

SÁ, J. L. F.; SIQUEIRA, W. N.; SILVA, H. A. M. F.; SANTOS, M. L. O.; SANTOS, F. T. J. L. SILVA, R. S.; CABRAL, D. L. V.; BEZERRA, I. C. F.; SOARES, L. A. L.; MELO, A. M. M. A. Evaluation of molluscicidal activity of *Anadenanthera colubrina* extracts on adult mollusc and embryos of the species *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Scientia Plena** 12, 2016.

SILVA, C. L. P. A.; TATIANA SILVA VARGAS, T. S.; BAPTISTA, D. F. Molluscicidal activity of *Moringa oleifera* on *Biomphalaria glabrata*: integrated dynamics to the control of the snail host of *Schistosoma mansoni*. **Rev Bras Farmacogn** 23, 848-850, 2013.

SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficiência do mentol como anestésico para juvenis de tilapia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 3, p. 337- 342, 2001.

SINGH, V. K.; SINGH, D. K. Enzyme inhibition by molluscicidal component of *Areca catechu* and *Carica papaya* in the nervous tissue of vector snail *Lymnaea acuminata*. **Pesticide Biochemistry and Physiology** Vol. 92, 164-168, 2008.

SUKUMARAN, B.D. PARASHAR & K.M. RAO. Evaluation of Some Plant Molluscicides Against a Freshwater Snail *Lymnaea luteola*, the Vector of Animal Schistosomiasis. **Pharmaceutical Biology** (40) 450–455, 2002.

VIEIRA, L. R.; GRASIELLE SOARES GUSMAN, G. S.; VESTENA1, S. Avaliação da atividade moluscicida de extratos vegetais sobre *Achatina fulica* Bowdich (Mollusca, Achatinidae). **Arq. Inst. Biol.**, v.83, 1-6, 2016.

WANG, S. W.; WANG H. Y.; LUO, B. R.; LI, K. R.; LIU, Y. H.; ZHAO, S. H.; YANG, H.; LI, T. M. Molluscicidal effect of WPN and MNSC on *Lymnaea*. **Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi**. 25(1):61-3, 2013.

SIMÕES, L. N.; GOMES, L. C. Eficácia do mentol como anestésico para juvenis de tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*), **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, 61(3): 613-620, 2009.

SIMON S. H. TANG, PHILIP J.; PERRETT, S. Activity of the Molluscicidal Plant *Millettia thonningii* (Leguminosae) toward *Biomphalaria glabrata* eggs. **The Journal of Parasitology** Vol. 81, No. 5, 833-835, 1995.

SILVA, L.; SOUZA, B.; BESSA, E. C. A.; PINHEIRO, J. Effect of successive applications of the sublethal concentration of *Solanum paniculatum* in *Subulina octona* (Subulinidae). **Journal of Natural Products**. Washington, v. 5, p. 157-167, 2012.

SOUZA, C. P.; MENDES N. M.; ARAÚJO N.; KATZ N. Atividade moluscicida do extrato butílico de *Phytolaca dodecandra* sobre *Biomphalaria glabrata*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 82:345-359, 1987.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Várias espécies de moluscos terrestres que foram introduzidas no país se tornaram praga e hoje representam prejuízo para as horticulturas, são potenciais hospedeiros de parasitos e perigosos para a malacofauna nativa. Estudos que envolvam a eficiência de princípios bioativos no controle desses animais representam uma alternativa para o controle de moluscos em áreas infestadas.

O timol e mentol utilizados neste trabalho indicaram que podem ser eficientes no controle de *A. fulica* e *B. similaris*. Essas substâncias foram capazes de matar indivíduos adultos, jovens e impedir a eclosão dos jovens dessas espécies. Além disso, são biodegradáveis, de fácil manipulação e de baixo custo. Atualmente os métodos empregados envolvem a utilização de substâncias tóxicas que não são capazes de atingir os ovos. Princípios bioativas que consigam atingir todas as fases de desenvolvimento dos moluscos são promissoras para um controle efetivo, devendo agora serem realizados testes em campo.

6 REFERÊNCIAS

AFONSO-NETO, I. S.; BESSA, E. A.; SOARES, G. L. G. Avaliação da atividade moluscicida do látex de três espécies de *Euphorbia* (Euphorbiaceae) sobre *Leptinaria unilamellata* D'Orbigny, 1835 (Gastropoda - Subulinidae). **Rev. Bras. Pl. Med.**, Botucatu, v.12, n.1, p.90-95, 2010.

ALMEIDA, M. N.; BESSA, E. C. A. Efeito da densidade populacional sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Molluca, Xanthonychidae) e *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Subulinidae). **Rev. Bras. Zool.**, v.2, n. 1, p. 97-104, 2000.

ALOWE, S, BROWNE, M, BOUDJELAS, S. 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database. 2007. Disponível em <www.issg.org/database> [2019]. Acesso em: 20 dez 2019.

ARÉVALO, E.; JUNQUEIRA, F. O.; SOARES, G. L. G.; BESSA, E. C. A. Atividade fago-inibidora de ácido salicílico sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca,

Bradybaenidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zootecias**. v.8, n.2, p.115-119, dez. 2006.

BARONIO, C. A.; BOTTON, M.; GOMES, S. R.; ROBINSON, D. G. First record of qualitative losses caused by *Meghimatium pictum* in vineyards of Southern Brazil and the effects of two molluscicides for its control. **Ciência Rural**, v.44, n.10, p. 1715-1720, 2014.

BEZERRA, P., FERNANDES, A. G., A. G., CRAVEIRO, A. A., ANDRADE, C.H.S., MATOS, F.J.A., ALENCAR, J.W., MACHADO, M.I. L., VIANA, G.S.B., MATOS, F.F. & M.Z. ROUQUAYROL, 1981. Composição química e atividade de óleos essenciais de plantas do nordeste - Gênero *Lippia*. **Ciência & Cultura**, 33: p. 1-14.

BUDAVARI S. The Me ck index – An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 17th edition, Rahway, Merck & Co., Inc., pp. 1606, 1989.

CALDEIRA, R. L.; MENDONÇA, C.L.G.F.; GOVEIA C.O.; LENZI H.L.; GRAFFTEIXEIRA, C.; LIMA, W.S.; MOTA E.M.; PECORA, I.L.; MEDEIROS, A.M.Z., CARVALHO, O.S. First record of naturally infected with *Angyostrongylus cantonensis* (Chen,1935) (Nematoda: Metastrongylidae) in Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.**, v.102, n. 7, p. 887-889, 2007.

CARVALHO, JUNIOR V. C. B.; NUNES, J. R. S. Ocorrência e distribuição do caramujo africano "*Achatina fulica*" Bowdich, 1822, no Município de Várzea Grande-MT. **Engenharia Ambiental**, Espírito Santo do Pinhal, v.6, n.2, p.606-620, 2009.

COELHO, L. M. Informe técnico para o controle do caramujo africano (*Achatina fulica*, Bowdich 1822) em Goiás. Goiânia. **Agência Rural**, 12p, 2005. Disponível em: <http://www.sgc.goias.gov.br/upload/links/arq_253_informecaramujo.pdf>. Acesso em: 27dez. 2017.

COLLEY, E.; FISHER. M.L. 2009. Avaliação dos problemas enfrentados no manejo do caramujo gigante africano *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata) no Brasil. **Revta. Bras. Zool.**, v. 26, p. 674-683, 2009.

COLLEY, E. Medidas de controle do *Achatina fulica*. p. 203-228. In: FISCHER, M. L.; COSTA, L. C. M. O caramujo gigante africano *Achatina fulica* no Brasil. Curitiba: Champagnat, **Coleção Meio Ambiente 1**, PUC/PR, 2010.

DELLAMATRICE, P. M.; MONTEIRO, T. R. Principais aspectos da poluição de rios brasileiro por pesticidas. **Revista brasileira de engenharia agrícola e Ambiental**, v.18, n.12, p.1296- 1301, 2014.

FARACO, F.A.; LACERDA, A.C.R. Contaminação biológica em unidades de conservação – o caso do caramujo africano (*Achatina fulica*, Mollusca, Gastropoda). In Congresso Brasileiro de Unidades de Conservação. Fundação O Boticário de Proteção à Natureza, Rede Nacional Pró Unidades de Conservação, Curitiba, p. 78-84, 2004.

FERREIRA P.A., SOARES G.L.G., D'ÁVILA S., BESSA E.C.A. The influence of caffeine and thymol on survival, growth and reproduction on *Subulina octona* (Brugüere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Brazilian Archives of Biology and thecnology**, v. 52, n. 4, p. 945-952, 2009.

FERREIRA P., SOARES G.L.G., D'ÁVILA S., BESSA E.C.A. Influência da cafeína sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *Bradybaena similaris* (Ferrussác, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae). **Revista Brasileira de Zoociências**, v.12, n. 2, p. 157-163, 2010.

FERREIRA P.A., SOARES G.L.G., D'ÁVILA S., BESSA E.C.A. The influence of Thymol+DMSO on survial, growth end reproduction of *Bradybaena similaris* (Mollusca, Bradybaenidae). **Zoologia**, v. 2, n. 48, p. 145-150, 2011.

FISCHER, M.L.; COLLEY, E. Espécie invasora em reservas naturais: Caracterização da população de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca, Achatinidae) na Ilha Rasa, Guaraqueçaba, Paraná, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 1, p. 2-18, 2005.

JUNIOR, V. O.S.; OLIVEIRA, A.; ABREU, P.F. Uso de extrato aquoso de pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) em testes de sobrevivência sobre *Achatina fulica*

(Bowdich, 1822) (Mollusca, Gastropoda). **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 19, n. 1, p. 142-150, 2018.

MALEK, E.A.; CHENG, T.C. Medical and economic malacology. New York. **Academic Press**. 398pp, 1974.

MIRANDA, A. C. M.; ARIELLY SOUZA BATISTA, A.S.; GUSMAN, G. S.; VESTENA, S. Efeito alelopático e moluscicida de amora *Morus rubra* L. **Revista Caatinga**, v. 25, n. 1, p. 28-36, 2012.

NASCIMENTO, C. A. A.; ARÉVALO, E.; AFONSO NETO, I. S.; BESSA, E. C. A.; SOARES, G.L.G. Efeito do extrato aquoso de folhas de *Allamanda cathartica* L. (Apocynaceae) sobre *Bradybaena similis* (Ferussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae) em condições de laboratório. **Revista Brasileira de Zoociências**, v.8, n.1, p.77-82, abr. 2006.

NASCIMENTO, C. A. A.; TOLEDO, A. M.; BESSA, E. C.A.; ABREU, P.F. Influência de *Furcraea foetida* (L.) Haw. sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução de *Subulina octona* (Brugüiere, 1789) (Mollusca, Subulinidae). **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 19, n. 1, p. 31-43, 2018.

NOVELINO, A. M. S.; DAEMON, E. ; SOARES, G. L. G. Evaluation of acaricide effect of thymol, menthol, salicylic acid and methyl salicylate on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae) larvae. **Parasitol. Res.**, v.101, p. 809-811, 2007.

OKAZAKI, K.; KAWAZOE, K., TAKAISHI, Y. Human platelet aggregation inhibitors from thyme (*Thymus vulgaris* L.). **Phytother. Res.**, v.16, n. 4, p. 398-399, 2002.

PAIVA C. A. L. (Ed). *Achatina fulica* (Moluscos): praga agrícola e ameaça à saúde pública no Brasil. Página lançada em 10 de maio de 1999 e atualizada em 25 de abril de 2004.

Available at: http://www.geocites.com/lagopaiva/achat_tr.htm.

PORTO, S. M. A.; SOUZA, K. C. P.; CÁRDENAS, M. Q.; ROQUE, R. A., PIMPÃO; D. M., ARAÚJO; C. S., MALTA, J. C.O. Occurrence of *Aelurostrongylus abstrusus* (Railliet, 1898) larvae (Nematoda: Metastrongylidae) infecting *Achatina (Lissachatina) fulica* Bowdich, 1822

(Mollusca: Gastropoda) in the Amazon region **Acta Amazonica**, v. 42, n. 2, p. 245-250, 2012.

ROCCO, S. C. 2007. **Infecção natural em nematódeos parasitos em Achatina fulica Ferussac (Gigante Africano) relacionadas com as condições sanitárias em vida livre e em criações comerciais no Estado de São Paulo**. São Paulo, 136. Tese de doutorado. Coordenadoria do Controle de doenças da Secretaria Estado da Saúde de São Paulo.

SILVA, C. L. P. A.; TATIANA SILVA VARGAS, T. S.; BAPTISTA, D. F. Molluscicidal activity of *Moringa oleifera* on *Biomphalaria glabrata*: integrated dynamics to the control of the snail host of *Schistosoma mansoni*. **Rev Bras Farmacogn**, v. 23, p. 848-850, 2013.

SILVA, G. M., SANTOS; M. B., MELO, C. M.; JERALDO, V. L. S. *Achatina fulica* (Gastropoda: Pulmonata): Occurrence environmental aspects and presence of nematodes in Sergipe, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, p. 1-10, 2019. doi.org/10.1590/1519-6984.190291

SIMONE, L. R. L. Mollusca Terrestres. In: BRANDÃO, R. F.; CANCELLO, E. M. (Ed.). **Invertebrados terrestres**. São Paulo: FAPESP, Biodiversidade do Estado de São Paulo, v. 5 p. 3-8. 1999.

SINGH, S.; SINGH, D. K. Molluscicidal activity of some common spice plants. **Biological Agriculture & Horticulture**, 14 (3): 237-249, 1997.

SOUZA, B. A.; SILVA, L. C.; CHICARINO, E. D.; BESSA, E. C. A. Preliminary phytochemical screening an molluscicidal activity of the aqueous extract of *Bidens Pilosa* Linné (Asteraceae) in *Subulina octona* (Mollusca, Subulinidae). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, n. 4, p. 1557-1566, 2013.

SOUZA, B. A.; SILVA, L. C.; CHICARINO, E. D.; BESSA, E. C.A. Phytochemical and molluscicidal activity of *Mikania glomerata* Sprengel (Asteraceae) in different lifestages of *Subulina octona* (Mollusca, Subulinidae). **Braz. arch. biol. Technol**, v. 57, n. 2, p. 261-268, 2014.

SOUZA H. E. 2003. Atividade moluscicida e fago-inibidora da cafeína e do timol sobre três espécies de moluscos gastrópodes terrestres em condições de laboratório. Juiz de Fora, Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Juiz de Fora**. pp. 45. 2003.

TELES, H. M. S.; FONTES, L. R. Implicações da introdução e dispersão de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 no Brasil. **Boletim do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v.12, n.1, p.3-5, 2002.

TELES, H. M. S.; VAZ J. F.; FONTES, L. R.; DOMINGOS, M. F. Registro de *Achatina fulica* Bowdich, 1822 (Mollusca, Gastropoda) no Brasil: caramujo hospedeiro intermediário de Angiostrongilíase. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, p. 310-312, 1997.

THIENGO, S. C.; BARBOSA, A. F.; COELHO, P. M.; FERNANDEZ, M. A. Moluscos exóticos com importância médica no Brasil. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE ESPÉCIES EXÓTICAS INVASORAS, I, 2005, Brasília, Anais. Brasília: SBEEI. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/invasoras>>: Acesso em: 21 setembro 2017.

THIENGO, S. C.; FERNANDEZ, M. A.; TORRES, E. J. L.; COELHO, P. M.; LANFREDI, R. M. First record of a nematode Metastrongyloidea (*Aelurostrongylus abstrusus* larvae) in *Achatina (Lissachatina) fulica* (Mollusca, Achatinidae) in Brazil. **Journal of Invertebrate Pathology**, v.98, n.1, p.34-39, 2008.

VALENTE, R.; DIAZ, J. I.; SALOMÓN, O. D.; NARVONE, G. T. Natural infection of the feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in the invasive snail *Achatina fulica* from Argentina. **Veterinary Parasitology**, v. 235, p.17-19, 2017.

VASCONCELOS, M. C.; PILE, E. Ocorrência de *Achatina fulica* no Vale do Paraíba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Rev. Saúde Pública**, v.35, p. 582- 584, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Report of the Scientific working Group on Plant Molluscicide & Guidelines for evaluation of plant molluscicides**. Geneva: TDR/SC 4-SWE (4) 83.3, 1983.

WICHT, M. J.; HAAK, R.; SCHÜTT-GEROWITTH, KNEIST, S.; NOACK, M. J.
Suppression of caries-related microorganisms in dentine lesions after short-term chlorhexidine
or antibiotic treatment. **Caries Res.**, v. 38, p. 436-441, 2004.

WILSON, M. E. A world guide to infections: diseases, distribution, diagnosis. New York:
Oxford University Press. 769pp. 1991.