

## Atividade fagoinibidora do ácido salicílico sobre *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae) em condições de laboratório

Eloá Gomes Arévalo<sup>1</sup>, Flávia Oliveira Junqueira<sup>2</sup>, Geraldo Luiz Gonçalves Soares<sup>3</sup>  
& Elisabeth Cristina de Almeida Bessa<sup>4</sup>

<sup>1</sup> PPG Ciências Biológicas: Comportamento e Biologia Animal, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG. 36.330-900. Juiz de Fora, MG. [elo\\_gomes@yahoo.com.br](mailto:elo_gomes@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> MsC em Ciências Biológicas: Comportamento e Ecologia Animal e Núcleo de Malacologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG

<sup>3</sup> Departamento de Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

<sup>4</sup> Departamento de Zoologia e Núcleo de Malacologia, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG

**Abstract.** Antifeedant activity of the salicylic acid on *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Bradybaenidae) in laboratory conditions. *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) is a land gastropod and is largely found in the American continent. Salicylic acid (SA) can participate in defending plants against herbivory, and also shows deterrent activity. The aim of this research was to analyze the antifeedant activity of SA on *B. similaris*. Tests were conducted with adult molluscs. An experiment of simple choice (E1) and another of double choice (E2) were made. Treated groups of E1 received 1g of ration with SA concentration of 1% or 2%, while control groups received ration without SA. Treated groups of E2 received two pots of ration simultaneously, one with 1g without SA and the other with 1g with SA concentration of 1g or 2g/100g. Control groups of E2 received two pots of ration without SA. Each treatment and their respective control were made in three repetitions with five animals kept in a previous fasting of 24 hours. Antifeedant activity was analyzed by weighing the pots with ration at 24, 48, and 72 hours after the beginning of tests. Statistic differences between treatments were detected by the *t* test of Student ( $p < 0.05$ ). In the first 24 hours of E1, only the animals of the control groups ate. In the treated groups with ration at 1% of SA, feeding began after 48 hours. The treated groups with ration at 2% of SA ate in the third day of observation, though the average daily ingestion of ration was similar to the control groups. In E2, the ration ingestion in the control groups was similar to the one in the first experiment. In the treated groups with 1%, there was a preference for the pots with ration without SA. The treated rations were eaten only after 48 hours. This preference is absolute in animals of the treated groups with 2% of SA, in which the treated ration ingestion was not observed at all during the whole observation period. The analysis of the total ration ingestion in the experiment of double choice confirms that adding salicylic acid to ration reduces its palatability to *B. similaris*. Therefore, it can be said that this phenolic acid has antifeedant activity on this land snail.

**Key words:** land snail, gastropod, *o*-hydroxybenzoic acid, deterrence.

**Resumo:** *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) é um gastrópode terrestre e encontra-se amplamente distribuído no continente americano. O ácido salicílico (AS) pode participar na defesa das plantas contra herbivoria, além de apresentar atividade deterrente. O objetivo do trabalho foi avaliar a atividade fagoinibidora do AS sobre *B. similaris*. Os testes foram realizados com moluscos adultos e utilizou-se um experimento de escolha simples (E1) e outro de escolha dupla (E2). Grupos tratados de E1 receberam 1g de ração, onde adicionou-se AS nas concentrações 1% ou 2%. Grupos controles receberam a ração isenta de AS. Grupos tratados de E2 receberam dois recipientes de ração simultaneamente, um contendo 1g de ração sem AS e o outro com 1g de ração com AS nas concentrações de 1g ou 2g/100g. Os controles receberam dois potes de ração pura. Cada concentração e os respectivos controles foram realizados em três repetições com cinco animais mantidos em jejum prévio de 24h. Avaliou-se a fagoinibição através da pesagem dos recipientes com ração às 24, 48 e 72h após início do teste. Diferenças estatísticas entre os tratamentos foram detectadas pelo teste *t* de student ( $p < 0,05$ ). Nas primeiras 24hs de E1 apenas os animais dos controles se alimentaram. Nos grupos tratados com ração a 1% de AS, o consumo teve início após 48hs. Os grupos tratados com ração a 2% de AS se alimentaram no terceiro dia de observação, porém o consumo médio diário de ração foi similar ao dos controles. Em E2 o consumo de ração nos grupos controles foi semelhante ao do primeiro experimento. Nos tratados com 1% houve preferência pelo recipiente com ração pura. As rações tratadas só foram consumidas após 48hs. Essa preferência é absoluta nos tratamentos com AS a 2%, no qual não se observou consumo da ração tratada durante todo o período de observação. A análise do consumo total de ração no experimento de escolha dupla confirma que a adição de ácido salicílico na ração reduz a sua palatabilidade para *B. similaris*. Pode-se, portanto, afirmar que esse ácido fenólico tem atividade fagoinibidora sobre esse molusco terrestre.

**Palavras-chave:** molusco terrestre, gastrópode, ácido *o*-hydroxybenzóico, deterrência.

## INTRODUÇÃO

*Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) é um molusco terrestre nativo da Ásia, com ampla distribuição no continente americano e em praticamente todos os estados brasileiros (ALMEIDA & BESSA, 2001). Essa espécie introduzida no Brasil é facilmente encontrada em substratos que os protejam contra predadores, retenham umidade e onde o alimento seja acessível (COOK, 2001).

Essa espécie é citada como hospedeiro intermediário de helmintos de interesse médico-veterinário, tais como *Angiostrongylus costaricensis* (Morera & Céspedes, 1971) (RAMBO *et al.*, 1997), *Eurytrema coelomaticum* (Giard & Billet, 1882) (PINHEIRO & AMATO, 1995) *Postharmostomum gallinum* Witenberg, 1923 (ALICATA, 1940; DUARTE, 1980). Esse gastrópode é ainda, considerado como praga agrícola de espécies hortaliças (ARAÚJO, 1989; PICORAL & THOMÉ, 1989; ALMEIDA & BESSA, 2001; BRUSCHI-FIGUEIRÓ & VEITENHEIMER-MENDES, 2002).

Apesar das inúmeras pesquisas sobre o uso de produtos naturais no controle de moluscos aquáticos (MENDES *et al.*, 1984, 1999, GASPAROTTO *et al.*, 2005), existem pouquíssimos trabalhos sobre a atividade destas substâncias sobre os terrestres (HOLLINGSWORTH *et al.*, 2003).

O ácido salicílico (AS) é um derivado fenólico conhecido por sua atividade farmacológica. Essa substância pode participar também nos mecanismos naturais de defesa das plantas contra herbivoria (WALLING, 2000), podendo ser destacada por sua atividade deterrente (TAHVANAINEN *et al.*, 1985). Espécies de Rosaceae e Salicaceae são fontes naturais desse ácido fenólico (CASTILHO, 1997). A utilização dessa substância no controle de pragas invasoras é favorecida pela sua baixa toxicidade, biodegradabilidade e também pela sua obtenção em larga escala através de síntese. Desse modo, objetivou-se, nesse trabalho, avaliar a atividade fago-inibidora do AS sobre *B. similaris*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os testes foram realizados com moluscos adultos com oito meses de idade ( $\emptyset$  concha > 1cm) nascidos de matrizes mantidas no Laboratório de

Biologia de Moluscos e Helmintos do Prédio da Pós-Graduação em Comportamento e Biologia Animal da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). Os gastrópodes foram criados em terra vegetal, mas 48h antes do experimento foram transferidos para recipientes plásticos contendo areia, que foi utilizada como substrato por não ser ingerida pelos moluscos (ASAMI & HOBAYASHI, 1999).

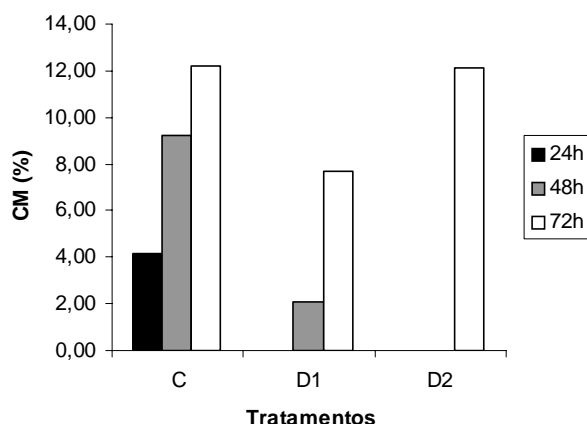
Dois experimentos foram realizados: de escolha simples e de escolha dupla.

Os grupos tratados pelo experimento de escolha simples receberam apenas 1g de ração para aves de corte enriquecida com CaCO<sub>3</sub> (na proporção de 3:1), com adição de ácido salicílico (AS) nas concentrações de 1g ou 2g/100g (1% ou 2%). Os grupos controles receberam a mesma ração, isenta de AS. Os grupos tratados pelo experimento de escolha dupla receberam dois recipientes de ração simultaneamente: Recipiente 1- 1g de ração sem AS (controle do tratamento), Recipiente 2- 1g de ração com AS nas concentrações de 1g ou 2g/100g. Os controles receberam dois potes da ração isenta de AS.

Cada concentração e os respectivos controles foram realizados em três repetições com cinco animais mantidos em jejum prévio de 24h. Avaliou-se a fago-inibição através da pesagem dos recipientes de ração às 24, 48 e 72h após início do teste. Diferenças estatísticas entre os tratamentos foram detectadas pelo teste *t* de student ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas primeiras 24h do experimento de escolha simples (Fig. 1, Tab. 1) apenas os animais dos grupos controles se alimentaram, apresentando consumo médio diário de ração igual a 4,15%. O consumo nos grupos controles foi aumentando progressivamente, e ao final das 72h de observação atingiu 12,21% de ração. A atividade alimentar dos grupos tratados com ração a 1% de AS teve início apenas no segundo dia de observação, apresentando em todo período de observação um consumo médio diário de ração significativamente menor que o dos grupos controles. Os grupos tratados com ração a 2% de AS só se alimentaram no terceiro dia de observação, porém o consumo médio diário de ração foi similar ao dos controles.



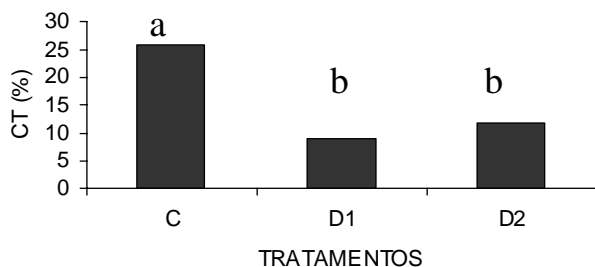
**Figura 1.** Efeito da adição do ácido salicílico (AS) no consumo médio diário de ração (CM%) por *Bradybaena similis* - Experimento de escolha simples (C= controle; D1= ração com AS a 1%; D2= ração com AS a 2%).

**Tabela 1.** Efeito da adição do ácido salicílico (AS) no consumo médio diário de ração (%) por *Bradybaena similis* - Experimento de escolha simples (C= controle; D1= ração com AS a 1%; D2= ração com AS a 2%).

Tratamentos	24h	48h	72h
C	4,15 a,A	9,23 b,A	12,21 c,A
D1	0,00 a,B	2,05 b,B	7,71 c,B
D2	0,00 a,B	0,00 a,C	12,14 b,A

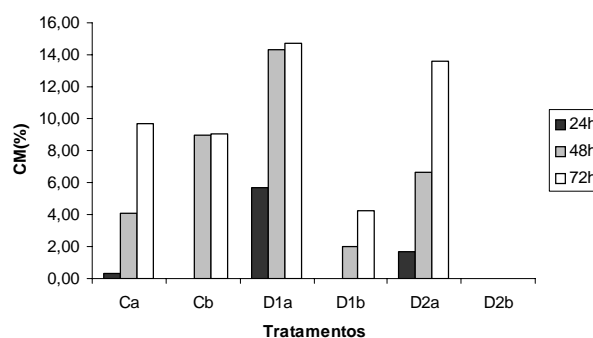
As médias assinaladas com a mesma letra (minúsculas para linhas e maiúsculas para colunas) não diferem entre si pelo teste *t* de student ( $p < 0,05$ ).

O consumo total de ração (Fig. 2) foi significativamente maior nos grupos controles. Apesar do retardo no início da atividade alimentar dos grupos tratados com ração a 2%, não houve diferença estatística entre o consumo total de ração dos grupos tratados.



**Figura 2.** Efeito da adição do ácido salicílico (AS) no consumo total de ração (CT%) por *Bradybaena similis* - Experimento de escolha simples (C= controle; D1= ração com AS a 1%; D2= ração com AS a 2%). As médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste *t* de student ( $p < 0,05$ ).

No experimento de escolha dupla (Fig. 3, Tab. 2), a atividade alimentar dos grupos controles foi semelhante ao observado no experimento de escolha simples, havendo um progressivo aumento do consumo do primeiro ao último dia de observação. Nestes grupos, observou-se diferença significativa entre o consumo médio diário dos dois recipientes de ração apenas nas duas primeiras observações, o que pode indicar haver pouca influência da lateralidade na escolha do alimento. No segundo experimento, nos grupos tratados com AS a 1% houve uma nítida preferência pelo recipiente com ração controle. A ração tratada só foi consumida nesses grupos a partir do segundo dia de observação. Essa preferência é absoluta nos tratamentos com AS a 2%, no qual não se observou consumo da ração tratada durante todo o período de observação.



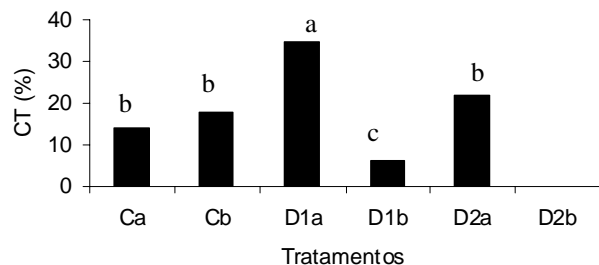
**Figura 3.** Efeito da adição do ácido salicílico (AS) no consumo médio diário de ração (CM%) por *Bradybaena similis* - Experimento de escolha dupla (Ca e Cb= controles; D1a= ração controle oferecida simultaneamente ao tratamento D1b; D1b= ração com AS a 1%; D2a= ração controle oferecida simultaneamente ao tratamento D2b; D2b= ração com AS a 2%).

**Tabela 2.** Efeito da adição do ácido salicílico (AS) no consumo médio diário de ração (%) por *Bradybaena similis* - Experimento de escolha dupla (Ca e Cb= controles; D1a= ração controle oferecida simultaneamente ao tratamento D1b; D1b= ração com AS a 1%; D2a= ração controle oferecida simultaneamente ao tratamento D2b; D2b= ração com AS a 2%).

Tratamentos	24h	48h	72h
Ca	0,33a,A	4,04b,A	9,65c,A
Cb	0,00 a,A	9,00 b,B	9,07 b,A
D1a	5,67 a,B	14,32 b,C	14,69 b,B
D1b	0,00a,A	2,00b,D	4,26c,C
D2a	1,67a,C	6,67b,B	13,60c,B
D2b	0,00 a,A	0,00 a,E	0,00 a,D

As médias assinaladas com a mesma letra (minúsculas para linhas e maiúsculas para colunas) não diferem entre si pelo teste *t* de student ( $p < 0,05$ ).

A análise do consumo total de ração no experimento de escolha dupla (Fig. 4) confirma que a adição de AS na ração reduz a sua palatabilidade para *B. similaris*. Pode-se, portanto, afirmar que esse ácido fenólico tem atividade fagoinibidora sobre esse molusco terrestre, para o período de observação de 72h.



**Figura 4.** Efeito da adição do ácido salicílico (AS) no consumo total de ração (CT%) por *Bradybaena similaris* - Experimento de escolha dupla (Ca e Cb= recipientes de ração controle oferecidas simultaneamente aos grupos não tratados; D1a= ração controle oferecida simultaneamente ao tratamento D1b; D1b= ração com AS a 1%; D2a= ração controle oferecida simultaneamente ao tratamento D2b; D2b= ração com AS a 2%). As médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si pelo teste *t* de student ( $p < 0,05$ ).

Existem poucos dados sobre a atividade do AS sobre invertebrados, porém essa substância e seus derivados têm se mostrado como reguladoras do comportamento alimentar de insetos, inclusive espécies herbívoras. STUART *et al.* (2000) demonstraram a atividade repelente e fagoinibidora do AS sobre *Culicoides impunctatus* Goetghebuer, 1920 (Diptera, Ceratopogonidae). Segundo IKONEN *et al.* (2002), as altas concentrações de ácidos fenólicos, entre os quais derivados do ácido salicílico, explicaram satisfatoriamente a baixa palatabilidade de folhas de *Salix myrsinifolia* Salisb e *S. pentandra* Linnaeus (Salicaceae) para *Agelastica alni* (Linnaeus, 1758) (Coleoptera, Chrysomelidae).

Os resultados obtidos no presente estudo demonstram, tanto a redução da ingestão de ração tratada com diferentes concentrações do AS, quanto à preferência de *B. similaris* pela ração isenta do ácido salicílico. É possível que o aprofundamento de estudos desse tipo revele o AS como uma substância promissora no controle de outras espécies de moluscos terrestres que atuam como hospedeiros de parasitos e/ou pragas agrícolas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALICATA, J.E. 1940. The life cycle of *Postharmostomum gallinum*, the cecal fluke of poultry. **Journal of Parasitology** 26(2): 135-143.
- ALMEIDA, M.N. & BESSA, E.C.A. 2001. Estudo do crescimento e da reprodução de *Bradybaena similaris* (Férussac) (Mollusca, Xanthonychidae) em laboratório. **Revista Brasileira de Zoologia** 18(4): 1115-1122.
- ARAÚJO, J.L.B. 1989. Moluscos de importância econômica no Brasil. I. Xanthonychidae: *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Mollusca, Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora). **Revista Brasileira de Zoologia** 6(4): 583-592.
- ASAMI, T. & HOBAYASHI, K. 1999. Effects of oviposition substrate on lifetime fecundity of terrestrial pulmonate *Bradybaena similaris*. **Journal of Conchology** 36(5): 3-9.
- BRUSCHI-FIGUEIRÓ, G. & VEITENHEIMER-MENDES, I.L. 2002. Moluscos em área de horticultura no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia** 19(Supl.2): 31-37.
- CASTILHO, R.O. 1997. **Tendências Filogenéticas em Rosiflorae**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro. 120p.
- COOK, A. 2001. Behavioural ecology: on doing the right thing, in the right place at the right time. pp.445-488. In: BARKER, G.M.(ed.). **The biology of terrestrial molluscs**. New Zeland, CABI publishing. 558p.
- DUARTE, M.J.F. 1980. O ciclo evolutivo de *Postharmostomum gallinum* Witenbey, 1923, no Estado do Rio de Janeiro, Brasil (Trematoda, Brachylaenidae). **Revista Brasileira de Biologia** 40 (4): 793-809.
- GASPAROTTO JR., A.; BREZAN, M.A.; PILOTO, I.C.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; RODRIGUES FILHO, E. & FERREIRA, A.G. 2005. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *Calophyllum brasiliense* Camb. (Clusiaceae). **Química Nova** 28 (4): 575-578.
- HOLLINGSWORTH, R.; ARMSTRONG, J.W. & CAMPBELL, E. 2003. Caffeine as a repellent for slugs and snails. **Nature**, 417: 915-916.
- IKONEN, A.; TAHVANAINEN, J. & ROININEN, H. 2002. Phenolic secondary compounds as determinants of the host plant preferences of the leaf beetle *Agelastica alni*. **Chemoecology** 12(3): 125-131.
- MENDES, N.M.; PEREIRA, J.P.; SOUZA, C.P. & OLIVEIRA, M.L.L. 1984. Ensaios preliminares em laboratório para verificar a ação moluscicida de algumas espécies da flora brasileira. **Revista de Saúde Pública** 18: 348-354.

- MENDES, N.M.; QUEIROZ, R.O.; GRANDI, T.S.M.; ANJOS, A.M.G.; OLIVEIRA, A.B. & ZANI, C.L. 1999. Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for molluscicidal activity. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **94**(3): 411-412.
- PICORAL, M. & THOMÉ, J.W. 1989. Sobre a anatomia do sistema genital de *Bradybaena similaris* (Férussac, 1821) (Pulmonata, Stylommatophora, Bradybaenidae) ocorrentes em Porto Alegre, Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **84**(4): 435-439.
- PINHEIRO, J. & AMATO, S.B. 1995. *Eurytrema coelomaticum*: Influence of the infection on the reproduction and nucleic acids contents in the albumen gland and ovotestis of *Bradybaena similaris*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **90** (5): 635-638.
- RAMBO, P.R.; AGOSTINI, A.A. & GRAFF-TEIXEIRA, C. 1997. Abdominal Angiostrongylosis in Southern Brazil - Prevalence and Parasitic Burden in Molluscs Intermediate Hosts from Eighteen Endemic Foci. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** **92** (1): 9-14.
- STUART, A.E.; BROOKS, C.J.; PRESCOTT, R.J. & BLACKWELL, A. 2000. Repellent and antifeedant activity of salicylic acid and related compounds against the biting midge, *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae). **Journal of Medical Entomology** **37**(2): 222-227.
- TAHVANAINEN, J.;HELLE, E.; JULKUNEN-TIITTO, R. & LAVOLA, A. 1985. Phenolic compounds of willow bark as deterrents against feeding by mountain hare. **Oecologia**, **65**, 319–323.
- WALLING, L.L. 2000. The Myriad Plant Responses to Herbivores. **Journal of Plant Growth Regulation** **19**(2): 195-216.

Recebido: 25/04/2005

Revisado: 25/05/2006

Aceito: 23/06/2006

