

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

**ESTUDO DA EFICÁCIA DOS EXTRATOS DE FRUTOS IMATUROS DE *Ilex paraguariensis*
St-Hil (Aquifoliaceae) NO CONTROLE QUÍMICO DO MOLUSCO *Pomacea canaliculata*
(Gastropoda, Ampullariidae)**

Fabiano Carvalho de Brito

Orientadora: Dra. Guendalina Turcato Oliveira

Co-orientadora: Dra. Grace Gosmann

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PORTO ALEGRE - RS – BRASIL

2015

SUMÁRIO

RELAÇÃO DE FIGURAS	5
RELAÇÃO DE TABELAS	7
AGRADECIMENTOS	8
APRESENTAÇÃO	10
RESUMO	11
ABSTRACT	12
1. INTRODUÇÃO GERAL	13
1.1. Pesticidas	13
1.2. Produção do Arroz	17
1.3. Molusco praga do arroz <i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1822)	20
1.4.. Potencial do molusco <i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1822) como espécie exótica invasora.	24
1.5. Controle de pragas agrícolas.....	27
1.6. Alternativas para o controle químico de pragas agrícolas.....	29
1.7. Saponinas	31
1.8. Saponinas de <i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.	33
1.9. Saponinas dos frutos imaturos de <i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hil.....	35
2. OBJETIVOS DA DISSERTAÇÃO	39
2.1. Objetivos Específicos:.....	39
3. MATERIAIS & MÉTODOS	40
3.1. Coleta dos animais e aclimação	40
3.2. Criação dos animais.....	40
3.3. Aclimação dos alevinos	41
3.4. Coleta vegetal	41
3.5. Extração	42
3.5.1. Fracionamento:	42
3.5.2. Decocção	43
3.5.3. Caracterização química dos extratos:.....	43
3.6. Ensaio biológico	44
3.6.1. Ensaio de toxicidade aguda para os caramujos	44
3.6.2. Ensaio de toxicidade aguda para os alevinos.....	47

3.7. Análise de Dados	49
4. RESULTADOS	50
4.1. Obtenção dos extratos de folhas e frutos imaturos de <i>Ilex paraguariensis</i> St.-Hil	50
4.2. Caracterização química dos extratos.....	50
4.3. Ensaio Biológicos	55
5. DISCUSSÃO	62
6. CONCLUSÕES	80
7. REFERÊNCIAS.....	82

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figura 1: Indivíduos de <i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1822) aclimatados no Laboratório de Fisiologia da Conservação da PUCRS	21
Figura 2: Desova de <i>P. canaliculata</i> (Lamarck, 1822).....	22
Figura 3: A) Gavião Caramujeiro (<i>Rhostramus sociabilis</i>) B) Carão (<i>Aramus guarauna</i>)	23
Figura 4: Principais classificações de Saponinas	32
Figura 5: Saponinas de <i>Ilex paraguariensis</i> St.-Hil	35
Figura 6: <i>Ilex paraguariensis</i> St.-Hil. folhas e frutos imaturos	36
Figura 7: Saponinas de Frutos de <i>Ilex paraguariensis</i> St-Hil.....	37
Figura 8: Extratos liofilizados.	45
Figura 9: Montagem dos aquários realizada para os experimentos.....	46
Figura 10: Constatação de mortalidade durante o experimento.....	47
Figura 11: Alevinos da espécie <i>Rhandia quelen</i>	47
Figura 12: Cromatografias em Camada Delgada (CCD) dos extratos de folhas e frutos imaturos de <i>Ilex paraguariensis</i>	51
Figura 13: Curva de letalidade induzida por decocto de frutos imaturos de erva-mate no controle químico do caramujo praga do arroz.....	56
Figura 14: Curva de letalidade induzida por decocto de frutos imaturos de erva-mate no controle químico do caramujo praga do arroz.....	56
Figura 15: Curva de letalidade induzida pela fração butanólica de frutos imaturos da erva-mate no controle químico do caramujo praga do arroz.....	58
Figura 16: Curva de letalidade induzida pela fração butanólica de frutos imaturos da erva-mate no controle químico do caramujo praga do arroz.....	58
Figura 17: Curva de letalidade induzida por decotos de frutos imaturos de erva-mate para indivíduos da espécie não-alvo <i>Rhandia quelen</i>	59
Figura 18: Curva de letalidade induzida por decotos de frutos imaturos de erva-mate para indivíduos da espécie não-alvo <i>Rhandia quelen</i>	59

Figura 19: Regressão linear da toxicidade de decoctos de frutos imaturos de erva-mate para o caramujo praga do arroz <i>P. canaliculata</i>	61
Figura 20: Regressão linear da toxicidade da fração butanólica de frutos imaturos de erva-mate para o caramujo praga do arroz <i>P. canaliculata</i>	61
Figura 21: Regressão linear da toxicidade de decoctos de frutos imaturos de erva-mate para os alevinos da espécie <i>Rhamdia quelen</i>	62
Figura 22: Obtenção de espuma na diluição das amostras de decocto e fração butanólica de <i>Ilex paraguariensis</i> St-Hil.	64
Figura 23: Análise visual dos caramujos nos experimentos	67
Figura 24: Secreção de muco pelos caramujos submetidos aos extratos dos frutos imaturos de <i>Ilex paraguariensis</i> St-Hil.	69
Figura 25: Experimentos com os alevinos de <i>Rhamdia quelen</i>	74

RELAÇÃO DE TABELAS

Tabela 1. Parâmetros abióticos dos experimentos de decocto nos moluscos.....52

Tabela 2. Parâmetros abióticos dos experimentos com fração butanólica nos moluscos.....53

Tabela 3. Parâmetros abióticos dos experimentos de decocto nos alevinos.....54

APRESENTAÇÃO

O conteúdo alvo de investigação contido nesta presente Dissertação de Mestrado foi objeto de requerimento de proteção por Patente, de Titularidade conjunta entre UNIÃO BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E ASSISTÊNCIA (BR/RS) e UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL - UFRGS (BR/RS), gerenciada pelo Escritório de Transferência de Tecnologia desta Universidade (ETT-PUCRS).

Este pedido de Patente foi protocolado no INPI (Instituto Nacional de Propriedade Industrial) sob o protocolo nº **BR 10 2014 032349-0** na data de 23/12/2014 e tem como inventores este aluno de Mestrado FABIANO CARVALHO DE BRITO, juntamente com sua orientadora, Professora GUENDALINA TURCATO OLIVEIRA, e sua co-orientadora, Professora GRACE GOSMANN.

RESUMO

Os pesticidas são usados para o controle, prevenção e erradicação de organismos não desejáveis na produção agrícola em todo o mundo. No Brasil, o uso de pesticidas é disseminado em muitas culturas produtivas, tais como, a soja e o arroz. Assim, o uso massivo desses produtos químicos resulta em variados e desconhecidos meios de contaminação. O controle químico ou biológico é aplicado para a supressão total ou parcial dessas pragas agrícolas pela adoção de métodos químicos ou de agentes naturais. Sendo assim, os moluscos representam um dos grupos de pragas que interferem no processo produtivo orizícola podendo causar danos significativos à produção. Aqui se avaliou a potência de extratos vegetais liofilizados (decocto e fração butanólica) dos frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* no controle químico do caramujo praga do arroz *Pomacea canaliculata* em condições laboratoriais, bem como em um organismo não-alvo, alevinos da espécie *Rharmdia quelen*. As cromatografias em camada delgada comprovam a presença de componentes químicos, como saponinas e flavonoides, presentes nos frutos imaturos. Aqui delimitamos as Concentrações Letais Médias (CL_{50%}) e o Tempo Letal Médio (TL_{50%}) através do teste PROBIT. A CL_{50%} de decoctos foi de 26,6 mgL⁻¹ e a TL_{50%} foi de 16 h. A CL_{50%} da fração butanólica foi de 24,4 mgL⁻¹ e a TL_{50%} foi de 25 h. Para os alevinos a CL_{50%} de decoctos foi de 17,6 mgL⁻¹ e a TL_{50%} foi de 11,9 h. Sendo estes mais sensíveis aos extratos. Os diagramas de regressão mostram as correlações positivas da toxicidade dos extratos em relação ao óbito dos animais. Os parâmetros abióticos mensurados ajudam a entender o efeito que os extratos tiveram nos organismos ocasionando os óbitos. Esses resultados comprovam a eficácia do controle químico no caramujo praga do arroz com os extratos vegetais dos frutos imaturos de erva-mate mostrando assim uma alternativa sustentável comparada a outras plantas já utilizadas para o controle desse molusco praga. A vantagem no uso destes extratos vegetais é que a fonte de matéria prima para obtenção está vinculada com a produção ervateira, sendo eles rejeitos industriais. O aproveitamento dos frutos imaturos proporcionaria uma nova fonte de extratos eficazes para o controle químico do caramujo.

ABSTRACT

Pesticides are used for the control, prevention and eradication of unwanted organisms in agricultural production worldwide. In Brazil, the use of pesticides is widespread in many production crops such as soybeans and rice. Thus, the massive use of these chemicals results in varied and unknown means of contamination. The chemical or biological control is applied to the total or partial suppression of these agricultural pests by adopting chemical methods or natural agents. Thus, the mollusks are one of the pests group which interfere with paddy production process may cause significant damage to production. Here we evaluated the potency of lyophilized plant extracts (decoction and butanol fraction) of *Ilex paraguariensis* unripe fruits on the chemical control of the rice pest snail *Pomacea canaliculata* under laboratory conditions and in a non-target organism, fry of the species *Rhamdia quelen*. The chromatography thin layer confirm the presence of chemical components such as saponins and flavonoids present in unripe fruits. Here delimit the Lethal concentrations averages ($LC_{50\%}$) and the Middle Lethal Time ($LT_{50\%}$) through the PROBIT test. The decoctions $LC_{50\%}$ was 26.6 mgL⁻¹ and $TL_{50\%}$ was 16 h. The $LC_{50\%}$ of butanol fraction was 24.4 mgL⁻¹ and $TL_{50\%}$ was 25 hr. To fry, The $LC_{50\%}$ of decoctions was 17.6 mg L⁻¹ and the $TL_{50\%}$ was 11.9 h. Who are more sensitive to the extracts. Regression diagrams show the positive correlations of the toxicity of the extracts in relation to the death of animals. The measured abiotic parameters help to understand the effect that the extracts had the organisms causing the deaths. These results prove the effectiveness of chemical control in rice pest snail with plant extracts of unripe fruits of mate thus showing a sustainable alternative compared to other plants already used to control this pest mollusk. The advantage in the use of plant extracts is that the source of raw material to obtain is linked with mate production, namely industrial waste. The use of unripe fruits provide a new source of effective extracts for the chemical control of the Golden Apple Snail.

1. INTRODUÇÃO GERAL

1.1. Pesticidas

Os pesticidas são uma classe de compostos químicos sintetizados para o controle, prevenção e erradicação de organismos não desejáveis na produção agrícola em todo o mundo. São classificados em diversas categorias como herbicidas, fungicidas, inseticidas, moluscicidas, entre outros. A maior parte desses compostos é altamente nociva se não usados em circunstâncias controladas e podem trazer riscos para a saúde humana e também ao meio ambiente (PIMENTEL D & PESHIN R, 2014). Em relação a sua periculosidade e aos efeitos tóxicos em seres humanos, os pesticidas são categorizados de acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO) em classe 1 (extremamente perigoso), classe 2 (medianamente perigoso) e classe 3 (pouco perigoso) (WHO, 2009).

Esses compostos são usualmente divididos em seis classes principais: **1) Organoclorados:** que possuem uma meia-vida extremamente alta podendo persistir por longos períodos no ambiente, sendo bioacumulativos, como por exemplo, o DDT (SÁ *et al.*, 2012); **2) organofosforados:** que representam a segunda classe de pesticidas altamente tóxicos aos humanos e extremamente persistentes, *e.g.* carbaril, metomil, carbofuran etc. (SAVOY, 2011); **3) Carbamatos** que são também classificados como altamente tóxicos aos seres humanos (MARASCHIN, 2003); **4) triazinas:** São herbicidas tóxicos ao ambiente e aos seres humanos. São amplamente empregados em diversas culturas vegetais e contaminadoras de corpos d'água (Atrazina) (POTUSSI &

BÜNCHEN, 2013); **5) Piretroides:** contém baixa toxicidade aos humanos e não possuem persistência, porém são extensamente empregado na agricultura. Sendo principalmente utilizados contra insetos (SANTOS, AREAS & REYES, 2007); **6) Cloroacetamidas:** são outros herbicidas muito empregados em culturas de milho e de soja (MARASCHIN, 2003). Todos esses, e outros compostos químicos, são largamente utilizados e comercializados (MAHMOUD & LOUTFY, 2012).

O processo de utilização crescente de pesticidas, resultado do atual modelo de produção agrícola e do agronegócio, tem origem na iniciativa de monopolização do cultivo de transgênicos. Favorecendo a oferta, distribuição e uso desses produtos em larga escala pelos produtores e pelas grandes corporações multinacionais (AGROW WORLD CROP PROTECTION, 2008; ETC GROUP, 2014). Segundo a agência Embrapa de Informação Tecnológica, são usados mundialmente 2,5 milhões de toneladas de agrotóxicos por ano; sendo que somente no Brasil essa prática representa uma quantidade superior a 300 mil toneladas. Ou seja, o mercado consumidor no país alavancou um aumento de aproximadamente 700% em relação às duas últimas décadas (EMBRAPA, 2015). Segundo o jornal *O Estado de São Paulo*, o Brasil é o líder mundial e o principal consumidor de agrotóxicos na América Latina e ajudou, nesse último ano, a movimentar aproximadamente R\$ 7,1 bilhões de reais, ante aos R\$ 6,6 bilhões de reais do segundo colocado, os EUA (JORNAL ESTADÃO, 2013). Nesse âmbito, há uma relação direta de modernização das práticas de cultivo com o aumento no uso de pesticidas, e dessa maneira, fazendo surgir um mercado altamente lucrativo para as grandes corporações à custa do meio ambiente, da saúde dos trabalhadores e dos consumidores.

O risco de exposição a esses produtos está especificado nos rótulos afim de informação toxicológica aguda. Sendo que nenhuma informação consta para toxicidade crônica, como exposições sucessivas ao longo de vários anos. O contato direto ou a ingestão de agrotóxicos são fatores de sérias intoxicações na população de trabalhadores, que manipulam diretamente esses produtos no momento da aplicação, e de consumidores que ingerem alimentos com altos níveis residuais. Segundo o Ministério da Saúde e o Sistema de Informações Hospitalares do SUS, através do Centro Estadual de Vigilância em Saúde do Estado do Rio Grande do Sul, constataram que mais de 73% das internações hospitalares, no ano de 2009 a 2011, foi devido ao envenenamento acidental de pesticidas de uso agrícola no Estado. Sendo a faixa etária dos internados entre 20 e 29 anos (18%) (CEVS, 2012).

O impacto decorrente do uso dos pesticidas na saúde humana é um problema pertinente e atual. Devido à pressão comercial imposta pelas corporações (indústrias produtoras e distribuidoras), a amplitude do uso indiscriminado, a falta de informação sobre as normas básicas de segurança e o livre comércio desses produtos, fazem os índices de intoxicações humanas no meio rural dos países em desenvolvimento crescerem a cada ano (MOREIRA *et al.*, 2002).

Os efeitos resultantes das contaminações foram pela primeira vez analisados e evidenciados em 1962 no livro de Rachel Carson *Primavera Silenciosa*. Onde a autora relata os efeitos nocivos dos pesticidas no meio ambiente, particularmente nas aves; relatando os problemas reprodutivos de diversas espécies e as mortalidades anormais induzidas pelos pesticidas que se acumulam ao longo da cadeia alimentar. Além disso, a autora também

alegou que a indústria química era a responsável pela disseminação e pelo incentivo ao uso desses produtos (CARSON R, 1962).

Os pesticidas utilizados no atual modelo de produção agrícola ocasionam uma série de efeitos nocivos pela sua composição químico-biológica. Em virtude das suas características como persistência ambiental, grande potencial de deslocamento hídrico e moderada solubilidade em água, esses produtos químicos se acumulam no meio ambiente e ao longo da teia alimentar. Por serem substâncias lipofílicas, os pesticidas se acumulam nas células adiposas, e em outras células, ocasionando altas taxas de resíduos teciduais e também causando supressões endócrinas, má formação genéticas e mutações no DNA (KATZUNG *et al.*, 2012). Alguns herbicidas amplamente empregados como a Atrazina®, Quinclorac® e o Glifosato®, em concentrações permitidas por lei nas lavouras de soja e arroz no Brasil, foram capazes de causar diversos danos no metabolismo e nos parâmetros bioquímicos nos girinos de rã-touro *Lithobates catesbeianus* (SHAW, 1802). Ocasionalmente peroxidação lipídica e mudanças estruturais nos membros em formação desses animais. Além disso, também causaram alterações nas reservas energéticas e no estado oxidativo de peixes da espécie *Rhamdia quelen* (DORNELLES M, 2012; PERSH T, 2013).

Segundo a Associação Brasileira de Saúde Coletiva (ABRASCO), os sintomas decorrentes da exposição e da ingestão de agrotóxicos variam desde náuseas, vômitos e alergias, até efeitos nos sistemas metabólicos e reprodutivos, como disfunção endócrina e aberrações cromossômicas. Em consequência da alta toxicidade aguda e da neurotoxicidade, os pesticidas são extremamente nocivos à saúde humana e também são os maiores

contaminantes dos alimentos e do meio ambiente (ABRASCO, 2012). Além dos danos funcionais, os pesticidas ocasionam danos a nível genético, molecular e tecidual dos organismos que estruturam essas comunidades, nas quais os meios de produção agrícola estão inseridos. Contribuindo para a redução da biodiversidade (BERTI *et al.*, 2009).

No Brasil, devido as suas extensas áreas cultivadas, o uso de pesticidas é bastante disseminado em diversas culturas produtivas, tais como, o arroz, a soja, o milho e o algodão. No país, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) regula o uso de diversos pesticidas comercializados. Mas a falta de laboratórios que fiscalizem, ou impeçam o uso indevido, facilita a propagação de muitos produtos não registrados nos órgãos de fiscalização de saúde pública (ANVISA, 2013).

1.2. Produção do Arroz

Um dos maiores sistemas agrícolas mundiais, ocupando o segundo lugar no *ranking* de alimentos produzidos, é a cadeia produtiva do arroz (constituído por sete espécies, *Oryza barthii*, *Oryza glaberrima*, *Oryza latifolia*, *Oryza longistaminata*, *Oryza punctata*, *Oryza rufipogon* e *Oryza sativa*). Mundialmente cultivado e consumido, o arroz está presente em quase todos os países do mundo, sendo a China e a Índia os maiores produtores. Abarcando cerca de 90% da produção e do consumo. A produção contabilizada da safra mundial em 2012 a 2013 foi de aproximadamente 735 milhões de toneladas (FAO, 2012). O Brasil ocupando 9º lugar na lista dos 10 maiores produtores mundiais do arroz contabilizou um total, até o ano de 2013, de 188,2 milhões

de toneladas. Prevendo-se uma safra ainda maior para o ano de 2014/15 (IBGE, 2014).

A produção de arroz economicamente se destaca pelas extensas áreas mundiais de cultivos e pelos recordes de produção todos os anos desempenhando uma influência estratégica no desenvolvimento social e econômico de diversos países da América Latina e Ásia. A estimativa anual de mais 150 milhões de hectares plantados, é a produção de aproximadamente 590 milhões de toneladas de grãos, sendo que mais de 75% de toda a produção mundial é constituído no sistema tradicional de sistema irrigado. O restante é baseado em outras técnicas como o sistema pré-germinado e o sistema sequeiro. O Brasil tem uma posição mundialmente importante. Tendo em vista que, é o país que mais produz fora do continente asiático e que detém mais de 50% da produção da América Latina. O cultivo orizícola brasileiro está concentrado na Região Sul, sendo que o Estado do Rio Grande do Sul é responsável por mais de 53% da produção nacional. Essas áreas de cultivo compreendem a Fronteira Oeste, Depressão Central, Campanha, Litoral Sul, Planície Costeira Externa e Interna da Lagoa dos Patos (EMBRAPA, 2005).

Devido à dependência de agrotóxicos no processo produtivo agrícola no Brasil, e o extenso uso desses produtos químicos resulta em variados, e até mesmo desconhecidos meios de contaminação humana, do solo, da água e do ar. Um levantamento efetuado por bacias hidrográficas pela Divisão de Vigilância em Saúde Ambiental (CEVS/SES-RS), a respeito dos agrotóxicos aplicados no Estado do Rio Grande do Sul, apresentou altos índices residuais em importantes regiões de produção agrícola. A região Nordeste, na Bacia Hidrográfica de Ijuí, Botuí e Piratinim, que compreende a produção de trigo,

soja e milho, os índices foram de 13,4 litros/hab/ano. Na Fronteira Oeste, na Bacia Hidrográfica de Ibicuí, a maior região orizícola do Estado, os índices alcançam a faixa de 4,8 litros/habitante/ano. Entre todos os pesticidas avaliados o Glifosato® é o mais usado e comercializado. Dessa forma, com esses dados levantados, há de se implementar um monitoramento mais acurado pelos órgãos competentes em relação às contaminações hídricas de consumo humano e animal (BARRETO *et al.*, 2012).

Em consequência da existência de pragas, o contínuo uso de pesticidas para o seu controle compõe as principais práticas de manejo em todos os cultivos de grãos. Segundo o **Manual de Boas Práticas do Instituto Rio-grandense do Arroz (IRGA)**: *“As pragas agrícolas (plantas invasoras, insetos, moluscos e doenças) são denominadas de fatores bióticos e são organismos que interferem na implantação da lavoura, no crescimento e no desenvolvimento das plantas prejudicando o rendimento de grãos. Esses diferentes tipos de organismos exercem estresses diretos e indiretos sobre a cultura, os quais apresentam distintos níveis de impacto sobre o potencial rendimento.”* (IRGA, 2011). Estima-se que as perdas, decorrentes da incidência das pragas agrícolas, alternem entre 50% a 80%, dependendo do tipo de cultivo e manejo da lavoura (OERKE C, 2006).

O controle químico ou biológico refere-se à supressão total ou parcial das pragas agrícolas pela prática e adoção de métodos químicos ou de agentes naturais. Deste modo, uma das alternativas é da aproximação de predadores, no intuito de manter baixa a densidade populacional de pragas, para que não ocasione prejuízo econômico. O uso racional de defensivos químicos, priorizando os produtos de máxima seletividade, promove uma maior presença

desses “inimigos” naturais dentro da lavoura, nos quais realizam eficientemente o controle biológico de muitas pragas. Sendo assim, até o momento não existem quaisquer produtos químicos registrados para aplicação na cultura e produção do arroz que cumpra tais necessidades (IRGA, 2011).

Entre as pragas que reduzem ou trazem danos econômicos à produção do arroz, destacam-se: pássaros (pássaro-preto: *Agelaius ruficapillus*), insetos (lagarta-da-folha, gorgulho-aquático, percevejo-do-colmo, percevejo-do-grão) e os moluscos. Estes últimos tornaram-se importantes pragas do arroz pré-germinado e também do sistema irrigado, sendo a espécie *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) a mais prejudicial e a que ocorre predominantemente nas lavouras (EMBRAPA, 2005; PADRÓN *et al.*, 2008).

1.3. Molusco praga do arroz *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)

O molusco *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (figura 1) é um gastrópode límnico pertencente à família Ampullariidae. Sua distribuição biogeográfica é endêmica da região tropical e subtropical da América do Sul, onde abrange o Rio da Prata, Rio Uruguai e o Rio Paraná, tendo uma distribuição austral (MARTIN *et al.*, 2001, 2002; COWIE RH, 2002; COWIE *et al.*, 2006; HAYES, 2008). Os indivíduos desse gênero têm como características: a concha globosa, com profundas suturas espirais, com coloração marrom amarelada ou castanha com bandas escuras que a circundam. Uma grande abertura com um opérculo córneo que protege o animal dentro da cavidade interna da concha. O pé é oval, desenvolvido, alongado e achatado. Possui dois pares de tentáculos cefálicos, com funções associadas à quimio e mecanorrecepção, sendo proeminentes e alongados

(HAYES K, 2012). Assim, a espécie *P. canaliculata* (Lamarck, 1822) é popularmente conhecida como *aruá-do-banhado* ou *caramujo-do-arroz*.



Figura 1: Indivíduos aclimatados no Laboratório de Fisiologia da Conservação da PUCRS.

Foto do Autor

Devido ao habitat alagadiço em que esses moluscos gastrópodes se encontram, a água que inunda esses ambientes é retirada para a irrigação. Os caramujos, infelizmente, entram nas lavouras de arroz por meio dessa água e permanecem vários dias em condições de estiva. Com a semeadura do arroz, e posterior crescimento, passam a alimentar-se vorazmente das plântulas que estão brotando causando danos significativos à cultura. Tornam-se mais vorazes quando atingem o tamanho de 1,5 - 3,0 cm, os caramujos normalmente atingem grande densidade populacional se não tomadas às providências que a impeçam. Sendo que uma alta densidade por m² pode causar danos superiores a 90% em apenas dois dias. A ocorrência destes moluscos na lavoura é mais acentuada nos canais de irrigação, nas entradas de águas, nas passagens de um tabuleiro a outro e também em pontos correspondentes a depressões do solo, onde há maior acúmulo de água na

fase de implantação da cultura. As seguintes medidas podem ser empregadas para reduzir os danos causados pelos caramujos: a coleta e a destruição manual das posturas, desovas ou oviposições (figura 2); a limpeza e a drenagem dos canais de irrigação; o preparo do solo com enxadas rotativas; a drenagem dos tabuleiros durante o período germinação e crescimento das plântulas; colocação de telas nos canais de irrigação nos pontos de entrada e de saída da água e também a implantação de poleiros para facilitar a mobilização do gavião-caramujeiro (*Rostramus sociabilis*) (figura 3A) e do Carão (*Aramus guarauna*) (figura 3B) – os principais predadores desses caramujos.



Figura 2: Desova de *P. canaliculata* (Lamarck, 1822). Retirado de RAWLINGS *et al.*, 2007.

Escala 5 cm.

A oviposição dos caramujos é feita em quaisquer pontos não submersos, em caules ou folhas de plantas, moirões e troncos de árvores. As desovas (figura 2) são expelidas pelas fêmeas ficando aglutinadas e aderidas por meio de um líquido transparente gelatinoso que as adere firmemente ao substrato. A

postura é similar a um “*cacho de uva*”, com pequenas contas aglutinadas de uma intensa cor rosada, vulgarmente chamada de “*ova de sapo*”. A desova se estende desde a primavera até o início do outono em Maio.



Figura 3: A) Gavião Caramujeiro (*Rhostramus sociabilis*) disponível em: <http://p1.storage.canalblog.com/13/44/601565/61955733.jpg>. B) Carão (*Aramus guarauna*) disponível em: https://www.flickr.com/photos/dave_irving/4360880038/sizes/z/

Como esse molusco tem uma grande capacidade reprodutiva, não há quaisquer produtos químicos registrados para o seu controle. Portanto, os métodos tradicionais além de não serem seletivos aumentam as chances de contaminação biótica e abiótica o que os torna não recomendados (EMBRAPA, 2005; HAYES, 2008, 2012).

Em virtude dos hábitos alimentares desses animais, predominantemente noturnos e macrófitos, o consumo é preferencialmente pelas partes mais tenras

de plantas vasculares. Também se alimentando de vegetação macrófita em geral, ou em decomposição, algas, briozoários como também alguns fungos. Na emergência das plântulas de arroz os prejuízos nas lavouras podem causar danos econômicos consideráveis, podendo chegar até 90% se houver uma grande densidade de animais por m² (CAZZANIGA & ESTEBENET, 1984; ESTEBENET A, 1995; RUPPERT *et al.*, 2005; JOSHI RC, 2007). No Equador, bem como em outros países da América Latina que dependem da produção e do comércio de arroz, pelo menos a metade de todos os campos de cultivo estão infestados pelo molusco *Pomacea canaliculata* sendo 40% da produção afetada pela disseminação do molusco (EL TELÉGRAFO, 2011; HORGAN, 2014).

1.4.. Potencial do molusco *P. canaliculata* (Lamarck, 1822) como espécie exótica invasora.

Fora da sua área de abrangência endêmica, o molusco *Pomacea canaliculata* é considerado uma das mais importantes pragas agrícolas nas lavouras de arroz de muitos países da Ásia. No começo da década de 1980, a espécie foi intencionalmente introduzida no continente asiático pela criação ornamental de aquarofilia. Trazida da Argentina, foi levada primeiramente a Taiwan (CHENG & KAO, 2006). A partir de então se disseminou ao longo dos anos seguintes, tornando-se estabelecida e a maior praga agrícola nas lavouras de arroz, em diversos países da como: Camboja (PREAP *et al.*, 2006), China (MOCHIDA, 1991; WU & XIE, 2006), Indonésia (HENDARSIH-SUHARTO *et al.*, 2006), Índia (RANAMUKHAARACHCHI & WICKRAMASINGHE, 2006), Japão, Filipinas e Vietnã (MOCHIDA, 1991; WADA, 2006; HALWART & BARTLEY, 2006; EPPO, 2013). De acordo com

HAYES *et al.*, 2008, a partir de comparações filogenéticas do gene citocromo c oxidase subunidade 1 (COX-1), dos anos 1980 até a atualidade, houve múltiplas introduções independentes vindo da Argentina com outras espécies do gênero, como *Pomacea maculata* Perry, 1810. Mesmo assim, ainda não está totalmente esclarecido o período e as datas corretas das introduções e disseminações intencionais e não intencionais. Não havendo dessa forma um consenso na literatura (CABI, 2014).

Quanto ao ponto de vista da saúde pública, *P. canaliculata* é responsável de meningites eosinofílicas, zoonose causada pelo nematódeo *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935) em alguns países asiáticos (MOCHIDA, 1991; DENG ZH *et al.*, 2012; TING-BAO Y, 2013). Apesar de ser endêmica no sudeste asiático e ilhas do Pacífico, vários casos de meningite eosinofílica já foram registrado no Brasil nos últimos anos (MORASSUTTI *et al.* 2014).

Em virtude dessa alta disseminação em ambientes aquáticos, o caramujo *P. canaliculata* (Lamarck, 1822) é capaz de alterar os serviços ecossistêmicos dessas regiões causando mudanças e distúrbios na produção secundária de plantas e algas. Acarretando modificações significativas nesses habitats como, alterações na estrutura das comunidades bentônicas, e nas suas composições tróficas, além de perturbar a dinâmica dos nutrientes nessas localidades. Afetando direta e indiretamente os agricultores desses lugares que dependem unicamente do cultivo de arroz como a sua fonte de atividade econômica. Levando assim ao aumento no uso de pesticidas para o seu controle local (CARLSSON, 2004, 2005, 2006; JOSHI RC, 2007; HORGAN *et al.*, 2014).

Mais recentemente, além da espécie *P. canaliculata* (Lamarck, 1822), outras espécies do gênero (*P. diffusa* Blume, 1957, *P. insularum*, *P. maculata* Perry, 1810, *P. haustum*, *P. paludosa*, *P. scalaris*) também foram encontradas em diversas regiões da América do Norte, como na Califórnia, Texas e na Flórida. Mostrando assim que a invasão de novos habitats é um problema muito mais amplo e complexo (RAWLINGS *et al.*, 2007). Na Europa se notificaram diversos alertas: em Portugal, a Divisão de Alimentação e Veterinária orienta sobre a presença do molusco nos campos de arroz, na prevenção de uma possível disseminação (DGAV, 2014). Na Espanha a espécie *P. insularum* (d'Orbigny, 1835) já possui vários registros da sua presença no delta do Rio Ebro, região conhecida pelo cultivo do arroz (LOPEZ *et al.*, 2010; EPPO, 2013).

Desse modo, muitas espécies do gênero *Pomacea*, agrupadas pela denominação de “*Apple Snails*”, ou “*Golden Apple Snails*” (GAS) estão disseminadas e estabelecidas nesses ambientes invadidos. Sendo a espécie *P. canaliculata* (Lamarck, 1822) considerada a mais grave e sendo classificada no *ranking* das 100 espécies mais invasivas do mundo (IUCN, 2014). Constituindo assim, um dos grandes problemas das espécies exóticas invasoras que representam uma das principais causas da perda da biodiversidade mundial. As espécies exóticas invasoras definem uma problemática desafiadora, necessitando de enfoques complexos e interdisciplinares para a sua erradicação (MMA, 2014).

1.5. Controle de pragas agrícolas

O controle químico de caramujos, pragas agrícolas e/ou vetores de doenças (esquistossomose e.g.) através do uso de moluscidas sintéticos é de uso restrito em casos particulares. Tanto o Ministério do Meio Ambiente quanto o Ministério da Saúde não recomendam o uso desses produtos, somente em casos particulares (AMARAL *et al.*, 2008). O moluscida não seletivo, comercializado com o nome de Niclosamida, é mundialmente usado nas lavouras. Originalmente desenvolvido para aplicação em regiões onde a esquistossomose é uma doença endêmica, atualmente é empregado no controle químico dos moluscos vetores dessa doença e também para caramujos pragas em cultivos agrícolas. Contém uma alta toxicidade na concentração de 1 mgL^{-1} , causando 100% de mortalidade em 8 h para *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Sendo que os componentes ativos da fórmula possuem um amplo efeito deletério em outros organismos que compõem ambientes aquáticos, como anfíbios, peixes, crustáceos e répteis (FRANCIS-FLOYD *et al.*, 1997).

No entanto, o uso de moluscidas sintéticos concerne basicamente a alguns fatores importantes. Um destes é em relação à resistência dos caramujos a essas substâncias. Outro é a baixa seletividade que apresentam, infringindo sobre outros organismos da fauna aquática e causando uma significativa alteração nesse ecossistema. Por último, o custo relativamente elevado desses produtos. Sendo oneroso para produtores e agricultores em países em desenvolvimento (MCCLLOUGH *et al.*, 1980; MARSTON & HOSTETTMANN, 1985).

Nesse contexto, a procura e a investigação de substâncias facilmente biodegradáveis, com maior seletividade e a baixa ou não persistência em ambientes aquáticos, tem aumentado o interesse pelo uso de moluscidas de origem vegetal. Tendo assim presentes vários relatos na literatura sobre diversas plantas e seus princípios ativos estudados em relação ao seu potencial moluscida (MCCLLOUGH *et al.*, 1980; MOLGAARD *et al.*, 2000; CANTANHEDE *et al.*, 2010).

Os sistemas de cultivo adotados pelos produtores e agricultores deveriam priorizar a utilização de métodos naturais, biológicos ou biotecnológicos para o controle das pragas agrícolas em suas culturas produtivas, em detrimento ao excessivo uso de pesticidas. O controle químico, com o uso de substâncias de origem vegetal e/ou com a liberação de inimigos naturais, representa uma alternativa de manejo de pragas dentro de um programa de controle integrado de pragas. Nesse momento em que se discute a sustentabilidade, a necessidade de obtenção de defensivos naturais se faz presente visando assim uma agricultura sustentável. No Brasil há uma grande oportunidade de inserção no contexto internacional de desenvolvimento sustentável de controles para pragas agrícolas. Tendo assim, a urgência de estudos, práticas e investimentos nesse setor. Visando, dessa forma, o bem-estar humano, a conservação da biodiversidade e a manutenção do meio ambiente, a aplicação de substâncias vegetais no controle químico de diversos organismos encontra-se na sua maioria em fase de prospecção com poucos estudos de campo (PARRA *et al.*, 2002).

Dentro desse contexto, é crescente a demanda por medidas de controle almejando sistemas autossustentáveis. Essa mudança de paradigma tem por

base o manejo adequado dos recursos naturais e seus serviços ecossistêmicos. No intuito de reduzir a aplicação de produtos químicos sintéticos, o uso de substâncias naturais como praguicidas é um dos maiores objetivos nos sistemas de produção agrícolas (EMBRAPA, 2008).

1.6. Alternativas para o controle químico de pragas agrícolas

A aplicação de praguicidas à base de substâncias naturais na agricultura é um dos objetivos no manejo de pragas. Sendo que as substâncias com potenciais moluscidas orgânicos à base de extratos vegetais estão ganhando atenção mundial. Porque são considerados ecologicamente mais aceitáveis, sendo elas não agressivas ao meio ambiente. A busca por alternativas no controle químico tem levado à descoberta, investigação e o uso das saponinas como candidatas à aplicação em larga escala para o manejo de moluscos. Nos últimos anos foram investigados diversos métodos de controle do molusco *P. canaliculata* (Lamarck, 1822) em consequência do seu potencial invasivo e dos prejuízos ambientais e ecossistêmicos que houve desde a sua dispersão para outros locais além da sua abrangência endêmica. Vários trabalhos já relataram a eficiência de substâncias vegetais no controle químico deste molusco. Dentre elas estão as saponinas, glicosídeos, peptídeos, extratos brutos e outras diversas substâncias com potenciais moluscidas. Porém, o preço comercial de obtenção destes compostos vegetais não compensaria o custo-benefício. Devido a estas plantas não serem comercializadas ou geralmente serem endêmicas de alguma região específica, isso inviabilizaria, de certa forma, a

produção em larga escala. E, além disso, os agricultores ainda preferem o uso de pesticidas convencionais (JOSHI RC, 2007).

O primeiro relato dos efeitos no uso de substâncias vegetais para o controle de moluscos, como vetores da esquistossomose, foi investigado por *Archibald* no Sudão em 1933 (ARCHIBALD RG, 1933). Onde experimentos em campo e em laboratório comprovaram a eficiência do uso dos frutos, folhas e bagas de *Balenites aegyptica*. Após várias décadas, em 1965 na Etiópia, o médico sanitaria *Aklilu Lemma* observou que as bagas da planta *Phytolacca dodecandra*, que possui altos teores de saponinas, usadas pelos nativos para lavarem roupas nos riachos e córregos da região, faziam com que muitos caramujos da espécie *Biomphalaria glabrata* aparecessem mortos. A partir de então, diversas investigações foram realizadas com essa planta para testes de controle químico desse vetor da esquistossomose (LEMMA, 1965). Desde essas descobertas, a Organização Mundial da Saúde (WHO) focou no controle de moluscos vetores de doenças através do uso de substâncias de plantas moluscidas. Sendo as saponinas possíveis candidatas às substâncias que possuem um promissor potencial de aplicação em larga escala para controle de moluscos vetores de doenças e/ou pragas agrícolas (MCCLLOUGH FS, 1980; HOSTETTMANN K & TOMIMORI T, 1982; WHO, 1983; MARSTON A & HOSTETTMANN K, 1985).

1.7. Saponinas

As saponinas são compostos bioativos provenientes do metabolismo secundário de plantas superiores (angiospermas), distribuídos em várias famílias vegetais, e também produzidos por alguns animais marinhos e alguns insetos. Os metabólitos secundários incluem uma vasta variedade de compostos químicos, como alcaloides, quinonas, óleos essenciais, glicosídeos (cianogeninas e saponinas), flavonoides e até mesmo ráfides de oxalatos. Essas substâncias parecem ter um significado importante, sejam por restringir a palatabilidade das plantas nas quais ocorrem fazendo com que os animais evitem o consumo e inibindo a herbivoria (BENNET & WALLSGROVE, 1994).

As saponinas são classificadas como glicosídeos de terpenos policíclicos. Os terpenos, ou terpenóides, formam o maior grupo de produtos do metabolismo secundário. As várias classes dessas substâncias são sintetizadas a partir da acetil CoA ou em geral de intermediários glicolíticos. Esta estrutura terpenóide se caracteriza por uma porção lipofílica (terpenóide ou esteróide) e outra porção hidrofílica, com um ou mais açúcares. A porção aglicona ou não sacarídica (terpenóide) é chamada de genina ou sapogenina, constituída por 30 átomos de carbono. Conforme o tipo de genina presente na molécula, as saponinas podem ser classificadas como, glicosídeos triterpênicos, glicosídeos esteroidais ou glicosídeos alcaloide-esteroide, tendo uma ligação de um ou mais açúcares na porção aglicona. Por último, outra classificação importante para esse grupo de moléculas é referente ao número de cadeias de açúcares para cada aglicona, originando a designação de

saponinas monodesmosídicas, bidesmosídicas ou tridesmosídicas (HOSTETTMANN K & MARSTON A, 1995).

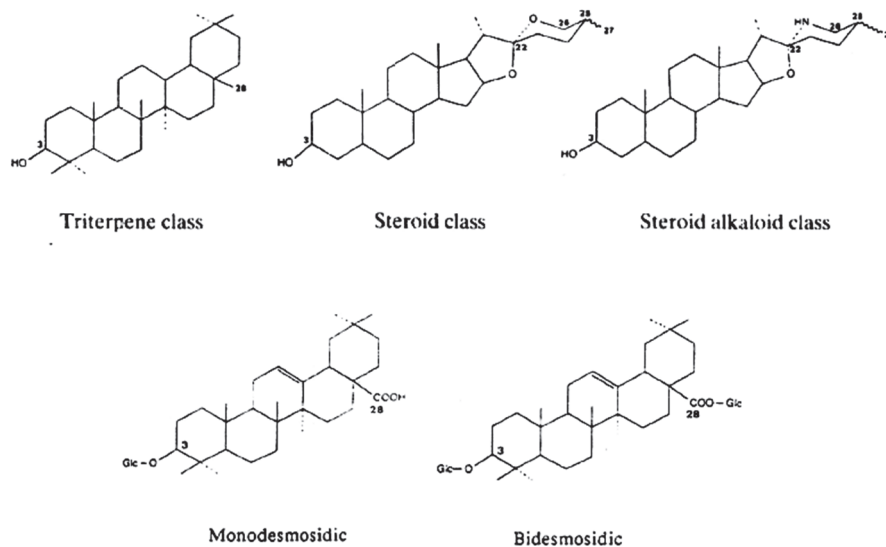


Figura 4: Principais classificações de Saponinas, segundo *Hostettmann K & Marston A, 1995*.

O arranjo molecular da porção hidrofílica é que caracteriza e determina as propriedades de redução da tensão superficial da água e também suas ações bastante conhecidas como detergentes, deterrentes e emulsificantes. Além disso, de acordo com as suas propriedades gerais, as saponinas em solução aquosa são capazes de formar uma espuma duradoura e persistente. De outra forma, nem sempre presentes nesses compostos, as outras propriedades físico-químicas características das saponinas, são: alta solubilidade em água, ação nas membranas celulares causando a desorganização do arranjo molecular, e também ação moluscicida, ictiotóxica e fungicida. As saponinas têm uma forte interação com células dos epitélios branquiais de organismos que as utilizam para a respiração. Sugere-se que a toxicidade envolve a ligação das saponinas com as células da mucosa branquial resultando no aumento da permeabilidade e a subsequente perda de funcionalidade

eletrolítica e fisiológica do tecido-alvo (HOSTETTMANN K & MARSTON A, 1995; AUGUSTIN JM *et al.*, 2011).

Segundo CANTO (2007), baseado nos trabalhos de Tanaka *et al.*, 1996; Mitra & Dungan, 1997; Hostettmann & Marston, 1995; Kauffmann, 2002; Leonard, 2003; Sparg *et al.*, 2004, o caráter anfifílico das saponinas, como tensoativos naturais, proporcionam diversas atividades devido aos seus efeitos químico-biológicos e por seus componentes bioativos. As saponinas são amplamente utilizadas no mercado industrial, no setor alimentício, farmacológico, em cosméticos e na produção de bebidas. Além destas propriedades, as saponinas apresentam muitos efeitos de interação biológica relacionada às suas características de atividades superficiais, como a capacidade de ligação e formação de complexos com esteroides, proteínas e fosfolípídeos de membranas celulares. Desse modo, junto com os polifenóis, as saponinas são consideradas, por muitos desses autores, como os principais agentes dos efeitos biológicos observados na medicina tradicional chinesa.

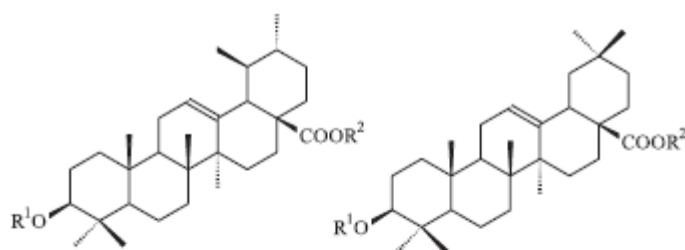
1.8. Saponinas de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil) (figura 6) é um arbusto tropical sul-americano, extensivamente cultivado e comercializado na América do Sul, principalmente em países como Argentina, Brasil, Paraguai e Uruguai. A infusão de suas folhas e talos é amplamente consumida nesses países em uma tradicional bebida conhecida como tererê, mate ou chimarrão. Sendo esse costume compartilhado por essas nações do Cone Sul como uma herança cultural herdada dos povos indígenas (OMAR D, 2009). A infusão para

consumo é reconhecida pelos seus efeitos benéficos à saúde decorrente da sua ação biológica como antioxidante, antimutagênica, estimuladora do sistema nervoso central e redutora de colesterol, entre outras (BRACESCO *et al.*, 2011). Até o ano de 2010, segundo o IBGE, a colheita nacional de erva-mate foi de aproximadamente 425 mil toneladas de folhas. A região sul do Brasil é a maior produtora, sendo o Rio Grande do Sul o maior produtor comportando a metade de toda a produção. O valor total da produção foi de aproximadamente R\$159.838 milhões de reais (IBGE, 2010). No gênero botânico *Ilex*, até o momento, as espécies *Ilex paraguariensis* St-Hil e *Ilex dumosa* Reissek são as que mais acumulam saponinas em suas folhas, com teores da ordem de 5-10%. A investigação das saponinas dessas espécies é importante para a identificação de compostos com propriedades de interação biológicas, organolépticas e farmacológicas (GOSMANN G, 1995; SCHENKEL EP *et al.*, 1995, 1997). Nas folhas da erva-mate, além das saponinas, há a presença de outras substâncias como xantinas, taninos, flavonoides, antocianinas, sais minerais e vitaminas. Sendo as saponinas do tipo triterpênicas e na sua maioria bidesmosídicas, elas se apresentam em misturas complexas com outros componentes, possuindo pelo menos 12 saponinas já identificadas e isoladas (figura 5) (GOSMANN G, 1995; KREAMER K, 1997).

Nota-se que somente as folhas possuem valor comercial, sendo seus frutos rejeitos de produção e não possuindo nenhum valor comercial/produtivo agregado (PAVEI *et al.*, 2007; BORRÉ *et al.*, 2010; CANTO *et al.*, 2010; PEIXOTO *et al.*, 2012; MONTAGNER V, 2014). Sendo assim, os frutos imaturos (sementes) são usados na germinação de novas mudas ou, quando maduros, utilizados para adubação das próprias árvores. Quando não, os

galhos frutificados são excisados e descartados em razão do peso que as infrutescências fazem na árvore podendo assim comprometer o cultivo.



ursolic acid

oleanolic acid

	R ¹	R ²
Matesaponin 1	β -D-glucopyranosyl-(1→3)- α -L-arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl
Matesaponin 2	β -D-glucopyranosyl-(1→3)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)]arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl
Matesaponin 3	β -D-glucopyranosyl-(1→3)- α -L-arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl
Matesaponin 4	β -D-glucopyranosyl-(1→3)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)]arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl
Matesaponin 5	β -D-glucopyranosyl-(1→3)-[α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)]arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl-(1→4)- β -D-glucopyranosyl-(1→6)- β -D-glucopyranosyl
I1a	α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl	H
I1b	α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl	H
I2a	β -D-glucopyranosyl-(1→3)-arabinopyranosyl	H
I2b	β -D-glucopyranosyl-(1→3)-arabinopyranosyl	H
I3a	α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl
I3b	α -L-rhamnopyranosyl-(1→2)- α -L-arabinopyranosyl	β -D-glucopyranosyl

Figura 5: Saponinas de *Ilex paraguariensis*. Retirado de Gnoatto et al., 2005.

1.9. Saponinas dos frutos imaturos de *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.

Os frutos, além de possuir a função de proteção do embrião, há o acúmulo de substâncias que, ao longo do amadurecimento, possuem diferentes padrões de constituição química, cor, textura e aroma. Quando imaturos e verdes, possuem em sua composição química substâncias de

metabolismo secundário, como taninos, flavonoides e saponinas. Alocados para defesa contra herbivoria e outras formas de consumo e predação pelos animais. Ao longo do amadurecimento há a predominância de outras substâncias nutritivas que então facilitam o consumo e a dispersão das sementes, como açúcares, proteínas, gorduras e carboidratos (RAVEN *et al.*, 1996; TAIZ & LINCON, 2006).



Figura 6: *Ilex paraguariensis* St.-Hil. Folhas e frutos imaturos. Foto do Autor

Os frutos imaturos da erva-mate, em comparação com as outras partes da planta, apresentam conteúdo com os mais altos teores de saponinas na ordem de 12% comparados com as folhas e frutos maduros (PAVEI *et al.*, 2007; BORRÉ *et al.*, 2010;). Sendo essas saponinas acumuladas, diferentes das saponinas de folhas, mostrando assim padrões químicos distintos (figura 7) (TAKETA, 2004). As partes aéreas, folhas e talos, possuem saponinas

triterpenoides com substituintes químicos diferentes das saponinas triterpenoides presentes nos frutos imaturos. Sendo assim, essas mudanças de composição química podem ocasionar diferentes respostas em termos biológicos e toxicológicos.

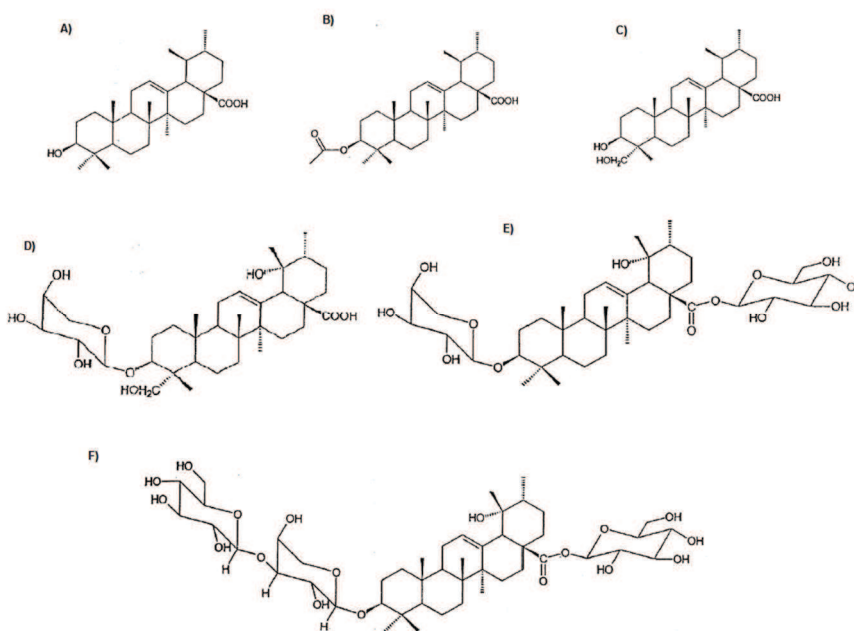


Figura 7: Saponinas de Frutos de *Ilex paraguariensis*, segundo TAKETA, 2004.

O uso das saponinas de diversas plantas para o manejo de pragas vem sendo desenvolvida ao longo dos últimos anos por serem substâncias de fácil obtenção e pela abundância de matéria-prima. As saponinas de erva-mate tem um grande potencial de aplicação no controle químico do caramujo praga do arroz porque a fonte de matéria prima para obtenção das saponinas dos frutos imaturos está vinculada com o cultivo e produção das folhas, além de serem considerados refugos industriais e de não possuir qualquer valor produtivo. Além disso, há a confirmação na literatura científica da presença dessas

substâncias em altos teores na erva-mate. O aproveitamento dos frutos imaturos, como uma fonte de saponinas para outras perspectivas tecnológicas de aplicação, proporciona uma nova utilidade e um reaproveitando uma grande parte da produção da erva-mate.

6. CONCLUSÕES

No âmbito da produção de arroz, em nível mundial, o uso de moluscidas sintéticos é propagado pelos seus efeitos letais e imediatos. Juntamente a isso, os efeitos nocivos a outros organismos não-alvo é um parâmetro que é pouco reputado. Considerando que o uso de pesticidas causam muitos impactos ambientais conduzindo a alterações genéticas, fisiológicas e morfológicas nos animais que compõem os sistemas aquáticos, como crustáceos, anfíbios e peixes. Desta forma, a utilização de compostos naturais que sejam ambientalmente menos tóxicos para o controle biológico em muitas culturas de produção é de extrema importância.

A produção de biopesticidas constitui um bom mercado para expansão de produtos a base de matérias primas naturais e que ainda representa somente 4% dos efetivos arrecadados no mercado dos pesticidas convencionalmente comercializados. Assim, a elaboração de produtos e insumos agrícolas para o controle químico de pragas em diversas culturas produtivas representa um nicho comercial totalmente inexplorado. Tendo assim uma grande vantagem comercial pelo baixo custo produtivos desses produtos e também uma vantagem ambiental por possuir um baixo impacto ambiental (EPA, 2013).

No Brasil, um dos maiores mercados de agrotóxicos do mundo, a Associação Brasileira de Empresas de Controle Biológico estima que, em 15 anos, o setor de biopesticidas poderá representar entre 10% e 15% do faturamento total das agroquímicas e poderá alcançar uma receita anual de R\$ 1 bilhão (ABCBio, 2013). Isso representa o quanto ainda tem-se de avançar em novas tecnologias na procura de alternativas para a garantia de produção

agrícola sustentável em larga escala, e também representará grandes investimentos que poderão alavancar esse setor.

Os resultados estimados nessa presente dissertação mostram que é possível o emprego dos extratos de decocção e butanólicos dos frutos imaturos de erva-mate no controle químico do caramujo. Simultaneamente, os resultados aqui alcançados estão em conformidade com a resolução da Organização Mundial da Saúde (WHO) que discorre a respeito do emprego de extratos vegetais com valores abaixo de 40 mgL^{-1} que podem ser diretamente aplicados no controle químico de população de caramujos. Sendo assim também fonte de novos compostos naturais com atividades moluscidas (WHO, 1993).

A grande vantagem no uso dos extratos de erva-mate é que a fonte de matéria prima para obtenção está vinculada com a sua própria produção em escala industrial. E o aproveitamento dos frutos imaturos, sendo estes rejeitos industriais, proporcionaria uma nova fonte de extratos eficazes no controle químico do caramujo e um novo emprego tecnológico para um item totalmente descartado no processo produtivo da erva-mate. Provando assim a sua potencialidade de uso.

Assim, mais investigações são necessárias para a elucidação e isolamento químico dos constituintes presentes nos frutos imaturos, bem como uma extração mais eficiente e por fim para um melhor aproveitamento dessa matéria vegetal. Bem como, futuras investigações serão ainda realizadas nos mecanismos de ação, aplicabilidade e degradabilidade em ambiente natural dos extratos dos frutos imaturos da erva-mate no controle químico do caramujo praga mundial do cultivo do arroz.