

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
CENTRO DE ECOLOGIA
LABORATÓRIO DE ECOTOXICOLOGIA**

LARA MARTINS PRUSCH

Avaliação da sensibilidade das fases iniciais do desenvolvimento de *Pomacea canaliculata* à Niclosamida

PORTO ALEGRE

2019

LARA MARTINS PRUSCH

Avaliação da sensibilidade das fases iniciais do desenvolvimento de
Pomacea canaliculata à Niclosamida

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Luciane Oliveira Crossetti

Co-orientador: Dr. Alexandre Arenzon

PORTO ALEGRE, 2019

LARA MARTINS PRUSCH

Avaliação da sensibilidade das fases iniciais do desenvolvimento de
Pomacea canaliculata à Niclosamida

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Universidade Federal do Rio Grande do Sul,
como parte das exigências para a obtenção do
título de Bacharela em Ciências Biológicas.

Porto Alegre, 03 de julho de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dra Luciane Oliveira Crossetti
Instituto de Biociências- UFRGS

Prof^a Dra Clarice Bernhardt Fialho
Instituto de Biociências- UFRGS

Prof^a Dra Lucia Ribeiro Rodrigues
Instituto de Pesquisas Hidráulicas - UFRGS

Dedico este trabalho aos meus pais, Carlos e Vera, que me inspiram a ter confiança, esperança e, sobretudo, me apoiaram nessa jornada de estudos. Amo vocês.

AGRADECIMENTOS

Meu agradecimento, em especial, aos meus pais, Vera e Carlos, por estarem sempre ao meu lado e me apoiarem em todas minhas escolhas. A dedicação de vocês para com minha educação foi essencial para que eu chegasse onde cheguei. Devo isso a vocês. Essa conquista é por vocês e para vocês!

Agradeço, também, aos meus irmãos, sobretudo, à minha irmã Carla, a qual me ensinou a ler, demonstrando, ainda na infância, seu dom com a docência e seu excesso de zelo e cuidado comigo.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram e aguentaram durante esses longos anos de graduação minhas respostas sempre tão clichês: “não posso, tenho que estudar”. Obrigada por terem compreendido, muitas vezes, minha ausência e, talvez, aparentemente, meu desleixo com a amizade de vocês.

Ao meu grande amigo, colega de graduação e, em breve de profissão, Ismael, que me apoiou desde o início dessa jornada, no incentivo ao vestibular, no primeiro semestre da graduação, nas disciplinas, provas, trabalhos, choros pré e pós provas, estresse do TCC. Boa parte da graduação só foi “suportável” graças a nossa amizade e companheirismo.

Agradeço aos meus professores do ensino médio que acreditaram que eu era capaz de chegar a universidade pública, mesmo sendo proveniente da rede pública de ensino, muitas vezes tão precária. Obrigada pelo incentivo e dedicação.

Aos professores da UFRGS, incluindo meus orientadores de iniciação científica, Angelo e Régis, por me fazerem enxergar à beleza da vida em cada detalhe, em cada aula, em cada experimento. Olhar para trás e enxergar o conhecimento construído ao longo de cada etapa concluída faz tudo valer a pena.

E por último, mas não menos importante, ao meu co-orientador, Alexandre Arenzon, por ter aberto as portas do Laboratório de Ecotoxicologia para mim, dando-me a oportunidade de ingressar nesse universo desconhecido, até então, para mim, já no penúltimo semestre da graduação. Obrigada por, mesmo em meio as adversidades, ter topado embarcar nessa “loucura” comigo. Os ensinamentos e a amizade construída serão sempre mais importantes que qualquer artigo publicado. Tua mensagem e teu legado ficarão para sempre guardados em mim como a profissional que pretendo ser.

“A história está repleta de pessoas que, como resultado do medo, ou por ignorância, ou por cobiça de poder, destruíram conhecimentos de imensurável valor que em verdade pertenciam a todos nós. Nós não devemos deixar isso acontecer de novo”.

Carl Sagan

RESUMO

O cultivo de arroz irrigado é uma das principais atividades econômicas do Estado do Rio Grande do Sul. No entanto, este cultivo resulta em um aumento na ocorrência do molusco *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), que é uma das pragas mais invasivas do mundo. Devido ao seu impacto ambiental, várias medidas de controle para as espécies foram investigadas e propostas. A Niclosamida, comercialmente vendida como Baylucide (2-aminoetanol, Bayer®), é um moluscicida amplamente utilizado para o controle de *Pomacea*. Uma das principais desvantagens da Niclosamida é sua alta toxicidade para um grande número de espécies. Seria desejável que o uso de Niclosamida se tornasse menos prejudicial para espécies não-alvo. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar se há diferença na sensibilidade ao moluscicida durante os estágios iniciais de desenvolvimento da *P. canaliculata*. Os experimentos também foram realizados com larvas de *Danio rerio* para avaliar o efeito do moluscicida em espécies não-alvo. Foram realizados 4 ensaios com *P. canaliculata* 6 dias após a eclosão e 3 ensaios 20 dias após a eclosão. As análises estatísticas foram realizadas com o programa Trimmed Spearman-Kärber 1.5. As diferenças nos valores de CL₅₀ obtidos com cada um dos diferentes grupos ensaiados foram verificadas baseadas no método de sobreposição dos intervalos de confiança. Os dados gerados são insuficientes para concluir que realmente não há diferenças de sensibilidade entre *P. canaliculata*, com idade entre 6 dias (CL₅₀;48h \cong 0,08 mgL⁻¹) e 20 dias (CL₅₀;48h \cong 0,09 mgL⁻¹). Contudo a comparação destes valores com os obtidos na literatura para adultos desta mesma espécie indica que organismos jovens são significativamente mais sensíveis. Contudo, as mesmas baixas concentrações que causaram efeitos para os jovens de *P. canaliculata* foram suficientes para causar efeitos na espécie não-alvo ensaiada, *D. rerio* (CL₅₀;48h \cong 0,09 mgL⁻¹).

Palavras-chave: arroz irrigado, pragas, *Pomacea canaliculata*, moluscicidas, Niclosamida, toxicidade aguda, CL₅₀%, espécies não-alvo, *Danio rerio*.

ABSTRACT

Irrigated rice cultivation is one of the main economic activities in the Rio Grande do Sul State. However, this cultivation results in an increase in the occurrence of the mollusk *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), which is one of the most invasive pests in the world. Due to its environmental impact, several control measures to the species have been investigated and proposed. Niclosamide, commercially sold as Baylucide (2-aminoethanol, Bayer®), is a widely used molluscicide for *Pomacea* control. One of the major disadvantages of Niclosamide is its high toxicity for a large number of species. It would be desirable that the use of Niclosamide become less harmful to non-target species. Thus, the objective of this work was to verify if there is a difference in sensitivity to molluscicide during the early stages of development of the *P. canaliculata*. The experiments were also carried out with *Danio rerio* larvae to evaluate the effect of molluscicide on non-target species. The statistical analyses were performed using the Trimmed Spearman-Kärber 1.5 program. The differences in the LC₅₀ to each of the tested groups were verified based on the confidence intervals overlapping method. The data generated are insufficient to conclude that there are actually no differences in sensitivity between *P. canaliculata*, aged 6 days (LC₅₀, 48h \cong 0.08 mgL⁻¹) and 20 days (LC₅₀, 48h \cong 0.09 mgL⁻¹). However, comparing these values with those obtained in the literature for adults of the same species indicates that young organisms are significantly more sensitive. However, the same low concentrations that caused effects for young *P. canaliculata* were sufficient to cause non-target species effects, *D. rerio* (LC₅₀; 48h \cong 0.09 mgL⁻¹).

Key words: irrigated rice, pests, *Pomacea canaliculata*, molluscicides, Niclosamide, acute toxicity, LC50%, non-target species; *Danio rerio*.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1 <i>POMACEA CANALICULATA</i>	10
1.2 NICLOSAMIDA	11
2. METODOLOGIA	12
2.1 ANIMAIS	13
2.2 SOLUÇÕES E DOSAGENS	13
2.3 ENSAIOS DE TOXICIDADE	14
2.4 ESPÉCIES NÃO-ALVO	14
2.5 TESTES ESTATÍSTICOS	14
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	17
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
5. REFERÊNCIAS	20

1. INTRODUÇÃO

1.1 *Pomacea canaliculata*

Uma das principais atividades econômicas do Estado do Rio Grande do Sul é o cultivo de arroz irrigado, o qual contribuiu com cerca de 68,9% da safra brasileira do grão nos anos 2017/2018 (CONAB, 2018). No Rio Grande do Sul, esse cultivo é feito com a inundação da lavoura, a qual resulta no aumento da ocorrência de pragas, como o molusco *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822), apontado como uma das espécies predominantes e a mais prejudicial no ataque às lavouras de arroz irrigado (Hickel et al., 2012).

P. canaliculata é um caramujo límnico da família Ampullariidae, conhecido como “Aruá do banhado” na região amazônica, tendo sua distribuição entre os trópicos e subtropicais, abrangendo áreas da Região Sul da América do Sul (Cowie et al., 2008) e habita ampla gama de ecossistemas, desde pântanos e lagoas até lagos e rios (Martin, 2002). Quando em condições ambientais com alta disponibilidade de alimento, as fêmeas da espécie chegam a depositar de 200 a 600 ovos em poucas semanas (Ferguson, 2005; Ghesquiere, 2005). A incubação dos ovos dura de 14 a 17 dias e os caramujos tornam-se juvenis entre 15-25 dias pós eclosão (Hickel et al., 2012).

São animais considerados polívoros, ou seja, são capazes de se alimentar de uma grande variedade de alimentos, aumentando, assim, sua disponibilidade de alimento e, conseqüentemente, sua taxa de reprodução e crescimento (Tamburi e Martín, 2009). Em países asiáticos onde a espécie foi introduzida, como China, Filipinas e Malásia, por exemplo (Hayes et al., 2008), embora *P. canaliculata* tenha se tornado uma das maiores fontes de renda e alimentação, o descarte e a velocidade com que estes organismos se dispersaram, sobretudo em sistemas agrícolas (Hickel et al., 2012), como plantações de arroz, levou-os a serem considerados como uma das maiores pragas invasoras do mundo (Cowie, 2005).

Devido ao impacto ambiental decorrente da capacidade de invadir novos locais e por serem hospedeiros de parasitos humanos, especialmente, *Schistosoma mansoni* (Favre et al., 2001; Fenwick et al., 2006), diversas medidas de controle da espécie têm sido investigadas e propostas. Dentre elas, técnicas de controle biológico são bastante empregadas, como nivelamento de água ou drenagem do campo de arroz, impedindo, assim, que os animais consigam sobreviver (Wada, 2004). O uso de espécies predadoras, no entanto, não é tão eficaz para o controle da espécie *P. canaliculata*, pois, embora exista uma gama de predadores de

caramujos adultos, incluindo anfíbios, répteis, artrópodes, aves, etc., há apenas uma espécie capaz de predação dos ovos, levando à uma alta taxa de sobrevivência dos moluscos (Kwong et al., 2009). Assim, o controle biológico da espécie tem sido complementado por outros métodos convencionais através do emprego de defensivos agrícolas aplicados diretamente na água dos cultivos.

1.2 Niclosamida

Atualmente, nos países asiáticos, os moluscicidas sintéticos, como a Niclosamida e o metaldeído, são amplamente utilizados para o controle químico da espécie (Schnorbach et al. 2006), demonstrando resultados rápidos e eficazes. No entanto, apesar de amplamente empregados, eles têm sua eficácia reduzida pelas condições físico-químicas do ambiente ou, talvez, por atividades realizadas pelo molusco, como o fechamento opercular após a exposição química (Ruth et al., 1997), o que favorece sua sobrevivência.

A Niclosamida, representada estruturalmente na Figura 1 (2', 5-dicloro-4'-nitrosalicilanilida), registrada pela primeira vez como pesticida nos EUA em 1964 pelo Departamento de Agricultura dos EUA (USDA) e vendida como Baylucide (2-aminoetanol, Bayer®) é o único moluscicida comercialmente disponível recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para uso em larga escala no programa de controle de caramujos que transmitem a esquistossomose (OMS, 1993), pois preenche a maioria dos requisitos de moluscicida ideal (Sahar, 2005). Entretanto, devido à sua toxicidade para um grande número de espécies de peixes, o que pode levar a sérios impactos nos ecossistemas aquáticos (Andrews et al., 1983; Perret e Whitfield, 1996), sua aplicação em áreas de aquicultura é limitada (Chen et al., 2019).

Desse modo, a fim de otimizar o tratamento empregado com a Niclosamida, de forma que ele seja menos prejudicial às demais espécies não-alvo, o objetivo deste trabalho foi verificar se há diferença na sensibilidade ao moluscicida durante as fases iniciais do desenvolvimento da espécie *P. canaliculata*. Esta hipótese foi considerada levando em conta que, em resultados preliminares, decorrentes de uma tese de doutorado em desenvolvimento no Programa de Pós-graduação em Ecologia da UFRGS, verificou-se que os juvenis da espécie utilizados em ensaios ecotoxicológicos apresentaram respostas variadas em relação à mortalidade frente a extratos vegetais estudados para o controle químico da espécie. As

concentrações de Niclosamida ensaiadas nas fases jovens de *P. canaliculata* foram também ensaiadas com larvas de *Danio rerio*, visando compreender os efeitos destas sobre organismos não-alvo.

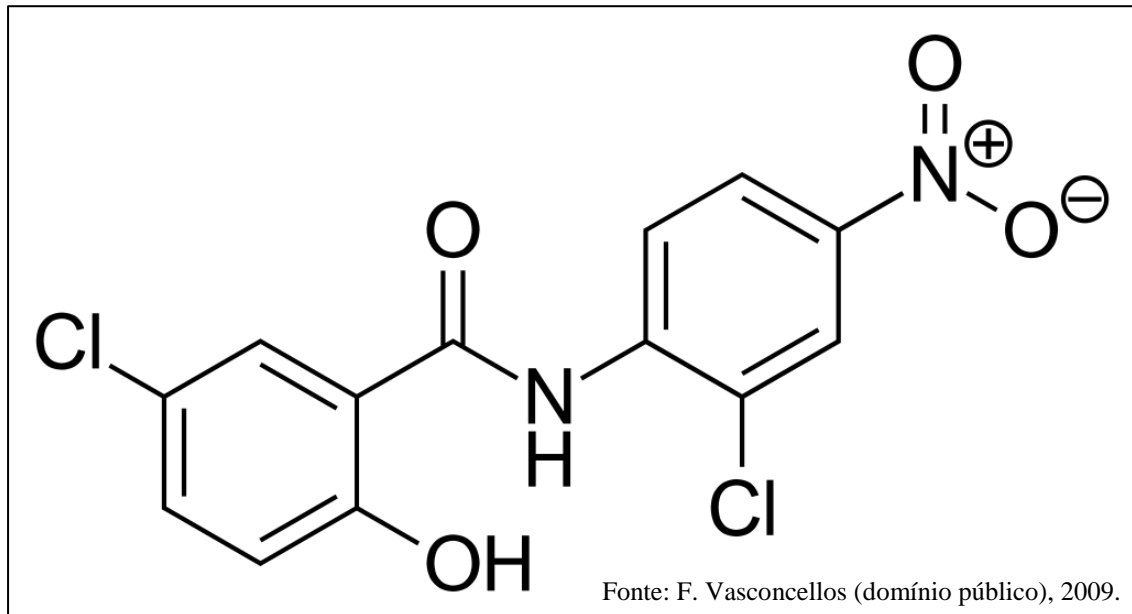


Figura 1: estrutura química da Niclosamida, substância utilizada como moluscicida no controle populacional de *P. canaliculata*.

2. METODOLOGIA

A metodologia está resumida no Quadro 1. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Ecotoxicologia, do Centro de Ecologia do Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, entre os meses dezembro de 2018 e março de 2019, seguindo a cronologia apresentada na Figura 2.

2.1 Animais

Diferentes posturas de *P. canaliculata* (Figura 3) foram coletadas na localidade de Varzinha, no município de Viamão, RS (-30.314747; -50.911911) (Licença de coleta SISBIO: 61181) e transportadas até o laboratório para serem aclimatados à temperatura de $26^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e fotoperíodo 12:12h (claro: escuro) até o período de eclosão (~15 dias). Após eclosão, os animais foram mantidos em becker de 2 litros com água de poço (dureza: $46\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 ; pH: 7,4; condutividade elétrica: $295\mu\text{S cm}^{-1}$) até atingirem idade de 6 dias e, posteriormente, 20 dias após eclosão para realização dos ensaios.

2.2 Soluções e dosagens

Devido à baixa solubilidade de Niclosamida em água, uma solução estoque foi preparada em eppendorf, utilizando 10 mg de Niclosamida (*Sigma Aldrich; N350-50g; Lot: #047M4046V; CAS: 50-65-7*), pesados em balança analítica e diluídos em 1 mL de etanol (EtOH) 100%. Para total solubilização da solução, o eppendorf foi agitado em vórtex. Posteriormente, para o preparo das concentrações a serem aplicadas, 1 μL da solução estoque foi pipetado para cada 10 mL de solução de ensaio. Todos os ensaios foram realizados em placas para cultivo celular de 6 poços (Kasvi, China), contendo 10 mL da concentração teste em cada poço. Desse modo, como cada concentração foi feita em duplicata e cada poço possuía capacidade de 10 mL, para alcançar a concentração inicial de $0,5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 2 μL da solução estoque foram diluídos em 40 mL de água deionizada reconstituída (ADR) (ajustada para uma dureza de $49\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de CaCO_3 , pH de 7,5 e condutividade elétrica: $190\mu\text{S cm}^{-1}$) medidos em proveta de 40 mL. Após 20 mL da solução de ensaio serem distribuídos nos poços da placa de ensaio (figura 4), o volume restante da solução da proveta foi novamente elevado a 40 mL para alcançar a dosagem seguinte de $0,25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e, assim, sucessivamente, até alcançar a concentração mais baixa de $0,015\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. As concentrações aplicadas foram: 0,5; 0,25; 0,125; 0,062; 0,0312 e $0,0156\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de Niclosamida, além do controle negativo ADR e do controle de EtOH 1%, para descartar possíveis efeitos tóxicos do preparo da solução estoque (diluição de Niclosamida em etanol 100%).

2.3 Ensaio de toxicidade

Os ensaios foram realizados em duplicata para cada concentração, utilizando 5 organismos-teste por réplica. Para evitar a fuga dos animais nos poços, redes circulares de tecido voal foram colocadas sobre a solução. Em cada ensaio, o tempo de exposição foi de 48 horas com observação das mortalidades a cada 24 horas. Para a confirmação da mortalidade, critérios como o desprendimento da concha e secreção de muco foram analisados. Aqueles animais que estavam retraídos foram colocados em água deionizada reconstituída para verificação da sobrevivência. A leitura dos ensaios foi analisada partindo dos controles em direção às concentrações mais altas, para evitar que houvesse contaminação da pinça de manuseio com concentrações mais altas nos poços com concentrações mais baixas. Os animais considerados mortos foram, então, contabilizados e retirados do ensaio.

2.4 Espécies não-alvo

Para avaliar o efeito da Niclosamida em espécies não-alvo, a metodologia dos ensaios realizados com *P. canaliculata* foi repetida com larvas de *Danio rerio* (Hamilton, 1822) de 7 dias de vida, nas mesmas condições e concentrações (0,5; 0,25; 0,125; 0,062; 0,0312 e 0,0156 mgL⁻¹ de Niclosamida e controles ADR e EtOH 1%). *D. rerio* foi escolhido como organismo-teste para estes ensaios por ser, atualmente, um dos organismos mais utilizados e estudados no mundo todo em ensaios toxicológicos (Masai, 2003; Magalhães, 2007), além de ser um organismo de fácil manutenção e reprodução em laboratório (Laale, 1977; Roex et al., 2001). Os animais foram obtidos dos cultivos do Laboratório de Ecotoxicologia (UFRGS), em sala de cultivo mantida a uma temperatura de 28°C e fotoperíodo artificial de 15h claro e 9h escuro. O estoque de reprodutores utilizados foi mantido em um sistema de filtros biológicos e mecânicos, com dureza (100-150 mg. L⁻¹ de CaCO₃), pH 7,4 e concentrações de amônia (< 0,020 ppm) verificados semanalmente e corrigidos quando necessário.

2.5 Testes estatísticos

Para todos os ensaios, os valores das concentrações que causavam efeito agudo em 50% da população exposta (CL₅₀,48h), bem como os respectivos intervalos com 95% de confiança,

foram obtidos utilizando-se o programa Trimmed Spearman-Kärber 1.5. As diferenças nos valores de CL50 obtidos com cada um dos diferentes grupos ensaiados foram verificadas baseadas no método de sobreposição dos intervalos de confiança (PAYTON et al, 2003).

Quadro 1: resumo comparativo das metodologias utilizadas nos ensaios de toxicidade e nos cultivos de *P. canaliculata* e *Danio rerio*.

Organismo-teste	<i>Pomacea canaliculata</i>	<i>Danio rerio</i>
Número de ensaios	14	3
Número de posturas	8	-
Número de réplicas	2	2
Número de animas por réplica	5	5
Idade	6 e 20 dias após eclosão	7 dias após eclosão
Temperatura de cultivo	26 ± 2 °C	28 ± 2 °C
Fotoperíodo de cultivo	12: 12 (claro: escuro)	15: 9 (claro: escuro)
Água de diluição	Deionizada reconstituída ajustada à dureza de 49 mg/L de CaCO ₃	Deionizada reconstituída ajustada à dureza de 49 mg/L de CaCO ₃
Volume por réplica	20mL	20mL
Concentrações (em mgL⁻¹ de Niclosamida)	0,5; 0,25; 0,125; 0,063; 0,031 e 0,015	0,5; 0,25; 0,125; 0,063; 0,031 e 0,015
Controles	ADR e EtOH (1%)	ADR e EtOH (1%)
Tempo de Exposição	48h	48h
Efeito observado	Mortalidade	Mortalidade
Expressão do resultado	CL50%	CL50%
Análise estatística	Trimmed Spearman-Kärber 1.5	Trimmed Spearman-Kärber 1.5

Fonte: Lara M. Prusch, 2019.

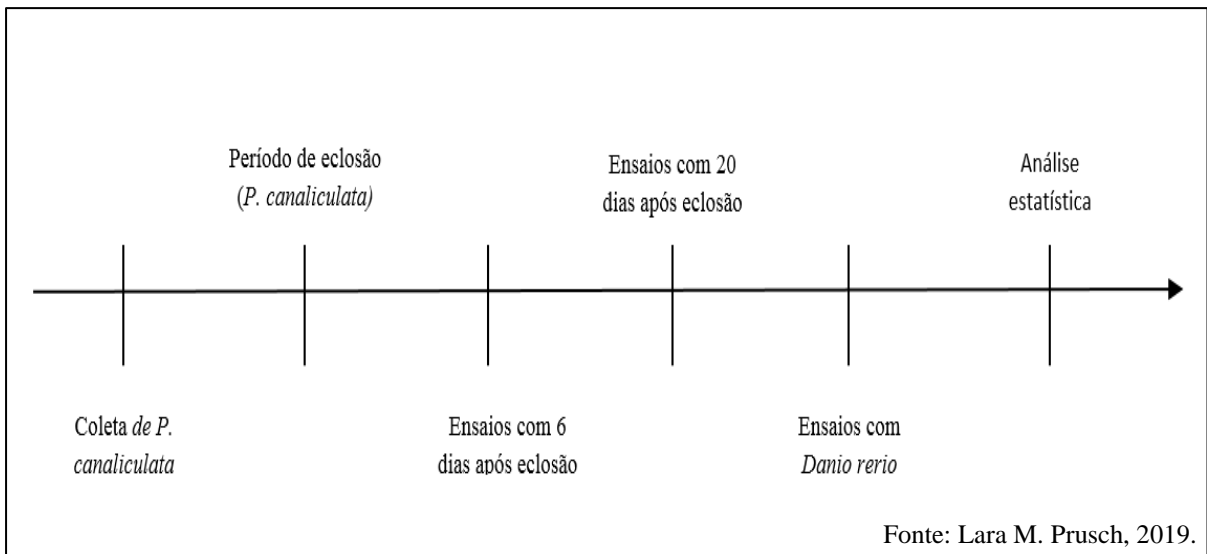


Figura 2: linha do tempo experimental, indicando a sequência da metodologia aplicada nos ensaios.



Figura 3: Posturas de *P. canaliculata* mantidas no laboratório de cultivo.



Figura 4: placas (de cultivo celular e tecidual) de 6 poços utilizadas para a montagem dos ensaios.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 5 apresenta os resultados obtidos nos ensaios de toxicidade aguda com cada uma das posturas de *P. canaliculata* ensaiadas, tanto para os organismos de 6 dias quanto para os de 20 dias pós eclosão, além dos resultados obtidos para as larvas de *D. rerio*.

De acordo com o método de sobreposição de intervalos de confiança, não foi possível verificar diferenças significativas entre os valores de $CL_{50;48h}$ apresentados entre as diferentes posturas de *P. canaliculata* avaliadas, bem como as diferentes faixas etárias. Contudo, os valores médios da $CL_{50;48h}$ obtidos nos ensaios com *P. canaliculata*, com idade entre 6 dias ($CL_{50;48h}$ de $0,08 \text{ mgL}^{-1}$) e 20 dias ($CL_{50;48h}$ de $0,09 \text{ mgL}^{-1}$), demonstram que essa faixa etária é mais sensível à Niclosamida, contrapondo-se à $CL_{50;48h}$ de $0,76 \text{ mgL}^{-1}$ quando utilizada como moluscicida para espécimens adultos do gênero *Pomacea* sp. ($CL_{50;48h}$ (Oliveira-Filho e Paumgarten, 2000)).

Do mesmo modo, não foi possível verificar diferenças significativas entre os valores de $CL_{50;48h}$ apresentados pelas posturas de *P. canaliculata* (com 6 e 20 dias) e aqueles apresentados nos ensaios com *D. rerio*, o que indica que a espécie não-alvo foi atingida nas mesmas concentrações capazes causar efeitos à espécie-alvo. Estes dados corroboram com outros trabalhos que demonstram que, apesar de seu uso geral, a Niclosamida, mesmo em concentrações moluscicidas, é capaz de induzir efeitos nocivos em várias espécies não-alvo (Andrews et al., 1983). Diversas algas como Diatomáceas, *Chlorococcus*, *Kirchneriella* e *Ankistrodesmus*, são ligeiramente afetadas pelo moluscicida em concentrações altas como 2 mgL^{-1} e *Scenedesmus*, é erradicada em concentrações de 5 mgL^{-1} (Oliveira et al., 2000). Em espécies de insetos, há uma grande variabilidade de sensibilidade, sendo que algumas delas são bastante tolerantes a esse moluscicida. Em Odonata, por exemplo, a $CL_{50;24h}$ foi de 50 mgL^{-1} , já a ordem Díptera foi mais sensível, com $CL_{50;24h}$ de $0,57 \text{ mgL}^{-1}$ (Andrews et al., 1983).

Nas especificações do produto vendido comercialmente (BOSMAN INDUSTRIAL CO., LTD., 2009), a $CL_{50;96h}$ para peixes é de $0,1 \text{ mgL}^{-1}$, no entanto, segundo Andrews et al., 1983, a $CL_{50;24h}$ varia entre $0,043$ a $0,279 \text{ mgL}^{-1}$ para uma grande diversidade de espécies de peixes. Isso é bastante preocupante, visto que peixes são frequentemente uma importante fonte de alimento em áreas onde a esquistossomose é endêmica, por exemplo, (Perret e Whitfield, 1996) e concentrações variadas de niclosamida foram encontradas na carne de diferentes espécies de peixes coletadas de lagoas de aquacultura tratadas (Calumpang et al. 1995).

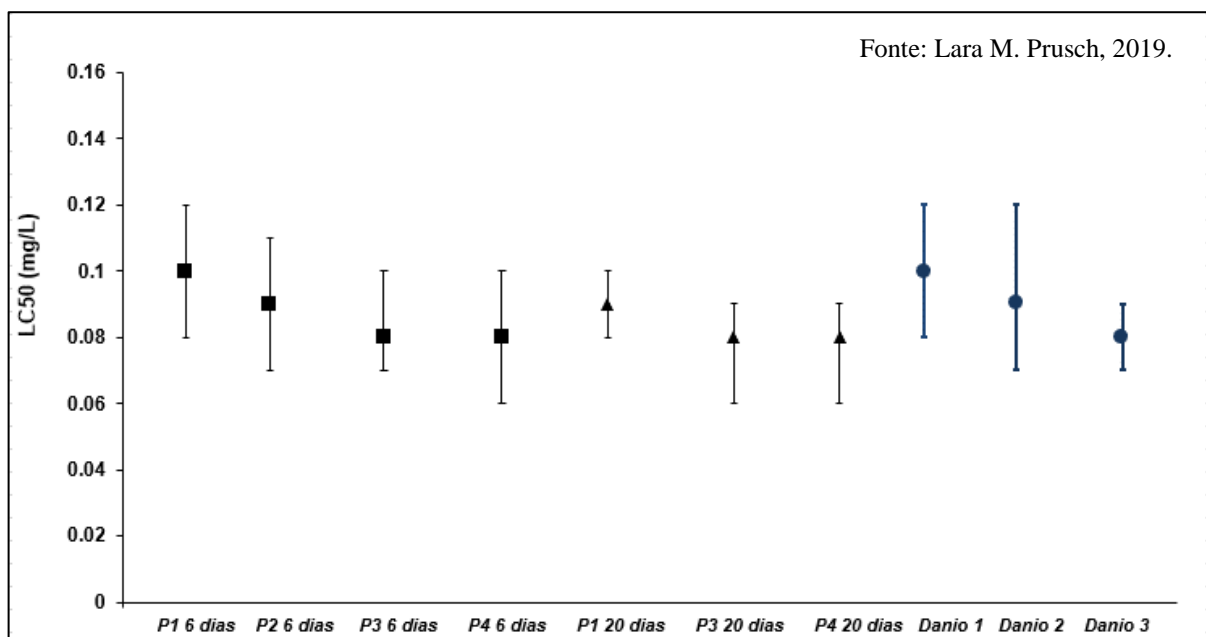


Figura 5: comparação das $CL_{50;48h}$ para Niclosamida e os extremos dos respectivos intervalos de confiança obtidos para cada uma das diferentes posturas (P) de *P. canaliculata* avaliadas com 6 (■) e 20 dias (▲) pós eclosão e para as os ensaios com *D. rerio* (●).

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a mortalidade de *P. canaliculata* na natureza seja alta nos primeiros estágios juvenis, esperava-se que houvesse uma maior sobrevivência em condições ideais em laboratório, como alimentação adequada e trocas frequentes das águas dos cultivos. Infelizmente, das 8 posturas coletadas, apenas 4 foram viáveis para realizar os ensaios com 6 dias e apenas 3 foram viáveis para realizar os ensaios com 6 e 20 dias. A inviabilidade das posturas se deu por uma série de problemas relacionadas a manutenção dos cultivos. Consequentemente, a avaliação da sensibilidade de *P. canaliculata* à Niclosamida em diferentes fases do desenvolvimento foi prejudicada. Desta forma, nas posturas onde houve alta mortalidade os organismos foram descartados, considerando que aqueles que sobreviveram poderiam ser mais resistentes e, assim, sua CL₅₀;48h não ser representativa.

Os dados aqui obtidos podem não ser conclusivos em função do reduzido número de ensaios realizados e, desta forma, os resultados não permitiram verificar diferenças significativas nos valores de CL₅₀;48h entre as diferentes posturas e entre as duas idades avaliadas. Contudo, os resultados tendem a indicar que fases jovens de *P. canaliculata* possam ser mais sensíveis que a fase adulta, mas, ainda assim pode não haver diferenças significativas entre as concentrações que causam efeitos letais sobre as fases jovens de *P. canaliculata* e a espécie não-alvo utilizada, *D. rerio*.

Considerando que é importante equilibrar o benefício do controle do caramujo com a possível perda de espécies de peixes e invertebrados, antes de se optar pelo uso da Niclosamida no ambiente natural, faz-se necessária a realização de novos ensaios de forma a confirmar a eficiência do produto em diferentes idades de *P. canaliculata* em detrimento aos efeitos sobre as espécies não alvo.

5. REFERÊNCIAS

1. ANDREWS, P.; THYSSEN, J.; LORKE, D. The biology and toxicology of molluscicides, bayluscide. **Pharmacology & Therapeutics**, Volume 19, Issue 2, Pages 245-295, 12 jun. 1983;
2. BOSMAN INDUSTRIAL CO., LTD., Shanghai. **Niclosamida etanolamina 70% 50% WP, Moluscidas inseticidas slug e controle de caracol**. [S. l.], 2009. Disponível em: https://pt.made-in-china.com/co_shbosman/product_Niclosamide-

ethanolamine-70-50-WP-Molluscicides-insecticides-slug-and-snail-control_eiihgyigy.html. Acesso em: 12 jun. 2019;

3. CALUMPANG, S.M.F. Fate of niclosamide in various components of a fish and prawn pond ecosystem. **AGRIS**, University Library, University of the Philippines at Los Baños, 12 jun. 1994. Disponível em: <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=PH9511024>. Acesso em: 12 jun. 2019;
4. CARLSSON, N. O. L; BRÖNMARK, C. Size dependent effects of an invasive herbivorous snail (*Pomacea canaliculata*) on macrophytes and periphyton in Asian wetlands. **Freshwater Biol**, v. 51, n. 4, p. 695-704, 12 jun. 2006;
5. CHEN, Z. *et al.* Toxicity of a molluscicide candidate PPU07 against *Oncomelania hupensis* (Gredler, 1881) and local fish in field evaluation. **Chemosphere**, p. 56-61, 21 jan. 2019;
6. COWIE, R. **Pomacea canaliculata**. Banco de dados global de espécies invasoras, 12 jun. 2005. Disponível em: <http://www.sisg.org/database/spamys/ecology/aspp/3>. Acesso em: 31 jan. 2019;
7. FAVRE, T.C. *et al.* Avaliação das ações de controle da esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 na área endêmica de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Rio de Janeiro**, v. 34, n. 6, p. 596-576, 2001;
8. FENWICK, A.; WEBSTER, J. P. Schistosomiasis: challenges for control, treatment and drug resistance. **Current Opinion in Infectious Diseases**, 577-82, 2006;
9. FERGUSON, C. 2005. "The invasion of apple snails (*Pomacea canaliculata*) into Hawai'i: A case study in environmental problem solving" (On-line pdf). Accessed march 26, 2019 at <http://www.ctahr.hawaii.edu/nrem/capstone/2005/applesnail2-last.pdf>;

10. GHESQUIERE, S. 2005. "Espécies Aquáticas Invasivas" (On-line). Acessado em 31 de janeiro de 2019 em http://www.gov/dnr/files/CHANNELED_APPLE_SNAIL.pdf;
11. HAYES, K. A *et al.* Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. **Diversity and Distributions, (Diversity Distrib.)**, 701–712, 2008;
12. HICKEL, E.; SCHEUERMANN, K. K.; EBERHARDT, D. Manejo de caramujos em lavouras de arroz irrigado, em sistema de cultivo pré-germinado. **Revista Agropecuária Catarinense**, v.25, n.1, 2012;
13. HOLZ, J. HWA, O. B. Influence of the molluscicide Bayluscide on plankton in Indonesian fishponds and rice fields. **P-anzenschutz-Nachrichten Bayer** 16, 253-257,1963;
14. KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos: métodos, técnicas e aplicações**. Florianópolis: FATMA, p.289, 2004. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=REPIDISCA&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=21820&indexSearch=ID>. Acesso em: 1 mar. 2019;
15. KWONG, K. L.; CHAN, R. K. Y.; QIU, J. W. The Potential of the Invasive Snail *Pomacea canaliculata* as a Predator of Various Life-Stages of Five Species of Freshwater Snails. **Institute of Malacology, Malacologia**, 51(2):343-356, 2009. Disponível em: <http://www.bioone.org/doi/full/10.4002/040.051.0208>. Acesso em: 12 jun. 2019;
16. LAALE, H. W. The biology and use of zebrafish *Brachydanio rerio*, in fisheries research. A literature research. **J Fish Biol**, 10:121–73, 1977;
17. LAMARCK [J.-B. M.] de. (1822). Histoire naturelle des animaux sans vertèbres. Tome sixième, 2me partie. Paris: **published by the Author**, 232 pp.;

18. MAGALHÃES, D. P. **Avaliação de um sistema de análise de imagem em tempo real para monitoramento de efeito tóxico no comportamento natatório do peixe danio rerio (Hamilton, 1822)**. 2007. Dissertação de mestrado (Mestrado em Ciências na área de Saúde Pública) - Escola nacional de saúde pública (ensp/fiocruz), 2007. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/4593>. Acesso em: 12 jun. 2019;
19. ESTEBENET, A. L.; MARTÍN, P. R. Shell interpopulation variation and its origin in pomacea canaliculata (gastropoda: ampullariidae) from southern pampas, argentina. **Journal of Molluscan Studies**, Volume 69, Issue 4, November 2003, Pages 301–310, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mollus/69.4.301>. Acesso em: 12 jun. 2019;
20. MASAI, I. *et al.* N-cadherin mediates retinal lamination, maintenance of forebrain compartments and patterning of retinal neurites. **Development**, 130: 2479-2494, 2003. Disponível em: doi: 10.1242/dev.00465. Acesso em: 12 jun. 2019;
21. OLIVEIRA-FILHO, E.C. *et al.* Comparative study on the susceptibility of freshwater species to copper-based pesticides. **Chemosphere**, Oxford, v. 56, n. 4, p. 369-374, 2004;
22. OLIVEIRA-FILHO, E. C.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Toxicity of Euphorbia milii Latex and Niclosamide to Snails and Nontarget Aquatic Species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Volume 46, Issue 3, July 2000, Pages 342-350, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/eesa.2000.1924>. Acesso em: 12 jun. 2019;
23. OLIVIER, H. M. *et al.* A Pilot Study Testing a Natural and a Synthetic Molluscicide for Controlling Invasive Apple Snails (Pomacea maculata). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, Volume 96, Issue 3, pp 289–294, 2016;
24. PERRETT, S.; WHITFIELD, P.J. Currently available molluscicides. **Parasitol Today**, 156-9., 1996;

25. ROEX, E. W. M.; GIOVANNANGELO, M.; VAN GESTEL, C. A. M. Reproductive Impairment in the Zebrafish, *D. rerio*, upon chronic exposure to 1, 2, 3-Trichlorobenzene. **Ecotoxicology and Environmental Safety** , Volume 48, Issue 2, Pages 196-201, 2001;
26. SAHAR, B.A, (2005): laboratory evaluation on some molluscicides of plants origin as an environment-oriented tool for combating bilharzias, **University of Khartoum, MsC**;
27. SCHNORBACH, H. J.; RAUEN, H. W.; BIERI, M. Chemical control of the golden apple snail, *Pomacea canaliculata*. In: JOSHI, R.C. SEBASTIAN, L.S. (Eds.). Global advances in ecology and management of golden apple snails. **Nueva Ecija: Philippine Rice Research Institute**, 2006. P.419-438;
28. SILVA, Kelly Lemos *et al.* **BRASIL PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO 2017/2018 a 2027/2028**. [S. l.], 2018. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/PROJECOES2018_FINALIZADA_web_05092018.pdf. Acesso em: 1 mar. 2019;
29. TAMBURI, N., MARTÍN, P. Taxas de alimentação e eficiência de conversão alimentar na maçã caracol *canaliculata* *Pomacea* (Caenogastropoda: Ampullariidae). **Malacologia**, **51/2: 221-232**;
30. VASCONCELLOS, F. **Niclosamide.svg**. 2009. PNG. Disponível em: <https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/62/Niclosamide.svg>. Acesso em: 12 jun. 2019;
31. WADA, T. Strategies for Controlling the Apple Snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck) (Gastropoda: Ampullariidae) in Japanese Direct-Sown Paddy Fields. **Agricultural Environment**, Volume 38, Issue 2, Pages 75-80, 2004;

32. ZOTTO, D. D; HICKEL, E. R; MARTINS, G. N. Prospecção do controle de caramujos do arroz irrigado com adubo foliar zinco-cúprico. **ResearchGate**, [S. l.], 2018. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/327605944>. Acesso em: 12 jun. 2019.