

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS- GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS**

TALITA SCARAMUSSA GUALANDI GARDIOLI

**PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO COMO POSSÍVEIS AGENTES
MOLUSCICIDAS**

ALEGRE- ES

2014

TALITA SCARAMUSSA GUALANDI GARDIOLI

**PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO COMO POSSÍVEIS AGENTES
MOLUSCICIDAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Ciências Veterinárias**, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico-cirúrgicas.

Orientador: Prof. Dr. Olavo dos Santos Pereira Júnior.

Co-orientadora: Prof. Dra. Mariana Drummond Costa Ignacchiti.

ALEGRE- ES

2014

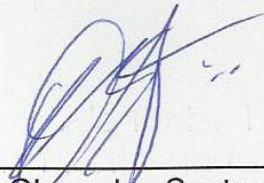
TALITA SCARAMUSSA GUALANDI GARDIOLI

**PLANTAS DO CERRADO BRASILEIRO COMO POSSÍVEIS AGENTES
MOLUSCICIDAS**

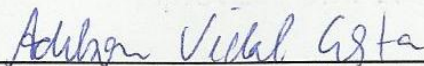
Dissertação apresentada do Programa de Pós- Graduação em Ciências Veterinárias do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Veterinárias, linha de pesquisa em Diagnóstico e Terapêutica das Enfermidades Clínico- Cirúrgicas.

Aprovado em 27 de fevereiro de 2014

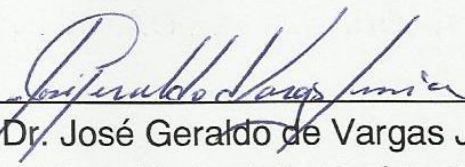
COMISSÃO EXAMINADORA



Prof. Dr. Olavo dos Santos Pereira Júnior
Orientador
Universidade Federal Juiz de Fora



Prof. Dr. Adilson Vidal Costa
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. José Geraldo de Vargas Júnior
Universidade Federal do Espírito Santo

Dedico aos meus pais, José Luiz Gualandi e Marilda Scaramussa Gualandi, que sempre me incentivaram a estudar e a nunca desistir dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Espírito Santo.

Ao Professor Olavo dos Santos Pereira Junior por ter aceitado ser meu orientador e pela sua paciência comigo.

A professora Mariana Drummond Costa Iguinacchiti pelas correções e sugestões desse estudo.

Aos meus pais pelo incentivo e pela formação acadêmica que me deram, permitindo que eu chegasse até aqui.

Ao meu esposo, Hudson Abreu Gardioli, por me ajudar em todos os momentos e por aceitar minhas ausências.

A minha filha Bárbara Gualandi Gardioli, pela companhia nos meus estudos e compreensão, mesmo sendo tão nova.

Enfim, quero agradecer a todos que direto ou indiretamente contribuíram para que eu conseguisse cumprir todas as etapas desse estudo.

“Devemos acreditar que temos um dom para alguma coisa e que, custe o que custar, havemos de consegui-lá”

Marie Curie

RESUMO

GARDIOLI, TALITA SCARAMUSSA GUALANDI. **Plantas do Cerrado Brasileiro como Possíveis Agentes Moluscidas**. Ano 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2014.

Diversas doenças parasitárias que atingem grande parte da população humana e animal possuem moluscos como hospedeiros intermediários. Doenças como fasciolose, que atinge bovinos, ovinos e caprinos, gerando prejuízos para a indústria alimentícia. Essa doença possui o caramujo do gênero *Lymnaea*, como hospedeiro intermediário no seu ciclo evolutivo. Por causar grandes perdas econômicas é uma doença de elevada importância para a área de medicina veterinária. As drogas usadas para o tratamento dessa parasitose reduzem sua morbidade, porém não controlam a transmissão. A utilização de agentes moluscidas como forma de controle da multiplicação e propagação dos caramujos representa uma estratégia eficiente e a busca por novos compostos químicos tem sido estudada. Os moluscidas naturais são produtos mais barato, seguros, biodegradáveis e de fácil acesso localmente. Neste estudo foram utilizados extratos hidroalcoólicos de plantas originárias do cerrado brasileiro, sendo elas *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, para serem testados contra moluscos do gênero *Lymnaea* e assim, verificarmos suas possíveis ações moluscidas. Os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentam atividade moluscida contra a espécie *L. columella*, sendo que *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, desencadeando efeitos tanto moluscidas como ovicidas, nos testes realizados.

Palavras- chave: Doenças; Fasciolose; Moluscos

ABSTRACT

GARDIOLI, TALITA SCARAMUSSA GUALANDI. **Plantas do Cerrado Brasileiro como Possíveis Agentes Moluscidas**. Ano 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2014.

Several parasitic diseases affecting most human and animal populations have molluscs as intermediate hosts. Diseases such as fascioliasis, which affects cattle, sheep and goats, generating losses for the food industry. This disease has the snail genus *Lymnaea*, as an intermediate host in its life cycle. To cause great economic losses is a disease of major importance for the field of veterinary medicine. The drugs used for the treatment of this parasitosis reduce morbidity, but not control the transmission. The use of molluscicides agents as a means of controlling the growth and spread of the snails is an efficient strategy and the search for new chemical compounds have been studied. Natural molluscicides are cheap, safe, biodegradable and easily accessible products locally. In this study hydroalcoholic extracts of plants from the Brazilian Cerrado were used, they *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* and *Miconia Cabuçu* Hoehne, to be tested against snails of the genus *Lymnaea* and so, we check its possible molluscicides actions. The hydroalcoholic extract of *D. elliptica* and *D. nitida* show molluscicidal activity against the species *L. columella*, and *D. elliptica* showed more promising results, triggering effects both how and ovicidal molluscicides, in tests.

Key- words: Diseases; Fascioliasis; Molluscs

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
Figura 1- <i>Neea theifera</i> Oerst.....	22
Figura 2- <i>Davilla elliptica</i>	24
Figura 3- <i>Davilla nitida</i>	25
Figura 4- <i>Miconia cabucu</i> Hoehne.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
Tabela 1- Porcentagem de mortalidade, Dose letal 50 (DL50) e Dose letal 100 (DL100), dos extratos hidroalcoólicos de <i>D. nitida</i> , <i>D.elliptica</i> , <i>Neea theifera</i> Oerst e <i>Miconia cabucu</i> Hoehne, sobre moluscos da espécie <i>Lymnaea columella</i>	42
Tabela 2- Teste de inibição de ovoposição	45

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Fasciolose Hepática	14
2.1.1 A Doença	14
2.1.2 Moluscos	15
2.1.3 Epidemiologia	16
2.1.4 Tratamento	18
2.2 Plantas com Potencial Ação Moluscicida	20
2.2.1 <i>Neea theifera</i> Oerst.	21
2.2.2 <i>Davilla elliptica</i>	22
2.2.3 <i>Davilla nitida</i>	24
2.2.4 <i>Miconia cabucu</i> Hoehne	25
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	27
CAPÍTULO 1: Plantas do Cerrado Brasileiro como Possíveis Agentes Moluscicidas	33
RESUMO	34
ABSTRACT	35
4 INTRODUÇÃO	36
5 METODOLOGIA	39
5.1 Plantas	39
5.2 Confeção dos Extratos Hidroalcoólicos	39
5.2.1 Secagem	39
5.2.2 Moagem	39
5.2.3 Extração	40
5.3 Animais	40
5.4 Testes Moluscicidas	40
5.5 Testes para Avaliar Atividade Ovicida	41
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
7 CONCLUSÕES	46

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
APÊNDICE	50
APÊNDICE A	51

1. INTRODUÇÃO

A *fasciola hepatica* é parasita helmíntico de ductos biliares de vertebrados, tanto de animais selvagens e de domésticos. Está associado à grandes perdas econômicas, principalmente através da condenação de fígados, redução da produção de carne e leite, elevação nos custos de medicamentos veterinários e de altas taxas de mortalidade que afetam os rebanhos (MENDES; LIMA; MELO, 2008).

Devido as perdas econômicas que causa, a fasciolose é uma doença de elevada importância para a área de medicina veterinária (SILVA, E. et al., 2008).

Sua disseminação está intimamente ligada à presença de moluscos do gênero *Lymnaea*, sendo estes seus hospedeiros intermediários (OLIVEIRA et al., 2002). No Brasil, esses moluscos são encontrados em áreas irrigadas que oferecem condições para sua proliferação. Sendo nas estações chuvosas observadas à facilidade da disseminação. *F. hepatica* ocorre em todo o território brasileiro, segundo relatos, principalmente, de matadouros e frigoríficos sob serviço de inspeção (OLIVEIRA, 2007).

Os medicamentos utilizados para o tratamento dessa parasitose reduz sua morbidade, porém não controlam a transmissão. Assim, a busca por novos compostos químicos para os moluscos hospedeiros intermediários dessa parasitose representa uma das estratégias mais eficientes contra essa doença (LOPES et al., 2011).

Os programas de controle que incluem o uso de moluscidas estão voltados para o combate a moluscos transmissores da fasciolose (SILVA, N. et al., 2008), pois além do tratamento dos pacientes infectados, é importante o controle da população de caramujos como forma de redução do risco de transmissão da doença (RUIZ et al., 2005).

Os moluscidas de origem vegetal possuem ação seletiva, são biodegradáveis, e são de fácil aplicação nos criadouros naturais, atendendo as exigências econômicas e ecológicas (ALCANFOR et al., 2001).

Testes utilizando as plantas *Neea theifera* Oerst., *Davila elliptica*, *Davila nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, originais do cerrado brasileiro, apresentaram drogas potenciais destinadas a diversas aplicações, tais com efeitos antiinflamatórios,

adringente e antibióticos. Porém, não foram encontrados artigos dessas plantas com ação moluscidas, o que justifica a realização desse estudo.

Assim, o objetivo desse estudo foi realizar testes para analisar a eficácia de extratos hidroalcoólicos dessas plantas como possíveis agentes moluscidas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Fasciolose Hepática

2.1.1 A doença

A Fasciolose é causada pelo trematóide *Fasciola hepatica* e afeta animais domésticos e selvagens por todo o mundo, principalmente em regiões temperadas, onde as condições climáticas são adequadas para os moluscos hospedeiros intermediários para o parasita (COSTA, 2010). O trematóide *Fasciola hepatica* atinge as vias biliares e o fígado de bovinos, ovinos e caprinos (SILVA, E. et al., 2008). Em ruminantes, gera o retardamento no crescimento de animais jovens, anemias, rejeição de fígados nos matadouros, abortos, queda na produção leiteira, mortalidade e gastos para tentar controlar a doença (BELLATO et al., 2009). Por causar grandes perdas econômicas, é doença de elevada importância para a área de medicina veterinária (SILVA, E. et al., 2008).

A fasciolose também é considerada zoonose, sendo sério problema de saúde pública (CORAL; MASTALIR, E.; MASTALIR, F., 2007), em que o homem é hospedeiro acidental, podendo adquiri- lá por meio do consumo de água e verduras contendo a forma infectante do parasita (OLIVEIRA; SPÓSITO FILHA, 2009).

Esta parasitose necessita de hospedeiro intermediário (moluscos) e hospedeiro definitivo (mamíferos) para completar seu ciclo. Moluscos do gênero *Lymnaea* são os únicos hospedeiros intermediários de *F. hepatica*, vivem em locais úmidos e lodosos e são de água doce (BELLATO et al., 2009). A fasciolose inicia-se quando o parasita é ingerido sob a forma de metacercárias presentes na pastagem contaminada. No intestino os jovens parasitas perfuram a parede intestinal e atravessam a cavidade peritoneal em direção ao fígado. No fígado os parasitas adultos vivem, alimentam-se e reproduzem-se nos ductos biliares (CORDERO DEL CAMPILLO; ROJO- VÁSQUEZ, 1999).

A continuidade dessa doença depende da disponibilidade de água e de fatores climáticos (BELLATO et al., 2009), além do tipo de pastejo realizado pelo hospedeiro definitivo.

O diagnóstico da fasciolose é realizado por meio da detecção de ovos nas fezes ou pelo exame *post-mortem* (MOLLOY et al., 2005). Porém, outras técnicas tem sido utilizadas, já que na fase inicial da infecção ainda não existem ovos nas fezes (OLIVEIRA; SPÓSITO FILHA, 2009). Testes imunológicos e sorológicos capazes de detectarem anticorpos e antígenos circulantes também têm sido empregados para diagnóstico da fasciolose (MATTOS et al., 2009). Segundo Bernardo et al. (2013) embora se obtenha maior sensibilidade dos kits ELISA comerciais e, destes apresentarem diferença em relação ao exame coproparasitológico na detecção dos animais positivos para *F. hepatica*, a escolha de um teste diagnóstico deve considerar o custo benefício. Dessa forma, quando se trata da presença de parasitismo em rebanhos, o tratamento é aplicado em todos os animais e, assim, o exame coproparasitológico para o diagnóstico da doença tem maior eficiência, já que é menos oneroso e de fácil execução.

Atualmente, os medicamentos utilizados para o tratamento dessa parasitose reduzem sua morbidade, porém não controlam a transmissão. Dessa forma, a busca por novas compostos químicos para os moluscos hospedeiros intermediários representa uma das estratégias mais eficientes contra essa doença (LOPES et al., 2011).

2.1.2 Moluscos

Moluscos do gênero *Lymnaea* podem atuar como hospedeiros intermediários da *Fasciola hepatica*, trematódeo de grande importância econômica em áreas de criação principalmente de bovinos e ovinos (ABILIO; WATANABE, 1998). Existem mais de vinte espécies de moluscos do gênero, os quais transmitem os parasitos *F. hepatica* e *F. gigantica* responsáveis pela doença fasciolose em ruminantes e humanos (SOUZA et al., 2002). A presença de moluscos do gênero *Lymnaea* é imprescindível para o estabelecimento dos focos da doença (OLIVEIRA; SPÓSITO FILHA, 2009).

No Brasil, foram registradas quatro espécies pertencentes ao gênero *Lymnaea*, sendo: *L. columela*, *L. viatrix*, *L. cubensis* e *L. rupestris* (PARAENSE, 1982). Dentre estas, apenas as três primeiras foram caracterizadas como hospedeiras intermediárias em diferentes localidades do país (GOMES et al., 2002;

OLIVEIRA; SPÓSITO FILHA, 2009), sendo a espécie *L. columella* considerada a de maior interesse epidemiológico no Brasil, devido a sua ampla distribuição (ARAÚJO et al., 2002; PREPELITCHI et al., 2003). Segundo Paraense (1983), moluscos dessa espécie vivem sobre plantas aquáticas, em áreas pantanosas e brejos.

Segundo Ueta (1976), somente em 1975 foram publicados estudos sobre a biologia deste molusco. A identificação específica é baseada em características morfológicas do reservatório, rádula, órgãos renais e reprodutivos. Porém, a identificação nem sempre é satisfatória, dessa forma, técnicas de PCR (Reação em cadeia da polimerase) e técnicas de polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição (PCR- RFLP) podem ser empregadas para identificar a espécie *Lymnaea columella*. Atualmente utilizam-se técnicas moleculares para confirmar a identificação pelo método morfológico clássico (CARVALHO et al., 2004).

A distribuição da população de moluscos está estreitamente ligada a fatores ecológicos e climáticos (MAURE et al., 1998). Sua população aumenta durante as estações chuvosas e diminui com temperaturas baixas e nos períodos de seca, sendo capazes de sobreviverem na lama seca durante vários meses, resistindo também, às baixas temperaturas (MENDES, 2006; OLIVEIRA; SPÓSITO FILHA, 2009). Podem produzir cerca de 3000 mil ovos ao mês (OLIVEIRA; SPÓSITO FILHA, 2009).

Segundo Oliveira et al. (2002), condições ambientais, no Vale do Ribeira, estado de São Paulo, mostraram-se favoráveis à manutenção e desenvolvimento do molusco *L. columella* durante a maioria dos meses do ano, e o número de moluscos foi constante durante os meses de colheita, na pastagem onde se localizam fontes permanentes de água.

2.1.3 Epidemiologia

A distribuição mundial da fasciolose é mais encontrada nos países da região andina (Bolívia, Peru, Chile e Equador), Caribe (Cuba), norte da África (Egito), Europa ocidental (Portugal, França e Espanha), e os do mar Cáspio (Irã). Devido às limitações de diagnóstico desta parasitose e a inclusão como doença de notificação, provavelmente, o número de casos é muito maior do que o publicado (OLIVEIRA, 2007; MURO, 2010).

A distribuição da fasciolose está ligada a fatores climáticos, a ecologia dos animais hospedeiros, à presença no ambiente de moluscos do gênero *Lymnaea*, e a fatores topográficos (MATTOS et al., 1997; OLIVEIRA, 2007). A transmissão ocorre através do consumo de metacercárias aderidas às plantas aquáticas.

No Brasil, os primeiros registros ocorreram no estado do Rio de Janeiro. Porém, já se tinha registros também nas regiões Sul, Centro-Oeste e Nordeste (PILE et al., 2001). Contudo, segundo relatos, principalmente, de matadouros e frigoríficos sob serviço de inspeção, a *F. hepatica* ocorre em todo território brasileiro (OLIVEIRA, 2007).

Segundo Serra- Freire (1995), o estado do Espírito Santo não era reconhecido como região endêmica para a fasciolose, porém, em estudo realizado por Bernardo et al. (2011) em abatedouro no município de Atilio Vivacqua, no sul do Estado do Espírito Santo, 110.956 bovinos foram abatidos e a prevalência de condenação de fígado devido a *F. hepatica* foi 15,24% em 2006, 23,93% em 2007, 28,57% em 2008 e 28,24% em 2009, esse histórico mostra que a tendência de condenação de fígado é crescente, indicando que este parasitismo tornou-se estabelecido no rebanho como um problema nesta região, com uma prevalência similar ao das regiões endêmicas tradicionalmente.

Fasciola hepatica tem alta frequência no Rio Grande do Sul, especialmente no sul e sudeste do Estado, onde é endêmica. Em estudo realizado neste mesmo estado, por meio de laudos de abate e condenação de fígados, com os dados de condenação de 2000 a 2005, concluiu-se que a fasciolose ovina é prevalente nessa região, acarretando perdas para os produtores, frigoríficos e para o Estado (CUNHA; MARQUES; MATTOS, 2007).

No Vale de Paraíba, na região sudeste, o número de registro de fasciolose em animais aumentou e no estado do Rio de Janeiro, casos de fasciolose humana tem sido mencionada (PILE et al., 2001).

Em estudo realizado por Pile et al. (1999), foi registrado presença de fasciolose em Itaguaí, Rio de Janeiro. A instalação do foco natural foi verificada através do encontro das formas larvares em *Lymnaea columella*. Esse registro foi o primeiro no município, sendo considerado epidemiologicamente importante devido aos fatores impostos pelas condições socioeconômicas existentes na área em estudo.

Segundo Gomes et al. (2002), no município de Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, foi realizado rastreamento de propriedades caracterizadas em matadouros como possíveis focos de fasciolose hepática devido a presença do parasito adulto em fígados de bovinos abatidos. O estudo foi direcionado para a identificação das espécies de moluscos existentes, averiguação da infecção das que possuíam real potencial como hospedeiros intermediários e a realização de exames parasitológicos para detecção de ovos do parasito adulto nos bovinos. Em uma das propriedades foi observada a presença de *Lymnaea columella* naturalmente infectada por formas larvais de *F. hepatica*, assim como de ovos do parasito em amostras fecais dos bovinos, caracterizando dessa forma o estabelecimento de foco da enfermidade.

Em estudo realizado por Tostes et al. (2004), numa propriedade na região de Presidente Prudente, São Paulo, também foi descrito a ocorrência de fasciolose, com a confirmação de ovos de *F. hepatica* em exame coproparasitológico e a presença de caramujos do gênero *Lymnaea*. Nesse mesmo estudo observou-se que a propriedade ofereceu condições favoráveis ao desenvolvimento do hospedeiro intermediário do parasito e ao surgimento de casos autóctones na região.

Dados estatísticos fornecidos pelo Sistema de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura do Brasil comprovam que a ocorrência de *F. hepatica* e a condenação de fígados pela fasciolose vêm aumentando gradativamente (MENDES, 2006).

Contudo, tanto os fatores que contribuem para a manutenção e infecção das populações de moluscos, como o conhecimento sobre a espécie transmissora, sua suscetibilidade a aquisição, sucesso da infecção e qual seu papel na transmissão da doença nas diferentes regiões onde se encontram permitem a implantação de medidas de controle mais efetivas (MENDES, 2006).

2.1.4 Tratamento

Os programas de controle integrado recomendam medidas estratégicas preventivas associadas ao tratamento de pessoas doentes e à melhoria das condições socioeconômicas, de saneamento básico, e controle da população do molusco vetor (PILE et al., 2001).

Para a eliminação ou redução da população do caramujo hospedeiro intermediário desse parasita o método mais eficaz é o uso de moluscidas (RAPADO; KATO; KAWANO, 2009). O uso de substâncias com propriedades moluscidas eliminam o vetor, pois interrompem o ciclo evolutivo do parasita e assim, impedem o surgimento de novos casos da doença. Os moluscidas podem ser classificados em sintéticos e naturais (CANTANHEDE et al., 2010).

O moluscida niclosamida é o único moluscida sintético recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (SILVA, N. et al., 2008). Porém, os moluscidas sintéticos tem gerado preocupação, pois são pouco biodegradável, com toxicidade não seletiva e de custo elevado, sendo inviáveis para países de terceiro mundo onde a doença apresenta de forma endêmica (LOPES et al., 2011). Além disso, acarretam prejuízos ao ambiente, e a recolonização das áreas afetadas tornam o processo de aplicação dispendioso e operacionalmente impossível de ser realizado (PILE et al., 2001).

O uso de moluscidas naturais vem ganhando destaque, visando a obtenção de produto mais barato, seguro, biodegradável e de fácil acesso localmente para controle das populações de caramujos (SILVA FILHO et al., 2009). Medidas alternativas de controle baseiam-se na possibilidade do uso de plantas ou de seus derivados como moluscidas (PILE et al., 2001)

A procura pelo uso desses compostos vem desde 1930, quando foi sugerido o cultivo de *Balanites aegyptiaca* L (balanitaceae). Árvore típica do deserto africano, perto dos focos de transmissão da doença, no Sudão. Quando os frutos caíam no chão, eles impediam o aumento do número de caramujos (SILVA, N. et al., 2008).

No Brasil, as primeiras pesquisas com moluscidas naturais demonstraram as atividades de extratos aquosos do caule de *Serjania* SP. (cipó-timbó) e *Sapindus saponaria* L. (saboneteira) em *Biomphalaria glabrata* (CANTANHEDE et al., 2010).

Estudos recentes de revisão da atividade moluscida de espécies vegetais indicam taninos, saponinas, terpenóides, esteróides e flavonóides como classe de metabólitos secundários com potencial atividade moluscida (LOPES et al., 2011). Muitos autores, querendo obter produtos com alto teor moluscidas a partir de extratos vegetais, se dedicam a pesquisa com plantas regionais, sendo que muitas espécies tóxicas, ornamentais e medicinais foram testadas quanto sua possível ação moluscida (CANTANHEDE et al., 2010). Recomenda-se a utilização de extratos de folhas, galhos ou frutos de espécies de plantas regionais como matéria prima para

conseguir substâncias a serem empregadas no controle de caramujos (SILVA, N. et al., 2008).

Em estudo realizado por Pile et al. (2001), o uso de látex da “coroa-de-Cristo” (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*) no controle da fasciolose hepática numa fazenda de gado de corte no município de Taubaté, São Paulo, Brasil, mostrou diminuição da taxa de infecção dos bovinos, indicando a possibilidade desse produto como subsídio em programas de controle estratégico.

Extratos fitoterápicos compostos de *Melia azedarach* var *azedarach*, *Azadirachta indica* A. Juss e *Cymbopogon winterianus*, conhecidos popularmente como cinamomo, nim e citronela, respectivamente, foram testados quanto a sua eficácia como agentes moluscicidas. Foram testados extratos alcoólicos, acetato de etila e hexânicos extraídos de caules e folhas dos vegetais como agentes moluscicidas para a espécie *L. columella*. Os extratos testados demonstraram-se eficazes no controle dos moluscos analisados em baixas concentrações, diluídos em etanol, acetato de etila e hexano e também inibiram a ovoposição dos moluscos (ALMEIDA, 2010).

Considerando que a descoberta de novas substâncias com atividade moluscicidas é importante, novas espécies vegetais devem ser testadas afim de se obter compostos naturais capazes de impedirem a disseminação da fasciolose.

2.2 Plantas com Potencial Ação Moluscicida

O número de pesquisas com plantas medicinais é crescente no mundo todo. Na medicina veterinária essas pesquisas tem por finalidade a redução de problemas sanitários com o controle de várias doenças que comprometem a produtividade dos animais (ARAÚJO et al., 2009).

As plantas do cerrado brasileiro investigadas nesse estudo como possíveis agentes moluscicidas são descritas abaixo.

2.2.1 *Neea theifera* Oerst.

Neea theifera Oerst. (figura 1) é uma árvore pequena, dióica, possui casca suberosa, fendida, ramos rugosos, pardacentos. Apresenta folhas simples, opostas, subopostas ou alternas, sésseis ou cuto-pecioladas, obongas, elípticas ou obovais, com base obtusa ou cordada, ápice arredondado. Essa espécie ocorre em fisionomias campestres de cerrado e em cerrado típico, no leste e norte do estado de São Paulo (DURIGAN et al., 2004). Amplamente utilizada na medicina popular brasileira para tratamento de úlceras gástricas e inflamação (RINALDO et al., 2007).

Popularmente conhecida como “Capa-rosa-do-campo” possui como sinônimas *Pisonia caparrosa* Netto e *Neea pectinata* Rizzi (FURLAN, 1996). Apresenta ampla distribuição geográfica e sua ocorrência é predominantemente em regiões de cerrado. Em pesquisa realizada por Furlan, Udulutsch e Dias (2008), coletaram na Serra do Cipó em áreas de cerrado e áreas rochosas de campo rupestre, espécies de *N. theifera* a qual apresentava flores masculinas globosas com estames inclusos, coletada com flores nos meses de março, maio e agosto a novembro e com frutos em fevereiro e dezembro. Sua reprodução é aparentemente afetada por limitação de polinizadores (AMORIM et al., 2011).

Apresenta atividade antidesintérica e contra entero-colite evidenciada em estudos etno-farmacológicos (CORREA, 1984). Na medicina popular, a folha da espécie é utilizada no tratamento de diarreia (ELVIN-LEWIS; LEWIS, 1983). Outras propriedades medicinais relatadas por Duque e Vasquez (1994), apresentam outras espécies do gênero *Neea* com propriedades antiinflamatórias, antiulcerogênico e anticárie.

Segundo Rinaldo et al. (2007), estudos fitoquímicos com extrato metanólico de folhas de *Neea theifera* conseguiram isolar um novo composto chamado de luteolina-7-O-[2"-O-(5" '-O-feruloil)- β -D-apiofuranosyl]- β -D-glucopiranosídeo, além de isolar os outros oito compostos já conhecidos: vitexina, isovitexina, isorientin, orientina, vicenina-2, crisoeriol, apigenina e luteolina, identificados por comparação do seu espectroscópica.

A presença de flavonóides na família *Nyctaginaceae* já foi observado, porém só flavonóis foram relacionadas, tais como kaempferol e quercetina. Assim, *Neea theifera* é a única espécie de *Nyctaginaceae* que produz flavonas (RINALDO et al., 2007).

Em pesquisa realizada por Melani, Lopes e Varanda (2012), a análise total de taninos nessa espécie apresentou valores que foram todos inferiores ao valor mínimo (1g/L), obtido a partir de uma curva de concentração sugerida para este método, indicando a possível ausência ou níveis insignificantes desses compostos. O ácido tânico é um tanino hidrolisável, que é quebrado por enzimas. São utilizados para estabilização da cerveja, curtimento de pele e produção de resinas, sendo empregados também em processos biotecnológicos para produção de enzimas como a tanase, que hidrolisa ésteres e ligações laterais de taninos hidrolisáveis produzindo ácido gálico e glicose (BATTESTIN; MATSUDA; MACEDO, 2004).



Figura 1- *Neea theifera* Oerst.

FONTE: http://www.rededesementesdocerrado.com.br/Especies/Nyctaginaceae/Neea/theifera_4552/

2.2.2 *Davilla elliptica*

Davilla elliptica (figura 2) é da família *Dilleniaceae*, sendo planta conhecida como cipó-caboclo. É também conhecida como “lixinha” (MICHELIN et al., 2005), “lixieirinha”, “lixeira”, “bugre” e “muricizinho” (SOARES et al., 2005; JÁCOME et al., 2010). É planta arbustiva, de caule ereto, que ocorre naturalmente no cerrado (JÁCOME et al., 2010).

Segundo Rodrigues e Carvalho (2001), é comumente usada na medicina popular brasileira como tônico, adstringente e laxante. Além da ação no tratamento de edemas, em especial dos linfonodos e dos testículos (BISO et al., 2010). Seus extratos podem modular a ativação dos macrófagos e esse efeito imunestimulatório pode ser benéfico no aumento da imunidade em doenças infecciosas (CARLOS et al., 2005).

A presença de compostos, como taninos, ácido gálico, algumas catequinas e flavonóides nos extratos metanólicos de folhas e das cascas da *D. elliptica* pode ser responsável pela atividade antimicrobiana dessa espécie (MICHELIN et al., 2005). Em estudo, foi demonstrado que a atividade antimicrobacteriana do extrato de clorofórmio de *Davilla elliptica* contra *Mycobacterium tuberculosis* é promissora com concentração inibitória mínima de $62,5 \text{ ug.ml}^{-1}$, mostrando que esta planta pode ter potencial terapêutico no controle imunológico e microbiológica da tuberculose (LOPES et al., 2007).

Estudos mostram que essa planta pode aliviar a dor em processos inflamatórios (CAMPOS et al., 2013).



Figura 2- *Davilla elliptica*
FONTE: timblindim.wordpress.com

2.2.3 *Davilla nitida*

Davilla nitida (figura 3), também chamada de "sambaibinha" ou "cipó-de-fogo", normalmente não é usada na medicina popular, porém estudos têm mostrado que a sua composição química é equivalente à encontrada em *Davilla elliptica*, na qual foram identificados derivados de ácidos fenólicos, flavonóides e taninos (KUSHIMA et al., 2009).

Pertence também a família *Dilleniaceae*, sendo plantas que ocorrem predominantemente na região do cerrado da América do Sul. Relatórios etnofarmacológicos indicam seu uso popular para problemas gástricos (BISO et al., 2010). Segundo kushima et al. (2009), este efeito gastro-protetor pode ser relacionado com a interação entre os polifenóis e o fortalecimento da barreira mucosa.



Figura 3 - *Davilla nitida*

FONTE: http://dixpix.ca/meso_america/Flora/mixed/029_davilla_natida.html

2.2.4 *Miconia cabucu* Hoehne

O gênero *Miconia* se destaca por apresentar elevado número de espécies e ocorrem em áreas com alta luminosidade e em diferentes fisionomias florestais (HIGUCHI et al., 2011). Esse gênero possui cerca de 1000 espécies que ocorrem na América Tropical, e pertence à família Melastomataceae (RENNER, 1993).

Miconia cabucu Hoehne (figura 4) ocorre também desde São Paulo até Santa Catarina, com flores entre agosto e novembro (GOLDENBERG, 2004). Também é conhecida popularmente como “pixiricuçú”, “cabuçí”, “pixirica”, “pixiricão”, “quina-brava”.

Segundo estudo conduzido por Rodrigues et al. (2007), a análise fitoquímica de *Miconia cabucu* revelou a presença de flavonóides glicosídeos

(quercetina, miricetina e kaempferol todos em diferentes formas glicosídeos), tanino (ácido gálico) e flavonóide incomum (5-hidroxi-40, 7-dimetoxi-flavona-(6-C-600)-500-hidroxi-3'' ', 4'' ', 700-trimethoxyflavone).

Compostos isolados do gênero *Miconia* demonstraram atividades antibióticas, antitumorais, analgésicas e antimaláricas. Em estudo realizado por Serpeloni et al. (2011) confirmou-se o uso seguro dos extratos metanólicos de *Miconia* nas concentrações testadas, e reforçada as propriedades terapêuticas anteriormente descritas para suas espécies. Este estudo avaliou a citotoxicidade, mutagenicidade e os efeitos protetores dos extratos sobre pulmão de hamster chinês. Em outro estudo realizado por Rodrigues et al. (2008), os extratos das folhas de *M. Cabucu* também apresentaram atividade antimicrobiana contra os organismos testados.



Figura 4- *Miconia cabucu* Hoehne

Fonte: sites.google.com/site/florasbs/melastomataceae/pixiricucu

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABILIO, F. J. P.; WATANABE, T. Ocorrência de *Lymnaea columella* (Grastrópoda: *Lymnaeidae*), hospedeiro intermediário da *Fasciola hepatica*, para o estado da Paraíba, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v. 32, n. 2, 1998.
- ALCANFOR, J.D. X. et al. Plantas Moluscicidas no Controle dos Caramujos Transmissores da Esquistossomíase, com Ênfase na Ação de Taninos. **Revista de Patologia Tropical**. Goiânia, v.30, n. 2, p. 167-175, 2001.
- ALMEIDA, B. R. Macologia dos Gêneros *Lymnaea* e *Biomphalaria* na Mesorregião Sul Espírito- Santense, e a avaliação de extratos de *Melia azedarach*, *Azadirachta indica*, e *Cymbopogon winterianus* como agentes moluscicidas. 2010. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado)- Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2010.
- AMORIM, F. W. et al. Sexual ratio and oral biology of the dioecious *Neea theifera* Oerst. (Nyctaginaceae) in a cerrado rupestre of central Brazil. **Acta Botanica Brasilica**. v. 25, n.4, p.785-792, 2011.
- ARAÚJO, S.M. et al. Alterações histológicas em *Lymnaea columella* provocadas pelo látex de *Euphorbia splendens* var. *hislopii*. **Brasilian Journal Veterinary Research and Animal Science**. v. 39, n. 3, p. 157-159, 2002.
- ARAÚJO, S.A.C. et al. Usos Potenciais de *Melia azedarach* L. (meliaceae): Um levantamento. **Arquivos de Biologia e Tecnologia**. São Paulo, v. 76, n. 1, p. 141-148, 2009.
- BATTESTIN, V.; MATSUDA, L. K.; MACEDO, G. A. Fontes e Aplicação de Taninos e Tanases em Alimentos. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, v.15, n.1, p.63-72, 2004.
- BELLATO, V. et al. Ocorrência de *Fasciola Hepatica* na População de capivaras (*Hydrochoerus hydrochaeris*) e em Bovinos (*Bos taurus*) no Município de Timbó, SC. **Revista de Ciências Agroveterinárias**. Lages, v. 8, n. 1, p. 66-70, 2009.
- BERNARDO, C.C. et al. Prevalence of liver condemnation due to bovine fasciolosis in Southern Espírito Santo: temporal distribution and economic losses. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. Jaboticabal, v. 20, n. 1, p. 49-53, jan./mar. 2011.
- BERNARDO, C.C. et al. Comparação de kits ELISA comerciais para anticorpos no soro e leite com um teste coproparasitológico em bovinos naturalmente infectados por *Fasciola hepática*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.1, p. 37-40, jan. 2013.
- BISO, F.I. et al. Assessment of DNA damage induced by extracts, fractions and isolated compounds of *Davilla nitida* and *Davilla elliptica* (Dilleniaceae). **Mutat Research**. v. 702, n. 1, p. 92-99, sep. 2010.

CAMPOS, J.J. et al. Bioguided isolation of myricetin-3-O- β -galactopyranoside with antinociceptive activity from the aerial part of *Davilla elliptica* St.-Hil. **Journal of Ethnopharmacology**. v.150, p. 270-274, 2013.

CANTANHEDE, S. P. D. et al. Atividade Moluscicida de Plantas: uma Alternativa Profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Curitiba, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010.

CARVALHO, O. S. et al. The Use of the Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism Technique Associated with the Classical Morphology for characterization of *Lymnaea columella*, *L. viatrix*, and *L. diaphana* (Mollusca: Lymnaeidae). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 99, n.5, p. 503-507, ago. 2004.

CARLOS, I.Z. et al. Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) na resposta imune. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, n.1, p. 44-50, jan./mar. 2005.

CORAL, R. P.; MASTALIR, E. T.; MASTALIR, F. P. Retirada de *Fasciola hepatica* da via biliar principal por coledocoscopia. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**. v. 34, n.1, p. 69-71, jan./ fev. 2007.

CORDERO DEL CAMPILLO, M.; ROJO- VÁSQUEZ, F.A. Parasitología Veterinaria. Madrid: McGraw-Hill, 1999.

CORREA, M. P. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro: **Ministério da Agricultura**; IBDF, v. 6, 1984.

COSTA, A. M. C. B. Fasciolose Bovina: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos no Alentejo. 2010. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado)- Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2010.

CUNHA, F. O. V.; MARQUES, S. M. T.; MATTOS, M. J. T. Prevalence of slaughter and liver condemnation due to *Fasciola hepatica* among sheep in the state of Rio Grande do Sul, Brazil 2000 and 2005. **Parasitologia Latinoamericana**. v. 62, p. 188 - 191, 2007.

DUKE, J.; VÁSQUEZ, R. Amazonian ethnobotanical dictionary. **Boca Raton**: CRC Press, p. 224, 1994.

DURIGAN, G. et al. Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada. **Páginas & Letras**. São Paulo, p. 475, 2004.

ELVIN-LEWIS, M.; LEWIS, W. H. The dental use of plants in Amazonia. **Odontostomatol Tropical**, v. 6, n. 4, p. 178-187, 1983.

FURLAN, A. A Tribo Pisonieae Meisner (Nyctaginaceae) no Brasil. 1996. 359 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Botânica) – **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

FURLAN, A.; UDULUTSCH, R. G.; DIAS, P. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Nyctaginaceae. **Boletim Botânico da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 26, n.1, p. 51-59, 2008.

GOLDENBERG, R. O gênero *Miconia* (Melastomataceae) no Estado do Paraná, Brasil. **Acta botânica brasílica**. v.18, n. 4, p. 927-947, 2004.

GOMES, F. F. et al. Estabelecimento de focos de Fasciolose hepática em propriedade do município de Campos dos Coytacazes no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**. v.11,n. 2, p. 53-56, 2002.

JÁCOME, R.L.R.P. et al. Estudo farmacognóstico comparativo das folhas de *Davilla elliptica* A. St.-Hil. e *D. rugosa* Poir., Dilleniaceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.20, n.3, p. 390-396, jun./jul. 2010.

HIGUCHI, P. et al. Associações Espaciais entre indivíduos de Diferentes Espécies de *Miconia* spp. Ruiz & Pav. (Melastomaceae). **Revista Árvore**. Viçosa, v.35, n.3, p.381-389, 2011.

KUSHIMA, H. et al. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: Gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action. **Journal of Ethnopharmacology**. v. 123, p.430- 438, 2009.

LOPES, F. C. M. et al. Immunological and microbiological activity of *Davilla elliptica* St.Hill. (Dilleniaceae) against *Mycobacterium tuberculosis*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 102, n.6, p. 769-772, Sep. 2007.

LOPES, T. C. et al. Avaliação Moluscicida e Perfil Fitoquímico das Folhas de *Caryocar Brasiliense Camb*. **Caderno de Pesquisa**. São Luís, v. 18, n. 3, 2011.

MATTOS, M.J.T. et al. Ocorrência estacional de *Lymnaea collumela* Say, 1817 (Mollusca, Lymnaeidae) em habitat natural no Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 19, n. 6, p. 248-250, 1997.

MATTOS, M.J.T. et al. Comparação de Duas Técnicas Parasitológicas na Identificação de ovos de *Fasciola hepatica*. **Revista da FZVA**. Uruguaiana, v. 16, p. 105-112, 2009.

MAURE, E. A. P. et al. Dinâmica de *Lymnaea columella* (Say, 1817), hospedeirointermediário de *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) em municípios do Estado de São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 35, n. 4, p. 151-155, 1998.

MELONI, F.; LOPES, N. P.; VARANDA, E. M. The relationship between leaf nitrogen, nitrogen metabolites and herbivory in two species of Nyctaginaceae from the Brazilian Cerrado. **Environmental and Experimental Botany**. v. 75, p. 268-276, 2012.

MENDES, E. A. Comportamento e desenvolvimento de *Fasciola hepatica* (Linnaeus 1758) de bovinos naturalmente infectados em sagui (*Callithrix penicillata*) e gerbil

(*Meriones unguiculatus*). 2006. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado)-Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

MENDES, E. A.; LIMA, W. S.; MELO, A. L. Development of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea columella* infected with miracidia derived from cattle and marmoset infections. **Journal Helminthology**. v. 82, p. 81-84, 2008.

MICHELIN, D. C. et al. Antimicrobial activity of *Davilla elliptica* St. Hill (Dilleniaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, n.3, p. 209-211, jul./set. 2005.

MOLLOY, J.B. et al. Evaluation of a commercially available enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* in cattle, sheep and buffaloes in Australia. **Veterinary Parasitology**. v. 130, p. 207-212, 2005.

MURO, A. Infecciones por trematodos. **Medicine**.v. 10, n. 55, p. 3717-3728, 2010.

OLIVEIRA, S. M. et al. Ocorrência de *Lymnaea columella* Say, 1817 infectada naturalmente por *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758), no Vale do ribeira, São Paulo, Brasil. **Instituto Biológico**. São Paulo, v. 69, n.1, p.29-37, jan./mar., 2002.

OLIVEIRA, N. V. B. *Fasciola hepática* um problema que ainda preocupa a inspeção sanitária. 2007. Trabalho de conclusão de curso (Especialização Latu Sensu em Higiene e inspeção dos produtos de origem animal.) – Instituto Quallitas, Rio de Janeiro, 2007.

OLIVEIRA, S. M.; SPÓSITO FILHA, E. Divulgação Técnica Fasciolose Hepática. **Biológico**. São Paulo, v. 71, n.1, p. 5-7, 2009.

PARAENSE, W.L. *Lymnaea viatrix* and *Lymnaea columella* in the Neotropical region: a distributional outline. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 77, n. 2, p. 181-188, 1982.

PARAENSE, W. L. *Lymnaea columella* in northern Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 78, n. 4, p. 477-482, out./dez. 1983.

PILE, E. et al. Ocorrência de fasciolose bovina em Itaguaí, Rio de Janeiro, Brasil. **Parasitología al Dia**. Santiago, v.23, n.3-4, jul. 1999.

PILE, E. et al. *Fasciola hepatica* em búfalos (*Bubalus Bubalis*) no município de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 38, n. 1, 2001.

PREPELITCHI, L. et al. First Report of *Lymnaea columella* Say, 1817 (Pulmonata: Lymnaeidae) Naturally Infected with *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1758) (Trematoda: Digenea) in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 98, p. 889-891, 2003.

- RAPADO, L. N.; KATO, M. J.; KAWANO, T. Efeito Moluscicida de Extratos de Piperaceae sobre o Vetor da Esquistossomose *Biomphalaria glabrata*. **Boletim Epidemiológico Paulista**. São Paulo, v. 6, n. 63, 2009.
- RENNER, S.S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**. v.13, p. 519-40, 1993.
- RINALDO, D. et al. New Flavone from the Leaves of *Neea theifera* (Nyctaginaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. v.18, n.6, p. 1132-1135, 2007.
- RODRIGUES, V.E.G, CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande, MG. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 25, n.1, p. 102-123, jan./fev. 2001.
- RODRIGUES, J. et al. An unusual C6–C600 linked flavonoid of *Miconia cabucu* (Melastomataceae). **Phytochemistry** v.68, p.1781-4, 2007.
- RODRIGUES, J. et al. Antimicrobial Activity of *Miconia* species (Melastomataceae). **Journal of Medicinal Food**. v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.
- RUIZ, A. L. T. G. et al. Avaliação da Atividade Tóxica em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata* de quatro espécies do gênero *Eleocharis* (Cyperaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V. 15, n. 2, p. 98-102, 2005.
- SERPELONI, J. M. et al. Cytotoxic and mutagenic evaluation of extracts from plant species of the *Miconia* genus and their influence on doxorubicin-induced mutagenicity: An in vitro analysis. **Experimental and Toxicologic Pathology**. v. 63, p.499-504, 2011.
- SERRA-FREIRE, N.M. Fasciolose Hepática. **A Hora Veterinária**, n.1, p.13-18, 1995.
- SILVA, E. R. V. et al. Fasciola Hepática. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**. Garça, n. 11, 2008.
- SILVA FILHO, C. R. M. et al. Avaliação da Bioatividade dos Extratos de Curcuma (*Curcuma longa* L.; Zingiberaceae) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, v. 19, n. 4, 2009.
- SILVA, N. F. S. et al. Bioensaio de Atividade Moluscicida Adaptado para a Avaliação de Extratos de Plantas Medicinais. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**. Umuarama, v. 11, n. 2, p. 179-181, 2008.
- SOARES, M.L. et al. Caracterização farmacognóstica de folhas de *Davilla elliptica* St.-Hil. (Dilleniaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**.v.15, n.4, p. 352-360, out./dez. 2005.
- SOUZA, C.P. et al. Aspects of the Maintenance of the Life Cycle of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea columella* in Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 97, p. 407-410, 2002.

TOSTES, R. A. et al. Casos autóctones de *Fasciola hepatica* na região de Presidente Prudente, São Paulo, Brasil. **Ciência Rural**. Santa Maria, v. 34, n. 3, p. 961-962, mai./jun. 2004.

UETA, M. T. Alguns Aspectos da Biologia de *Lymnaea columella* Say, 1817 (Gastropoda, pulmonata). **Revista de Saúde Pública**. São Paulo, v. 10, p. 355-366, 1976.

Cap. 1- Plantas do Cerrado Brasileiro como Possíveis Agentes Moluscidas

RESUMO

A fasciolose é uma enfermidade com elevada importância na área da medicina veterinária devido as grandes perdas econômicas que causa. Dentre os vários métodos utilizados objetivando reduzir o número de casos da doença, o controle das populações de moluscos do gênero *Lymnaea* pode ser medida promissora. Além disso, a busca por moluscidas de origem vegetal vem aumentando, pois trata-se de um produto mais barato, seguro, biodegradável e de fácil acesso localmente para controle das populações de caramujos. Assim, este estudo teve por finalidade analisar a eficiência de extratos hidroalcoólicos das plantas *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, todas originárias do cerrado brasileiro, como possíveis agentes moluscidas para a espécie *Lymnaea columella*. Os extratos de *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne não apresentaram atividade moluscida. Já os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentaram atividade moluscida contra a espécie *L. columella*, sendo que *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, desencadeando efeitos tanto moluscidas como e ovicidas, nos testes realizados o que a possibilita para a utilização em ensaios de campo, contra moluscos da espécie *L. columella*, hospedeiros intermediários para o parasito *Fasciola hepatica*.

Palavras- chaves: Extratos; Fasciolose; Moluscos

ABSTRACT

The fascioliasis is a disease with high importance in the field of veterinary medicine because of the huge economic losses it causes. Among the various methods aimed at reducing the number of cases of the disease, control of populations of snails of the genus *Lymnaea* may be promising measure. Moreover, the search for molluscicides of plant origin is increasing because it is a cheap, safe, biodegradable and easy access to locally control the populations of snails product. Thus, this study aimed to analyze the efficiency of hydroalcoholic extracts from plants *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* and *Miconia Cabucu* Hoehne, all originating from the Brazilian cerrado as possible molluscicidal agents for species *Lymnaea columella*. Extracts *Neea theifera* Oerst. and *Miconia Cabucu* Hoehne not shown molluscicidal activity. Have hydroalcoholic extracts of *D. elliptica* and *D. nitida* show molluscicidal activity against the species *L. columella*, and *D. elliptica* showed more promising results, triggering effects both how and ovicidal molluscicides in the tests that allows for use in field trials against species of molluscs *L. columella*, intermediate hosts for the parasite *Fasciola hepatica*.

Key-words: Extracts; Fascioliasis; Moluscs

4. INTRODUÇÃO

A fasciolose é uma doença causada pelo trematóide *Fasciola hepatica* (COSTA, 2010), e possui como hospedeiro intermediário o molusco da espécie *Lymnaea columella* (ABILIO; WATANABE, 1998). Trata-se de parasitose que acomete fígado e vias biliares de muitas espécies de animais domésticos e selvagens (QUEIROZ et al., 2002).

O controle da transmissão de doenças parasitárias, como a fasciolose, pode ser realizado com a redução da população de moluscos vetores através do uso de agentes moluscidas (PILE et al., 2002). Essas substâncias são uma estratégia promissora, uma vez que o foco para o combate da fasciolose não está apenas na eliminação do parasito, bem como no controle do vetor, que pode ser realizado com o auxílio de substâncias dotadas de propriedades moluscidas, interrompendo-se o ciclo evolutivo do parasito e conseqüentemente, o aparecimento de novos casos (CANTANHEDE et al., 2010).

De acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde), o moluscida sintético niclosamida (N-(2'-cloro-4'nitrofenil) - 5 clorosalicilanilida) é a única substância recomendada para combater caramujos vetores de doenças (PINHEIRO et al., 2003). Entretanto, o uso de moluscida sintético tem gerado preocupação em relação a fatores como toxicidade para outras espécies, devido à sua baixa seletividade; contaminação do meio ambiente (CANTANHEDE et al., 2010; LEYTON et al., 2005) e resistência de caramujos *B. glabrata* (GASPAROTTO et al., 2005). Assim, a descoberta de moluscidas vegetais vem se tornando necessária para a aplicação em áreas endêmicas, para auxílio no controle de parasitoses que possuem moluscos como hospedeiros intermediários (WHO, 1983). A busca por moluscidas de origem vegetal vem sendo motivada pelo menor custo efetivo, segurança, seu potencial de biodegradação e menor risco na aplicação (SILVA FILHO et al., 2009).

As pesquisas com plantas com potencial efeito moluscida geralmente inicia-se pelo encontro da planta de maneira fortuita, sendo realizados testes para determinar a letalidade, além de ensaios para determinar atividade ovicida (JURBERG; VASCONCELLOS; MENDES, 1989).

Várias plantas e seus princípios ativos já foram estudados quanto ao potencial moluscida. Segundo Leyton et al. (2005), foram obtidos extratos aquosos e

alcoólicos a partir de pó de folhas secas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) e em ensaios laboratoriais, os extratos aquosos, alcoólicos e o GEb (glicoalcalóide esteroide bruto) possuíam atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Hammami e Ayadi (2008) em estudo avaliando atividade moluscicida e antiparasitária da folha, fruto e extratos de frutos verdes da planta *Solanum nigrum villosum*, observou efeito significativo da possibilidade do uso do extrato de frutos verdes no controle de *Galba truncatula* e de *F. hepatica* em estágios larvares.

A utilização do látex da “coroa-de-Cristo” (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*) no controle da fasciolose hepática também mostrou resultados significativos, indicando a possibilidade do uso desse látex como subsídio em programas de controle estratégico, uma vez que essa planta pode ser promissora como moluscicida (PILE et al., 2001).

Considerando que a descoberta de novas drogas moluscicidas de origem vegetal pode ser de grande importância para auxiliar no controle da fasciolose, espécies vegetais do cerrado brasileiro, a saber, *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, foram testados para avaliar a possibilidade de atividade moluscicida, contra moluscos da espécie *L. columella*.

Neea theifera Oerst. (Nyctaginaceae), trata-se de planta amplamente utilizada na medicina popular brasileira para tratamento de úlceras gástricas e inflamação (RINALDO et al., 2007). Conhecida popularmente como “capa-rosa-do-campo” (FURLAN, 1996), apresenta ampla distribuição geográfica predominantemente em regiões de cerrado. *Davilla elliptica* conhecida popularmente como “lixinha”, pertence a família Dilleniaceae, sendo comumente usada na medicina popular brasileira como purgante e estimulante (MICHELIN et al., 2005). *Davilla nitida* conhecida popularmente de “sambaibinha” ou “cipó-de-fogo”, possui composição química semelhante à encontrada em *D. elliptica* (KUSHIMA et al., 2009). Esta planta pertence a família *Dilleniaceae*, e ocorre predominantemente na região do cerrado da América do Sul. Relatórios etno-farmacológicos indicam seu uso popular para problemas gástricos (BISO et al., 2010). *Miconia cabucu* Hoehne conhecida popularmente como “pixiricuçu”, “cabuçí”, “pixirica”, “pixiricão”, “quina-brava”, apresentou atividade antimicrobiana contra os organismos testados em estudo (RODRIGUES et al., 2008).

Motivados por essas informações e por entendermos que o controle da fasciolose é de suma importância para as atividades agropastoris em regiões onde o

parasito esta presente, objetivou-se com este estudo a utilização de extratos hidroalcoólicos dessas plantas, para avaliar se os mesmos possuem atividade moluscicida contra moluscos da espécie *L. columella*.

5. METODOLOGIA

5.1 Plantas

Foram utilizadas as folhas das plantas *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, provenientes do cerrado brasileiro, previamente identificadas e catalogadas (depositadas no herbário da UNESP-Araraquara-SP) em estudos realizados pelo Programa de Pesquisas em Caracterização, Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade do Estado de São Paulo, denominado BIOTA-FAPESP.

5.2 Confeção dos Extratos Hidroalcoólicos

5.2.1 Secagem

As partes das espécies vegetais foram previamente divididas, separadas e dispostas em camadas finas e foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante a 45°C durante 7 dias ou o tempo necessário para uma secagem completa e homogênea.

5.2.2 Moagem

As metodologias utilizadas para reduzir o tamanho do material vegetal foram escolhidas conforme as características deste. Em geral, o material passou por uma divisão grosseira seguida por uma pulverização obtida em moinho de facas. O pó obtido foi armazenado em frascos de vidro âmbar devidamente rotulados.

5.2.3 Extração

Os pós das plantas obtidos na moagem foram extraídos com etanol 70%, por meio de maceração. Resumidamente, uma quantidade do pó foi imersa em uma mistura extratora de etanol/água (7:3, v.v⁻¹) na proporção 1:10 (material vegetal/mistura extratora) durante 120 horas. A mistura extratora foi substituída a cada 24 horas. Após a extração, os líquidos extratores foram evaporados em evaporadores rotativos sob pressão reduzida, em temperatura menor que 50 °C. Os extratos foram transferidos para vidros tarados e deixados em capela até completa eliminação do solvente. Quando necessário, os extratos foram liofilizados para completa remoção da água. Os extratos permaneceram armazenados em freezers, constituindo um banco de extratos no CCA-UFES.

5.3 Animais

Foram utilizados nos testes de atividade moluscicida, os caramujos da espécie *L. columella*, que são provenientes de recrias dos moluscos coletados no município de Alegre, região Sul do Estado do Espírito Santo, e mantidos no Laboratório de Malacologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA/UFES.

5.4 Testes Moluscicidas

O procedimento descrito abaixo foi realizado em triplicata em três experimentos independentes. Para os testes, oito moluscos com aproximadamente o mesmo tamanho (8 mm), foram acondicionados individualmente em recipiente de plástico, contendo 2,0 mL de água potável decolorada, acrescido do extrato hidroalcoólico, dissolvido em dimetilsulfóxido 10% (DMSO), nas concentrações finais de 20, 25, 50 e 100 µg/mL. Em seguida, foram monitoradas a motilidade e a viabilidade dos moluscos, no período de duas, seis, doze e vinte e quatro horas, conforme recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2003). Para cada experimento foi feito controle negativo, constando de 8 moluscos imersos

em solução contendo DMSO 10%. A DL100 foi caracterizada como a menor concentração que cause mortalidade em 100% dos moluscos e a DL 50, a menor concentração que cause mortalidade em 50% dos moluscos.

5.5 Testes para Avaliar Atividade Ovicida

O procedimento descrito abaixo foi realizado em duplicata em dois experimentos independentes. Para os testes, seis moluscos com aproximadamente o mesmo tamanho (8 mm) foram acondicionados individualmente em recipiente plástico, contendo 2,0 mL de água potável dechlorada, acrescido do extrato hidroalcoólico, dissolvido em dimetilsulfóxido 10% (DMSO), na maior concentração que não apresentou nenhum efeito moluscicidas, conforme teste anterior. Os moluscos foram mantidos nestas soluções por um período de 24 horas, sendo em seguida transferidos para recipientes de vidro (aquários com capacidade para um litro), contendo aproximadamente 500mL de água dechlorada, para monitoramento da ovoposição, conforme recomendações da WHO (2003) e descrito abaixo.

Os moluscos foram mantidos a temperatura ambiente, sob aeração de 12 horas por dia, sendo alimentados com frações diárias de alface desidratada. Foram adicionados aos aquários substratos de isopor, para estimular a ocorrência de ovoposição. Os animais permaneceram no aquário sob tais condições pelo período de 15 dias. No 7º e 15º dia foi realizada a contagem de ovos presentes nos substratos de isopor. O mesmo procedimento foi realizado em grupo controle (6 moluscos incubados em DMSO 10% por 24 horas).

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios com os quatros extratos hidroalcoólicos das plantas *D. nitida*, *D. elliptica*, *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne testados estão descritos abaixo (tabela 1).

Tabela 1- Porcentagem de mortalidade, Dose letal 50 (DL50) e Dose letal 100 (DL100), dos extratos hidroalcoólicos de *D. nitida*, *D.elliptica*, *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne, sobre moluscos da espécie *Lymnaea columella*.

Extratos	Concentração (ppm)*	Tempo (h)	DL50	DL100	Porcentagem de mortalidade**
<i>D. nitida</i>	100	2			0
	100	6			0
	100	12			0
	100	24		+	100
	50	2			0
	50	6			0
	50	12			0
	50	24			33
	25	2			0
	25	6			0
	25	12			0
	25	24			0
<i>D.elliptica</i>	100	2			0
	100	6		+	100
	100	12			-
	100	24			-
	50	2			0
	50	6			0
	50	12			33
	50	24	+		66
	25	2			0
	25	6			0
	25	12			0
	25	24			0
Controle Negativo	DMSO 10%	2; 6; 12 e 24			0

<i>Neea theifera</i> Oerst.	Não foi observado mortalidade em nenhuma concentração testada
<i>Miconia cabucu</i> Hoehne	Não foi observado mortalidade em nenhuma concentração testada

* - extrato diluído em 10% de DMSO;

** - porcentagem de mortalidade para 24 moluscos da espécie *Lymnaea columella* em cada concentração testada, em três experimentos independentes com 8 moluscos cada;

CN - controle negativo : 24 moluscos *L. columella* incubados em Dimetilsulfóxido 10% - DMSO.

Foi observado que os extratos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentaram atividade moluscicida dentro de 24 horas (tabela1). Já os extratos de *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne não apresentaram atividade moluscicida, uma vez que segundo recomendações da OMS (2003), o composto/extrato deve apresentar atividade moluscicida em 24 horas. O extrato hidroalcoólico de *D. nitida* apresentou a dose letal 100 (DL100) na concentração de 100ppm ($\mu\text{g/ml}$) em 24 horas, na concentração de 50ppm ocorreu morte de 33% dos moluscos, enquanto que na concentração de 25 ppm não foi verificado morte de moluscos. Com relação ao extrato hidroalcoólico de *D. elliptica*, o mesmo demonstrou DL100 na concentração de 100ppm em 6 horas. A concentração de 50ppm possibilitou a morte de 33% dos moluscos em um período de exposição de 12 horas, no entanto, a dose letal de 50% (DL50), foi obtida em um período de exposição de 24 horas, no qual ocorreu 66% de morte dos moluscos. A concentração de 25ppm não acarretou morte de nenhum molusco.

Conforme dados apresentados vemos que dois extratos hidroalcoólicos apresentaram-se ativos contra *L. columella*. Os moluscos incubados com solução de 10% de DMSO (controle negativo) não apresentaram alteração na viabilidade ou motilidade, permanecendo com comportamento similar ao de moluscos incubados em potável água dechlorada. Portanto, a propriedade moluscicida dos extratos de *D. nitida* e *D. elliptica* observada no presente estudo pode ser atribuída a componentes presentes nos extratos e não ao DMSO, utilizado como diluente.

A OMS considera que para testes moluscicidas, os extratos podem ser classificados como inativo, se levar de 0 a 30% de mortalidade, parcialmente ativo se levar de 40 a 60% de mortalidade e ativo se levar de 70 a 100% de mortalidade

aos caramujos, em um período de 24 horas. Porém, em 1983 a OMS fez nova publicação relatando que a planta moluscicida será considerada ativa quando obtiver 90% de mortalidade nas concentrações de 20ppm para princípio ativo isolado e 100ppm para extrato bruto. Ela também especifica metodologias para testes com moluscicidas diversos e recomenda a procura de plantas e produtos vegetais dotados de propriedades que possam ser utilizados sem afetar o equilíbrio do meio ambiente (WHO, 2003)

Estudos relativos à avaliação de substância moluscicida de origem vegetal, que obtiveram resultados positivos com uso de extratos, sugerem que a atividade tóxica das plantas se deve à presença de metabólitos secundários como taninos, saponinas, terpenoides, esteroides e flavonóides, dentre outros (CHIFUNDERA; BALUKU; MASHIMNGO, 1993; REY, 2001; HYMETE et al., 2005; CANTANHEDE et al., 2010). A ação destes compostos no molusco provocam intoxicação e consequente desequilíbrio osmótico levando à mortalidade por retração da massa cefalopodal, podendo ter ou não liberação de hemolinfa, ou por projeção anormal do molusco para o exterior de sua concha (MCCULLOUGH et al., 1980).

Investigações fitoquímicas realizadas com *D. elliptica* atribuem sua atividade farmacológica a presença de flavonóides derivados da quercetina e miricetina entre outros compostos (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; MATHEUCCI, 1996; GUARALDO et al., 2000; CARLOS et al., 2005). Soares et al. (2005) realizaram a caracterização farmacognóstica de folhas de *D. elliptica* e descreveram a presença de taninos, cumarinas, resinas, flavonóides, saponinas, esteróides e triterpenóides. Assim, sugere-se que a atividade moluscicida apresentada por esta planta seja devido à presença dos metabólitos secundários como flavonoides. Estudos indicam que a composição química de *D. nitida* é semelhante a encontrada em *D. elliptica* (KUSHIMA et al., 2009). Porém nesse estudo os efeitos não foram iguais, sugerindo que o efeito conjunto de vários produtos no extrato de *D. elliptica* possa ter favorecido seu melhor efeito.

Outra forma de avaliar a eficácia de agente moluscicida é verificar a sua capacidade de impedir ou matar as desovas de moluscos (TANG et al., 1995). Dessa forma, foi avaliado a ovoposição em presença dos diferentes extratos. Na maior concentração que não apresentou nenhum efeito moluscicida. Conforme apresentado (tabela 2), apenas o extrato hidroalcoólico de *D. elliptica* mostrou poder inibitório de 60% ao final de 15 dias, quando comparado ao controle negativo.

Tabela 2- Teste de inibição de ovoposição

Extrato	Concentração (ppm)*	Porcentagem de inibição de ovoposição (dias)**		
		0	7	15
<i>D. nitida</i>	25	-	0	0
<i>D. elliptica</i>	25	-	0	60
<i>Neea theifera</i>	100	-	0	0
<i>Miconia cabucu</i>	100	-	0	0
Controle Negativo		-	0	0

* - extrato diluído em 10% de DMSO;

** - porcentagem de inibição de ovoposição para 12 moluscos da espécie *Lymnaea columella* em cada concentração testada, em dois experimentos independentes com 6 moluscos cada;

CN - controle negativo: 12 moluscos *L. columella* incubados em Dimetilsulfóxido 10% - DMSO, em dois experimentos independentes com 6 moluscos cada.

A baixa suscetibilidade das desovas aos extratos moluscicidas pode ser devida, aos pesos moleculares dessas substâncias, impedindo sua penetração através da membrana gelatinosa das desovas (LEMMA; YAU, 1974).

Assim, pode-se concluir que os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentaram atividade moluscicida contra a espécie *L. columella*, sendo que *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, desencadeando efeitos tanto moluscicidas como e ovicidas, nos testes realizados o que a credencia, para a utilização em ensaios de campo, contra moluscos da espécie *L. columella*, hospedeiros intermediários para o parasito *Fasciola hepatica*.

7. CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* foram eficazes como agentes moluscidas nos testes *in vitro* ao serem empregados no controle de moluscos da espécie *L. columella*, sendo que os extratos de *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, pois também inibiu parte da ovoposição dos moluscos. O estudo torna-se relevante, uma vez que a diversidade vegetal demonstra-se promissora na área biomédica, principalmente no controle de doenças parasitárias.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABILIO, F. J. P.; WATANABE, T. Ocorrência de *Lymnaea columella* (Gastropoda: *Lymnaeidae*), hospedeiro intermediário da *Fasciola hepatica*, para o estado da Paraíba, Brasil. **Revista de Saúde Pública**. v. 32, n. 2, 1998.
- BISO, F.I. et al. Assessment of DNA damage induced by extracts, fractions and isolated compounds of *Davilla nitida* and *Davilla elliptica* (Dilleniaceae). **Mutation Research**. V. 702, n. 1, p. 92-99, sep. 2010.
- CANTANHEDE, S. P. D. et al. Atividade Moluscicida de Plantas: uma Alternativa Profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. Curitiba, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010.
- CARLOS, I.Z. et al. Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) na resposta imune. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. V.15, n.1, p. 44-50, jan./mar. 2005.
- CHIFUNDERA, K.; BALUKU, B.; MASHIMANGO, B. Phytochemical screening and molluscicidal potency of some zairean medicinal plants. **Pharmacological Research**.v. 28, p. 333-340, 1993.
- COSTA, A. M. C. B. Fasciolose Bovina: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos no Alentejo. 2010. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado)- Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2010.
- FURLAN, A. A Tribo Pisonieae Meisner (Nyctaginaceae) no Brasil. 1996. 359 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Botânica) – **Instituto de Biociências**, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- GASPAROTTO J.R. et al. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *calophyllum brasiliense* camb (clusiaceae). **Química Nova**, v. 28, n.4, p. 575-578, 2005.
- GUARALDO, L. et al. Hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret: effects on spontaneous motor activity and elevated plus-maze behavior. **Journal of Ethnopharmacology**. v.72, p. 61-67, 2000.
- HAMMAMI, H.; AYADI, A. Molluscicidal and antiparasitic activity of *Solanum nigrum* villosum against *Galba truncatula* infected or uninfected with *Fasciola hepatica*. **Journal of Helminthology**. V. 82, P. 235–239, 2008.
- HYMETE, A. et al. Screening of *Echinops ellenbeckii* and *Echinops longisetus* for biological activities and chemical constituents. **Phytomedicine**. V.12, p. 675-679, 2005.

JUNBERG, P.; VASCONCELLOS, M. C.; MENDES, N. M. Plantas Empregadas como Moluscicidas: uma Visão Crítica. **Mémórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, v. 84, p. 76, out. 1989.

KUSHIMA, H. et al. Davilla elliptica and Davilla nitida: Gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-Helicobacter pylori action. **Journal of Ethnopharmacology**. V. 123, p.430- 438, 2009.

LEMMA, A.; YAU, P. Studies on the molluscicidal properties of endod (*Phytolacca dodecandra*), III. **Ethiopian Medical Journal** v.12. p.109-114,1974.

LEYTON, V. et al. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). **Iheringia Série Zoologia**. Porto Alegre, v. 95, n.2, p.213-216, jun. 2005.

MCCULLOUGH, F. S. et al. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**. v. 58, p. 681-689, 1980.

MATHEUCCI, L.G. Estudo farmacognóstico e farmacológico de *Davilla rugosa* Poiret. São Paulo, 75p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 1996.

MICHELIN, D. C. et al. Antimicrobial activity of Davilla elliptica St. Hill (Dilleniaceae). **Revista Brasileira de Farmacognosia**. v.15, n.3, p. 209-211, jul./set. 2005.

PILE, E. et al. Fasciiose bovina: controle com látex da “coroa-de-Cristo” (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science** . São Paulo, v. 38, n. 6, p. 288-289, 2001.

PILE, E. A. M. et al. Aspectos histopatológicos de *Biomphalaria glabrata* Say, 1817, hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni*, submetida a Niclosamida. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v. 39, n. 4, p. 218-219, 2002.

PINHEIRO, L. et al. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). **Química Nova**.v. 26, n. 2, p. 157-160, 2003.

QUEIROZ, V. S. et al. Fasciola hepática (Trematoda, Fasciolidae): estudo epidemiológico nos municípios de Bocaiúva do Sul e Tunas do Paraná (Brasil). **Acta Biológica Paranaense**. Curitiba, v. 31, p. 99-111, 2002.

RINALDO, D. et al. New Flavone from the Leaves of *Neea theifera* (Nyctaginaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**. V.18, n.6, p. 1132-1135, 2007.

REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. **Editora Guanabara Koogan AS**. Rio de Janeiro, 2001.

RODRIGUES, J. et al. Antimicrobial Activity of *Miconia* species (*Melastomataceae*). **Journal of Medicinal Food**. v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.

RODRIGUES, V.E.G, CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande, MG. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 25, n.1, p. 102-123, jan./fev. 2001.

SILVA FILHO, C. R. M. et al. Avaliação da Bioatividade dos Extratos de Curcuma (*Curcuma longa* L.; *Zingiberaceae*) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. João Pessoa, v. 19, n. 4, 2009.

SOARES, M.L. et al. Caracterização farmacognóstica de folhas de *Davilla elliptica* St.-Hil. (*Dilleniaceae*). **Revista Brasileira de Farmacognosia**.v.15, n.4, p. 352-360, out./dez. 2005.

TANG, S. H. et al. Activity of the molluscicidal plant *Milletia Thonnigii* (Leguminose) toward *Biomphalaria glabrata* eggs. **Journal Parasitology**. V. 81, p. 833-835, 1995.

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

WHO- Wold Health Organization. First reports of joint WHO expert committees on prevation an control of shostosomiasis. **Technical Repor Series**, 2003.

APÊNDICE

APÊNDICE A- Plantas do Cerrado Brasileiro como Possíveis Agentes Moluscidas

Revista: Arquivos do Instituto Biológico

Plantas do Cerrado Brasileiro como Possíveis Agentes Moluscidas

T. S. G. Gardioli¹, O.S. Pereira Júnior², M. D. C. Ignacchiti³, K. B. Crico⁴, L. V. Gonçalves⁵,
D. S. Toneto⁶

Universidade federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias. Departamento de pós-graduação em Ciências Veterinárias. Espírito Santo, Brasil.

E-mail: talitascaramussa@yahoo.com.br

RESUMO

A fasciolose é uma enfermidade com elevada importância na área da medicina veterinária devido as grandes perdas econômicas que causa. Dentre os vários métodos utilizados objetivando reduzir o número de casos da doença, o controle das populações de moluscos do gênero *Lymnaea* pode ser medida promissora. Além disso, a busca por moluscidas de origem vegetal vem aumentando, pois trata-se de um produto mais barato, seguro, biodegradável e de fácil acesso localmente para controle das populações de caramujos. Assim, este estudo teve por finalidade analisar a eficiência de extratos hidroalcoólicos das plantas *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, todas originárias do cerrado brasileiro, como possíveis agentes moluscidas para a espécie

² Universidade federal de Juiz de Fora

³ Universidade federal do Espírito Santo/departamento de farmácia e nutrição

⁴ Universidade federal do Espírito Santo/departamento de farmácia e nutrição

⁵ Universidade federal do Espírito Santo/departamento de farmácia e nutrição

⁶ Universidade federal do Espírito Santo/departamento de farmácia e nutrição

Lymnaea columella. Os extratos de *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne não apresentaram atividade moluscicida. Já os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentaram atividade moluscicida contra a espécie *L. columella*, sendo que *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, desencadeando efeitos tanto moluscicidas como e ovicidas, nos testes realizados o que a possibilita para a utilização em ensaios de campo, contra moluscos da espécie *L. columella*, hospedeiros intermediários para o parasito *Fasciola hepatica*.

Palavras- chaves: Extratos; Fasciolose; Moluscos

The Brazilian Cerrado plants as possible Molluscicides Agents

ABSTRACT

The fascioliasis is a disease with high importance in the field of veterinary medicine because of the huge economic losses it causes. Among the various methods aimed at reducing the number of cases of the disease, control of populations of snails of the genus *Lymnaea* may be promising measure. Moreover, the search for molluscicides of plant origin is increasing because it is a cheap, safe, biodegradable and easy access to locally control the populations of snails product. Thus, this study aimed to analyze the efficiency of hydroalcoholic extracts from plants *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* and *Miconia Cabucu* Hoehne, all originating from the Brazilian cerrado as possible molluscicidal agents for species *Lymnaea columella*. Extracts *Neea theifera* Oerst. and *Miconia Cabucu* Hoehne not shown molluscicidal activity. Have hydroalcoholic extracts of *D. elliptica* and *D. nitida* show molluscicidal activity against the species *L. columella*, and *D. elliptica* showed more promising results, triggering effects both how and ovicidal molluscicides in the tests that allows for use in field trials against species of molluscs *L. columella*, intermediate hosts for the parasite *Fasciola hepatica*.

Key-words: Extracts; Fascioliasis; Moluscs

INTRODUÇÃO

A fasciolose é uma doença causada pelo trematóide *Fasciola hepatica* (COSTA, 2010), e possui como hospedeiro intermediário o molusco da espécie *Lymnaea columella* (ABILIO; WATANABE, 1998). Trata-se de parasitose que acomete fígado e vias biliares de muitas espécies de animais domésticos e selvagens (QUEIROZ et al., 2002).

O controle da transmissão de doenças parasitárias, como a fasciolose, pode ser realizado com a redução da população de moluscos vetores através do uso de agentes moluscidas (PILE et al., 2002). Essas substâncias são uma estratégia promissora, uma vez que o foco para o combate da fasciolose não está apenas na eliminação do parasito, bem como no controle do vetor, que pode ser realizado com o auxílio de substâncias dotadas de propriedades moluscidas, interrompendo-se o ciclo evolutivo do parasito e conseqüentemente, o aparecimento de novos casos (CANTANHEDE et al., 2010).

De acordo com a OMS (Organização Mundial de Saúde), o moluscida sintético niclosamida (N-(2'-cloro-4'nitrofenil) - 5 clorosalicilanilida) é a única substância recomendada para combater caramujos vetores de doenças (PINHEIRO et al., 2003). Entretanto, o uso de moluscida sintético tem gerado preocupação em relação a fatores como toxicidade para outras espécies, devido à sua baixa seletividade; contaminação do meio ambiente (CANTANHEDE et al., 2010; LEYTON et al., 2005), e resistência de caramujos *B. glabrata* (GASPAROTTO et al., 2005). Assim, a descoberta de moluscidas vegetais vem se tornando necessária para a aplicação em áreas endêmicas, para auxílio no controle de parasitoses que possuem moluscos como hospedeiros intermediários (WHO, 1983). A busca por moluscidas de origem vegetal vem sendo motivada pelo menor custo efetivo, segurança, seu potencial de biodegradação e menor risco na aplicação (SILVA FILHO et al., 2009).

As pesquisas com plantas com potencial efeito moluscicida geralmente inicia-se pelo encontro da planta de maneira fortuita, sendo realizados testes para determinar a letalidade, além de ensaios para determinar atividade ovicida (JURBERG et al., 1989).

Várias plantas e seus princípios ativos já foram estudados quanto ao potencial moluscicida. Segundo LEYTON et al. (2005), foram obtidos extratos aquosos e alcoólicos a partir de pó de folhas secas de tomateiro (*Lycopersicon esculentum*) e em ensaios laboratoriais, os extratos aquosos, alcoólicos e o GEB (glicoalcalóide esteroideal bruto) possuíam atividade moluscicida em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). HAMMAMI; AYADI (2008) em estudo avaliando atividade moluscicida e antiparasitária da folha, fruto e extratos de frutos verdes da planta *Solanum nigrum villosum*, observou efeito significativo da possibilidade do uso do extrato de frutos verdes no controle de *Galba truncatula* e de *F. hepatica* em estágios larvares.

A utilização do látex da “coroa-de-Cristo” (*Euphorbia splendens* var. *hislopii*) no controle da fasciolose hepática também mostrou resultados significativos, indicando a possibilidade do uso desse látex como subsídio em programas de controle estratégico, uma vez que essa planta pode ser promissora como moluscicida (PILE et al., 2001).

Considerando que a descoberta de novas drogas moluscicidas de origem vegetal pode ser de grande importância para auxiliar no controle da fasciolose, espécies vegetais do cerrado brasileiro, a saber, *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, foram testados para avaliar a possibilidade de atividade moluscicida, contra moluscos da espécie *L. columella*.

Neea theifera Oerst. (Nyctaginaceae), trata-se de planta amplamente utilizada na medicina popular brasileira para tratamento de úlceras gástricas e inflamação (RINALDO et al., 2007). Conhecida popularmente como “capa-rosa-do-campo” (FURLAN, 1996), apresenta ampla distribuição geográfica predominantemente em regiões de cerrado. *Davilla elliptica*

conhecida popularmente como “lixinha”, pertence a família Dilleniaceae, sendo comumente usada na medicina popular brasileira como purgante e estimulante (MICHELIN et al., 2005). *Davilla nitida* conhecida popularmente de “sambaibinha” ou “cipó-de-fogo”, possui composição química semelhante à encontrada em *D. elliptica* (KUSHIMA et al., 2009). Esta planta pertence a família *Dilleniaceae*, e ocorre predominantemente na região do cerrado da América do Sul. Relatórios etno- farmacológicos indicam seu uso popular para problemas gástricos (BISO et al., 2010). *Miconia cabucu* Hoehne conhecida popularmente como “pixiricuçu”, “cabuçi”, “pixirica”, “pixiricão”, “quina-brava”, apresentou atividade antimicrobiana contra os organismos testados em estudo (RODRIGUES et al., 2008).

Motivados por essas informações e por entendermos que o controle da fasciolose é de suma importância para as atividades agropastoris em regiões onde o parasito esta presente, objetivou-se com este estudo a utilização de extratos hidroalcoólicos dessas plantas, para avaliar se os mesmos possuem atividade moluscicida contra moluscos da espécie *L. columella*.

MATERIAIS E METÓDOS

Foram utilizadas as folhas das plantas *Neea theifera* Oerst., *Davilla elliptica*, *Davilla nitida* e *Miconia cabucu* Hoehne, provenientes do cerrado brasileiro, previamente identificadas e catalogadas (depositadas no herbário da UNESP-Araraquara-SP) em estudos realizados pelo Programa de Pesquisas em Caracterização, Conservação e Uso Sustentável da Biodiversidade do Estado de São Paulo, denominado BIOTA-FAPESP.

As partes das espécies vegetais foram previamente divididas, separadas e dispostas em camadas finas e foram submetidas à secagem em estufa de ar circulante a 45°C durante 7 dias ou o tempo necessário para uma secagem completa e homogênea.

As metodologias utilizadas para reduzir o tamanho do material vegetal foram escolhidas conforme as características deste. Em geral, o material passou por uma divisão

grosseira seguida por uma pulverização obtida em moinho de facas. O pó obtido foi armazenado em frascos de vidro âmbar devidamente rotulados.

Os pós das plantas obtidos na moagem foram extraídos com etanol 70%, por meio de maceração. Resumidamente, uma quantidade do pó foi imersa em uma mistura extratora de etanol/água (7:3, v.v⁻¹) na proporção 1:10 (material vegetal/mistura extratora) durante 120 horas. A mistura extratora foi substituída a cada 24 horas. Após a extração, os líquidos extratores foram evaporados em evaporadores rotativos sob pressão reduzida, em temperatura menor que 50 °C. Os extratos foram transferidos para vidros tarados e deixados em capela até completa eliminação do solvente. Quando necessário, os extratos foram liofilizados para completa remoção da água. Os extratos permaneceram armazenados em freezers, constituindo um banco de extratos no CCA-UFES.

Foram utilizados nos testes os caramujos da espécie *L. columella*, que são provenientes de recrias dos moluscos coletados no município de Alegre, região Sul do Estado do Espírito Santo, e mantidos no Laboratório de Malacologia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo – CCA/UFES.

Para os testes de avaliação da atividade moluscicida dos extratos, oito moluscos com aproximadamente o mesmo tamanho (8 mm), foram acondicionados individualmente em recipiente de plástico, contendo 2,0 mL de água potável decolorada, acrescido do extrato hidroalcoólico, dissolvido em dimetilsulfóxido 10% (DMSO), nas concentrações finais de 20, 25, 50 e 100 µg/mL. Em seguida, foram monitoradas a motilidade e a viabilidade dos moluscos, no período de duas, seis, doze e vinte e quatro horas, conforme recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) (WHO, 2003). Para cada experimento foi feito controle negativo, constando de 8 moluscos imersos em solução contendo DMSO 10%. O procedimento descrito foi realizado em triplicata em três experimentos independentes. A

DL100 foi caracterizada como a menor concentração que cause mortalidade em 100% dos moluscos e a DL 50, a menor concentração que cause mortalidade em 50% dos moluscos.

Para os testes de avaliação de ovoposição, seis moluscos com aproximadamente o mesmo tamanho (8 mm) foram acondicionados individualmente em recipiente plástico, contendo 2,0 mL de água potável declorada, acrescido do extrato hidroalcoólico, dissolvido em dimetilsulfóxido 10% (DMSO), na maior concentração que não apresentou nenhum efeito moluscicidas, conforme teste anterior. Os moluscos foram mantidos nestas soluções por um período de 24 horas, sendo em seguida transferidos para recipientes de vidro (aquários com capacidade para um litro), contendo aproximadamente 500mL de água declorada, para monitoramento da ovoposição, conforme recomendações da WHO (2003) e descrito abaixo.

Os moluscos foram mantidos a temperatura ambiente, sob aeração de 12 horas por dia, sendo alimentados com frações diárias de alface desidratada. Foram adicionados aos aquários substratos de isopor, para estimular a ocorrência de ovoposição. Os animais permaneceram no aquário sob tais condições pelo período de 15 dias. No 7º e 15º dia foi realizada a contagem de ovos presentes nos substratos de isopor. O mesmo procedimento foi realizado em grupo controle (6 moluscos incubados em DMSO 10% por 24 horas). O procedimento descrito foi realizado em duplicata em dois experimentos independentes

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios com os quatro extratos hidroalcoólicos das plantas *D. nitida*, *D. elliptica*, *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne testados estão descritos abaixo (tabela 1).

Foi observado que os extratos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentaram atividade moluscicida dentro de 24 horas (tabela1). Já os extratos de *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne não apresentaram atividade moluscicida, uma vez que segundo

recomendações da OMS (2003), o composto/extrato deve apresentar atividade moluscicida em 24 horas. O extrato hidroalcoólico de *D. nitida* apresentou a dose letal 100 (DL100) na concentração de 100ppm ($\mu\text{g/ml}$) em 24 horas, na concentração de 50ppm ocorreu morte de 33% dos moluscos, enquanto que na concentração de 25 ppm não foi verificado morte de moluscos. Com relação ao extrato hidroalcoólico de *D. elliptica*, o mesmo demonstrou DL100 na concentração de 100ppm em 6 horas. A concentração de 50ppm possibilitou a morte de 33% dos moluscos em um período de exposição de 12 horas, no entanto, a dose letal de 50% (DL50), foi obtida em um período de exposição de 24 horas, no qual ocorreu 66% de morte dos moluscos. A concentração de 25ppm não acarretou morte de nenhum molusco.

Conforme dados apresentados vemos que dois extratos hidroalcoólicos apresentaram-se ativos contra *L. columella*. Os moluscos incubados com solução de 10% de DMSO (controle negativo) não apresentaram alteração na viabilidade ou motilidade, permanecendo com comportamento similar ao de moluscos incubados em potável água declorada. Portanto, a propriedade moluscicida dos extratos de *D. nitida* e *D. elliptica* observada no presente estudo pode ser atribuída a componentes presentes nos extratos e não ao DMSO, utilizado como diluente.

A OMS considera que para testes moluscicidas, os extratos podem ser classificados como inativo, se levar de 0 a 30% de mortalidade, parcialmente ativo se levar de 40 a 60% de mortalidade e ativo se levar de 70 a 100% de mortalidade aos caramujos, em um período de 24 horas. Porém, em 1983 a OMS fez nova publicação relatando que a planta moluscicida será considerada ativa quando obtiver 90% de mortalidade nas concentrações de 20ppm para princípio ativo isolado e 100ppm para extrato bruto. Ela também especifica metodologias para testes com moluscicidas diversos e recomenda a procura de plantas e produtos vegetais dotados de propriedades que possam ser utilizados sem afetar o equilíbrio do meio ambiente (WHO, 2003)

Estudos relativos à avaliação de substância moluscicida de origem vegetal, que obtiveram resultados positivos com uso de extratos, sugerem que a atividade tóxica das plantas se deve à presença de metabólitos secundários como taninos, saponinas, terpenoides, esteroides e flavonóides, dentre outros (CHIFUNDERA et al., 1993; REY, 2001; HYMETE et al., 2005; CANTANHEDE et al., 2010). A ação destes compostos no molusco provocam intoxicação e consequente desequilíbrio osmótico levando à mortalidade por retração da massa cefalopodal, podendo ter ou não liberação de hemolinfa, ou por projeção anormal do molusco para o exterior de sua concha (MCCULLOUGH et al., 1980).

Investigações fitoquímicas realizadas com *D. elliptica* atribuem sua atividade farmacológica a presença de flavonóides derivados da quercetina e miricetina entre outros compostos (RODRIGUES; CARVALHO, 2001; MATHEUCCI, 1996; GUARALDO et al., 2000; CARLOS et al., 2005). SOARES et al. (2005) realizaram a caracterização farmacognótica de folhas de *D. elliptica* e descreveram a presença de taninos, cumarinas, resinas, flavonóides, saponinas, esteróides e triterpenóides. Assim, sugere-se que a atividade moluscicida apresentada por esta planta seja devido à presença dos metabólitos secundários como flavonoides. Estudos indicam que a composição química de *D. nitida* é semelhante a encontrada em *D. elliptica* (KUSHIMA et al., 2009). Porém nesse estudo os efeitos não foram iguais, sugerindo que o efeito conjunto de vários produtos no extrato de *D. elliptica* possa ter favorecido seu melhor efeito.

Outra forma de avaliar a eficácia de agente moluscicida é verificar a sua capacidade de impedir ou matar as desovas de moluscos (TANG et al., 1995). Dessa forma, foi avaliado a ovoposição em presença dos diferentes extratos. Na maior concentração que não apresentou nenhum efeito moluscicida. Conforme apresentado (tabela 2), apenas o extrato hidroalcoólico de *D. elliptica* mostrou poder inibitório de 60% ao final de 15 dias, quando comparado ao controle negativo.

A baixa suscetibilidade das desovas aos extratos moluscicidas pode ser devida, aos pesos moleculares dessas substâncias, impedindo sua penetração através da membrana gelatinosa das desovas (LEMMA; YAU, 1974).

Assim, pode-se concluir que os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* apresentaram atividade moluscicida contra a espécie *L. columella*, sendo que *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, desencadeando efeitos tanto moluscicidas como e ovicidas, nos testes realizados o que a credencia, para a utilização em ensaios de campo, contra moluscos da espécie *L. columella*, hospedeiros intermediários para o parasito *Fasciola hepatica*.

CONCLUSÕES

Os resultados demonstraram que os extratos hidroalcoólicos de *D. nitida* e *D. elliptica* foram eficazes como agentes moluscicidas nos testes *in vitro* ao serem empregados no controle de moluscos da espécie *L. columella*, sendo que os extratos de *D. elliptica* apresentou resultados mais promissores, pois também inibiu parte da ovoposição dos moluscos. O estudo torna-se relevante, uma vez que a diversidade vegetal demonstra-se promissora na área biomédica, principalmente no controle de doenças parasitárias.

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Espírito Santo e a todos os colaboradores dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABILIO, F. J. P.; WATANABE, T. Ocorrência de *Lymnaea columella* (Gastropoda: *Lymnaeidae*), hospedeiro intermediário da *Fasciola hepatica*, para o estado da Paraíba, Brasil. *Revista de Saúde Pública*, v. 32, n. 2, 1998.

BISO, F.I.; RODRIGUES, C.M.; RINALDO, D.; REIS, M.B.; BERNARDI, C.C.; DE MATTOS, J.C.; CALDEIRA-DE-ARAÚJO, A.; VILEGAS, W.; CÓLUS, I.M.; VARANDA E.A. Assessment of DNA damage induced by extracts, fractions and isolated compounds of *Davilla nitida* and *Davilla elliptica* (Dilleniaceae). *Mutation Research*, v. 702, n. 1, p. 92-99, sep. 2010.

CANTANHEDE, S. P. D.; MARQUES, A.M.; SILVA, N.S.; VALVERDE, A.L. Atividade Moluscicida de Plantas: uma Alternativa Profilática. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, Curitiba, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010.

CARLOS, I.Z.; LOPES, F.C.M.; BENZATTI, F.P.; CARLI, C.B.A.; MARQUES, M.F.; JORDÃO JUNIOR, C.M.; RINALDO, D.; CALVO, T.R.; SANTOS, L.C.; VILEGAS, W. Ação do extrato metanólico e etanólico de *Davilla elliptica* St. Hill. (Malpighiaceae) na resposta imune. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.1, p. 44-50, jan./mar. 2005.

CHIFUNDERA, K.; BALUKU, B.; MASHIMANGO, B. Phytochemical screening and molluscicidal potency of some zairean medicinal plants. *Pharmacological Research*, v. 28, p. 333-340, 1993.

COSTA, A. M. C. B. *Fasciiose Bovina: Aspectos Clínicos e Epidemiológicos no Alentejo*. 2010. Trabalho de conclusão de curso (Mestrado)- Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2010.

FURLAN, A. *A Tribo Pisonieae Meisner (Nyctaginaceae) no Brasil*. 1996. 359 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de Botânica) – Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GASPAROTTO J.R.; BRENZAN, M.A.; PILOTO, I.C.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P.; RODRIGUES FILHO, E.; FERREIRA, A.G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida do *calophyllum brasiliense* camb (clusiaceae). *Química Nova*, v. 28, n.4, p. 575-578, 2005.

GUARALDO, L.; CHAGAS, D.A.; KONNO, A.C.; KORN, G.P.; PFIFFER, T.; NASELLO A.G. Hydroalcoholic extract and fractions of *Davilla rugosa* Poiret: effects on spontaneous motor activity and elevated plus-maze behavior. *Journal of Ethnopharmacology*, v.72, p. 61-67, 2000.

HAMMAMI, H.; AYADI, A. Molluscicidal and antiparasitic activity of *Solanum nigrum* villosum against *Galba truncatula* infected or uninfected with *Fasciola hepatica*. *Journal of Helminthology*, v. 82, p. 235–239, 2008.

HYMETE, A.; IVERSEN, T.H.; ROHLOFF, J.; ERKO, B. Screening of *Echinops ellenbeckii* and *Echinops longisetus* for biological activities and chemical constituents. *Phytomedicine*, v.12, p. 675-679, 2005.

JUNBERG, P.; VASCONCELLOS, M. C.; MENDES, N. M. Plantas Empregadas como Moluscicidas: uma Visão Crítica. *Mémórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 84, p. 76, out. 1989.

- KUSHIMA, H.; NISHIJIMA, C.M.; RODRIGUES, C.M.; RINALDO, D.; SASSÁ, M.F.; BAUAB, T.M.; STASI, L.C.; CARLOS, I.Z.; BRITO, A.R.; VILEGAS, W.; HIRUMALIMA, C.A. *Davilla elliptica* and *Davilla nitida*: Gastroprotective, anti-inflammatory immunomodulatory and anti-*Helicobacter pylori* action. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 123, p.430- 438, 2009.
- LEMMA, A.; YAU, P. Studies on the molluscicidal properties of endod (*Phytolacca dodecandra*), III. *Ethiopian Medical Journal*, v.12. p.109-114,1974.
- LEYTON, V.; HENDERSON, T.O.; MASCARA, D.; KAWAN, T.. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). *Iheringia Série Zoologia*, Porto Alegre, v. 95, n.2, p.213-216, jun. 2005.
- MCCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, P.H.; DUNCAN, J.; CHRISTIE, J.D.L. Molluscicides in schistosomiasis control. *Bulletin of the World Health Organization*, v. 58, p. 681-689, 1980.
- MATHEUCCI, L.G. *Estudo farmacognóstico e farmacológico de Davilla rugosa Poiret*. São Paulo, 75p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. 1996.
- MICHELIN, D. C.; IHA, S.M.; RINALDO, D.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L.C.; VILEGAS, W.; SALGADO, H.R.N. Antimicrobial activity of *Davilla elliptica* St. Hill (Dilleniaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.3, p. 209-211, jul./set. 2005.
- PILE, E.; SANTOS, J.A.A.; SÃO LUIZ, J.B.; VASCONCELLOS, M.C. Fasciiose bovina: controle com látex da “coroa-de-Cristo”(*Euphorbia splendens* var. *hislopii*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science* , São Paulo, v. 38, n. 6, p. 288-289, 2001.
- PILE, E. A. M.; PASTOR, N.; SANTOS, J.A.; BARROS, J.S.L. Aspectos histopatológicos de *Biomphalaria glabrata* Say, 1817, hospedeiro intermediário de *Schistosoma mansoni*, submetida a Niclosamida. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 218-219, 2002.
- PINHEIRO, L.; CORTEZ, D.A.G; VIDOTTI, G.J.; YOUNG, M.C.M; FERREIRA, A.G. Estudo fitoquímico e avaliação da atividade moluscicida da *Kielmeyera variabilis* Mart (Clusiaceae). *Química Nova*, v. 26, n. 2, p. 157-160, 2003.
- QUEIROZ, V. S.; LUZ, E.; LEITE, L.C.; SIRIO, S.M. Fasciola hepática (Trematoda, Fasciolidae): estudo epidemiológico nos municípios de Bocaiúva do Sul e Tunas do Paraná (Brasil). *Acta Biológica Paranaense*, Curitiba, v. 31, p. 99-111, 2002.
- RINALDO, D.; RODRIGUES, C.M.; RODRIGUES, J.; SANNOMIYA, M.; SANTOS, L.C.; VILEGAS, W. New Flavone from the Leaves of *Neea theifera* (Nyctaginaceae). *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.18, n.6, p. 1132-1135, 2007.
- REY, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nas Américas e na África. Editora Guanabara Koogan AS, Rio de Janeiro, 2001.

RODRIGUES, J.; MICHELIN, D.C.; RINALDO, D.; ZOCOLO, G.J.; DOS SANTOS, L.C.; VILEGAS, W.; SALGADO, H.R. Antimicrobial Activity of *Miconia* species (*Melastomataceae*). *Journal of Medicinal Food*, v. 11, n. 1, p. 120-126, 2008.

RODRIGUES, V.E.G, CARVALHO, D.A. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio do cerrado na região do Alto Rio Grande, MG. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v. 25, n.1, p. 102-123, jan./fev. 2001.

SILVA FILHO, C. R. M.; SOUZA, A.G.; CONCEIÇÃO, M.M.; SILVA, T.G.; SILVA, T.M.S.; RIBEIRO, A.P.L. Avaliação da Bioatividade dos Extratos de Curcuma (*Curcuma longa* L.; *Zingiberaceae*) em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, João Pessoa, v. 19, n. 4, 2009.

SOARES, M.L.; REZENDE, M.H.; FERREIRA, H.D.; FIGUEIREDO, A.D.L.; BUSTAMANTE, K.G.L.; BARA, M.T.F.; PAULA, J.R. Caracterização farmacognóstica de folhas de *Davilla elliptica* St.-Hil. (*Dilleniaceae*). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.4, p. 352-360, out./dez. 2005.

TANG, S. H.; WHITFIELD, P.J.; PERRETT, S. Activity of the molluscicidal plant *Milletia Thonnigii* (Leguminose) toward *Biomphalaria glabrata* eggs. *Journal Parasitology*, v. 81, p. 833-835, 1995.

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

WHO- Wold Health Organization. First reports of joint WHO expert committees on prevation an control of shostosomiasis. *Technical Repor Series*, 2003.

TABELAS

Tabela 1- Porcentagem de mortalidade, Dose letal 50 (DL50) e Dose letal 100 (DL100), dos extratos hidroalcoólicos de *D. nitida*, *D.elliptica*, *Neea theifera* Oerst. e *Miconia cabucu* Hoehne, sobre moluscos da espécie *Lymnaea columella*.

Extratos	Concentração (ppm)*	Tempo (h)	DL50	DL100	Porcentagem de mortalidade**
<i>D. nitida</i>	100	2			0
	100	6			0
	100	12			0
	100	24		+	100
	50	2			0
	50	6			0
	50	12			0
	50	24			33
	25	2			0

	25	6		0
	25	12		0
	25	24		0
<i>D.elliptica</i>	100	2		0
	100	6	+	100
	100	12		-
	100	24		-
	50	2		0
	50	6		0
	50	12		33
	50	24	+	66
	25	2		0
	25	6		0
	25	12		0
	25	24		0
Controle Negativo	DMSO 10%	2; 6; 12 e 24		0
<i>Neea theifera</i> Oerst.	Não foi observado mortalidade em nenhuma concentração testada			
<i>Miconia cabucu</i> Hoehne	Não foi observado mortalidade em nenhuma concentração testada			

* - extrato diluído em 10% de DMSO;

** - porcentagem de mortalidade para 24 moluscos da espécie *Lymnaea columella* em cada concentração testada, em três experimentos independentes com 8 moluscos cada;

CN - controle negativo : 24 moluscos *L. columella* incubados em Dimetilsulfóxido 10% - DMSO.

Tabela 2- Teste de inibição de ovoposição

Extrato	Concentração (ppm)*	Porcentagem de inibição de ovoposição (dias)**		
		0	7	15
<i>D. nitida</i>	25	-	0	0
<i>D.elliptica</i>	25	-	0	60
<i>Neea theifera</i>	100	-	0	0

<i>Miconia cabucu</i>	100	-	0	0
Controle Negativo		-	0	0

* - extrato diluído em 10% de DMSO;

** - porcentagem de inibição de ovoposição para 12 moluscos da espécie *Lymnaea columella* em cada concentração testada, em dois experimentos independentes com 6 moluscos cada;

CN - controle negativo: 12 moluscos *L. columella* incubados em Dimetilsulfóxido 10% - DMSO, em dois experimentos independentes com 6 moluscos cada.