

ATIVIDADE MOLUSCICIDA DO EXTRATO BUTÍLICO DE *PHYTOLACCA DODECANDRA* (ENDOD) SOBRE *BIOMPHALARIA GLABRATA*

CECÍLIA PEREIRA DE SOUZA, NELIMAR MARTINELLI MENDES, NEUSA ARAÚJO & NAFTALE KATZ

Centro de Pesquisas René Rachou-FIOCRUZ, Caixa Postal 1743, 30190 Belo Horizonte, MG, Brasil

Molluscicide activity of a buthanol extract of *Phytolacca dodecandra* (Endod) on *Biomphalaria glabrata* – A buthanol extract of *Phytolacca dodecandra* (type 44) obtained from Ethiopia berries, was tested as molluscicide in our laboratory and in the field. The lethal dose (LD_{90}) for adult snails, newly hatched and egg-masses of *Biomphalaria glabrata*, in 24 hours exposure, were of 4.5, 23.0 and 102.0 ppm respectively. The LD_{90} for the fish *Lebistes reticulatus* was of 2.0 ppm. These results are similar to those of Lemma (1984) in Ethiopia. In two water ponds treated with 10 ppm of the buthanol extract or 3 ppm of niclosamide the mortality rates of *B. glabrata* were of 84.6 and 100.0%, respectively. Both treatments were toxic for *L. reticulatus* in the field trials.

The possibility of using molluscicides derived from plants is discussed as an alternative for treatment of schistosomiasis foci in Brazil.

Key words: *Phytolacca dodecandra* – plant molluscicide – *Biomphalaria glabrata* – schistosomiasis control

Os moluscicidas de origem vegetal supostamente causam menos dano ao meio ambiente do que os sintéticos (Lemma, 1973). Além disso, como são extraídos de plantas nativas em regiões tropicais ou temperadas, onde ocorrem os moluscos transmissores da esquistossomose, o custo do tratamento dos focos seria mais baixo.

Em vários estudos sobre uma planta da Etiópia, África, Lemma (1970, 1973) constatou que um grupo de saponinas altamente potentes aparecia no fruto da *Phytolacca dodecandra* (popularmente chamada Endod). As substâncias responsáveis pela ação moluscicida do Endod são "Lemmatoxin" e "oleanoglycotoxin" (Marston & Hostettmann, 1985). Duas publicações recentes sumarizam os resultados encontrados no laboratório e no campo, com extratos desta planta, que parece ser atualmente a mais promissora para o controle de moluscos (Lemma, et al. 1979; *Phytolacca dodecandra*, (Endod), 1984).

A niclosamida (Bayluscide^R), sintetizada pela Bayer, é um moluscicida bastante conhecido e utilizado mundialmente para tratamento de focos dos moluscos transmissores da esquistossomose mansoni (Evans, 1983). Eventualmente é usada para controle da suscetibilidade de moluscos.

No presente trabalho foram feitos bioensaios em laboratório, utilizando o extrato butílico de *P. dodecandra* sobre caramujos adultos, recém-eclodidos e desovas de *Biomphalaria glabrata* e

no campo foram tratados dois criadouros usando paralelamente o extrato butílico e a niclosamida.

MATERIAL E MÉTODOS

Bioensaios em laboratório – Caramujos *Biomphalaria glabrata* criados em nossos laboratórios, descendentes de exemplares originários da Pampulha, Belo Horizonte, Minas Gerais, foram usados nos ensaios feitos em duplicata ou triplicata. Para cada experiência foram utilizados 10 exemplares com 10-17 mm de diâmetro, 20 recém-eclodidos, com 1-3 dias de idade, e 4 desovas, com 0-1 dia de idade, por concentração. As desovas foram recortadas de folhas de polietileno incolor, colocadas previamente nos aquários (Oliver, 1960).

O extrato butílico de *P. dodecandra* (tipo 44, procedente da Etiópia em 1983) foi obtido segundo técnica de Lemma. Os frutos foram dessecados na estufa a 60°C, por 24 horas, triturados em gral e tratados com éter na proporção de 1:10. Essa mistura foi deixada em temperatura ambiente para secar. Processou-se a extração utilizando álcool n-butílico.

A solução estoque foi preparada a 100 ppm, adicionando-se 50 mg do extrato butílico a 500 ml de água desclorada, agitando-se a mistura até dissolver toda a substância sólida. Alíquotas da solução estoque foram adicionadas à água desclorada para obtenção de concentrações de 1 a 60 ppm. Um controle da suscetibilidade dos caramujos foi feito paralelamente, usando o pentaclorofenol, em concentrações de 0,1 a 1,0 ppm. Outro grupo controle foi mantido em água. O tempo de exposição dos moluscos aos

Trabalho parcialmente financiado pela FINEP.

Recebido em 17 de outubro de 1986.

Aceito em 19 de junho de 1987.

produtos foi de 24 horas. Decorrido esse tempo, os animais foram lavados e colocados em água desclorada, permanecendo em observação durante 72 horas, com registro e retirada dos exemplares mortos. As desovas e recém-eclodidos foram examinados e contados com auxílio de microscópio estereoscópico. A temperatura foi registrada no início e final de cada ensaio, variando de 24 a 26°C.

As porcentagens de mortalidade para adultos, recém-eclodidos e desovas, obtidas após 96 horas de observação, foram lançadas em escala log probita para cálculo das concentrações letais, CL₅₀ e CL₉₀ de acordo com técnica de Litchfield & Wilcoxon (1949).

Análise estatística — o nível de significância foi determinado por regressão linear simples e test *t* de Student.

Toxicidade para peixes — O extrato butílico de *P. dodecandra* foi testado nas concentrações de 0,1 a 4,0 ppm sobre exemplares adultos de *Lebistes reticulatus*. O tempo de exposição ao produto foi de 24 horas, em temperatura de 24 a 25°C. As concentrações letais foram calculadas tomando-se a porcentagem de mortalidade obtida após 48 horas de observação e lançando em escala log-probita.

Ensaio no campo — O extrato butílico de *P. dodecandra* e a niclosamida, em pó, foram usados paralelamente para tratar dois criadouros de *B. glabrata*. Os criadouros eram formados por poços artificiais de irrigação de horta, pertencente à Penitenciária Agrícola de Neves, localizada no município de Ribeirão das Neves, a 40 km de Belo Horizonte. Dois poços foram tratados, ficando um terceiro para controle. O volume de água de cada poço foi calculado pela

fórmula: $V = \pi R^2 x h$, onde V = volume; $\pi = 3,14$; R = raio do perímetro do poço; h = profundidade. No dia do tratamento, o extrato butílico e a niclosamida foram dissolvidos individualmente em 1000 ml de água. As soluções foram adicionadas aos poços 1 e 2 nas quantidades necessárias para se obter concentrações de 10 ppm para o extrato butílico (poço 1) e de 3 ppm para a niclosamida (poço 2), de acordo com o volume de água de cada um. A temperatura da água dos criadouros foi registrada no início e final da exposição de 24 horas, variando de 25 a 26°C. O pH da água dos poços era 6 e manteve-se constante durante o período do experimento. Decorridas 24 horas do início, os moluscos dos três criadouros foram coletados, com auxílio de concha de metal com cabo e transportados em recipientes separados, a seco, para o laboratório. Procedeu-se à contagem do número de exemplares capturados, a mensuração das conchas e o registro e retirada dos exemplares mortos. Os moluscos sobreviventes foram colocados em aquários com água desclorada e alface para alimento, permanecendo em observação durante 72 horas.

RESULTADOS

Experimentos em laboratório — As concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀) obtidas usando o extrato butílico da *P. dodecandra* e o pentaclorofenol sobre caramujos adultos, recém-eclodidos, desovas e peixes, são mostrados na Tabela I. Observa-se que o extrato butílico foi mais ativo para os peixes do que para os moluscos e pouco ativo para as desovas. A ação tóxica do extrato butílico foi significativamente menor do que a do pentaclorofenol para os moluscos e desovas ($p < 0,01$).

TABELA I

Mortalidade de *Biomphalaria glabrata* adultos, recém-eclodidos, desovas de peixes (*Lebistes reticulatus*) pela ação do extrato butílico de *Phytolacca dodecandra* e pentaclorofenol (PCF) em laboratório

Produto	Concentrações letais em ppm*	Caramujos			Peixes
		Adultos	Recém-eclodidos	Desovas	
Extrato butílico de <i>P. dodecandra</i>	CL50	3,00	15,0	60,0	1,14
	CL90	4,50	23,0	102,0	2,00
PCF	CL90	0,22	0,36	0,14	0,80
	CL90	0,22	0,36	0,14	0,80

* Após 24 horas de exposição.

Experimentos no campo – Os resultados obtidos no campo são mostrados na Tabela II. No poço 1, tratado com 10 ppm do extrato butílico, a mortalidade foi de 84,6%. No poço 2, tratado com 3 ppm de niclosamida, a mortalidade foi de 100%. No poço 3, não tratado, a mortalidade foi de 15,4%. Nos poços 1 e 2, ocorreu ainda a mortalidade de exemplares de *L. reticulatus*.

DISCUSSÃO

O estudo de produtos naturais de origem vegetal, objetivando encontrar substâncias tóxicas para moluscos gastrópodes de água doce, transmissores da esquistossomose, tem aumentado muito nos últimos anos. Isso se deve principalmente a problemas envolvendo o uso de moluscicidas sintéticos, como biodegradação lenta, toxicidade para outros organismos, alto custo, necessidade de serem importados, além de outros (Kloos & McCullough, 1981).

Os problemas que envolvem a obtenção de moluscicidas vegetais se relacionam, principalmente, com técnicas de extração, solventes utilizados, que podem aumentar, diminuir ou anular a ação tóxica para moluscos. Existem ainda diferenças intraespecíficas, segundo o local de procedência ou época de coleta da planta, que influem na sua ação tóxica (Chingaipe, 1984). Além disso, torna-se necessário fazer grande número de testes biológicos e estudos diversos com uma substância tóxica, antes de chegar a seu emprego no campo, em grande escala.

No presente trabalho o extrato butílico de *P. dodecandra* (tipo 44), apresentou CL₉₀ de 4,5, 23,0 e 102,0 ppm para adultos, recém-eclodidos e desovas de *B. glabrata*, resultados comparáveis aos obtidos por Lemma (1984) para adultos e desovas, mas foi menos tóxico para recém-eclodidos. Por outro lado, esses resultados foram inferiores aos obtidos anteriormente em nossos laboratórios, para adultos e recém-eclodidos, com amostra do extrato bu-

tílico recebida em 1971 – Quadro – (Paulini, 1979). Essa diferença provavelmente se deve à técnica de extração ou local de procedência do fruto.

Comparando-se as CL₉₀ obtidas com o extrato butílico e o pentaclorofenol (Tabela I), observa-se que o primeiro foi menos ativo, cerca de 700 vezes para as desovas, 20 vezes para adultos e 60 vezes para recém-eclodidos (p < 0,01). A baixa toxicidade apresentada pelos extratos de *P. dodecandra* e de outros vegetais para desovas, mostrada no Quadro, poderia ser compensada no campo, por tratamentos repetidos em intervalos menores (Lemma, 1970).

Para peixes (*L. reticulatus*), a CL₉₀ atual foi de 2 ppm, semelhante à obtida na Etiópia para exemplares de outras espécies.

No campo, o extrato butílico a 10 ppm apresentou 84,6% de atividade para *B. glabrata* e a niclosamida apresentou 100% com 3 ppm. Ambos foram tóxicos para peixes (*L. reticulatus*) nessas concentrações.

O extrato butílico de *P. dodecandra* foi menos tóxico para moluscos do que a niclosamida e o pentaclorofenol, o que está de acordo com observações de Lemma (1984).

A *P. dodecandra* não é nativa no Brasil, mas seu cultivo no país para obtenção de moluscicida é viável, pois ela cresce rapidamente em clima tropical (Prata, 1985 – comunicação pessoal).

Em nosso país, grande número de ensaios preliminares têm sido efetuados com extratos vegetais à procura de novos moluscicidas (Barbosa & Melo, 1969; Rouquayrol & Souza, 1972; Souza et al., 1984; Mendes et al., 1984; Mendes et al., 1986). Dentre as plantas testadas, temos duas phitolacáceas, a *P. decandra*, que apresentou toxicidade nos testes preliminares em concentrações acima de 500 ppm (Pereira & Souza, 1971, não publicado) e a *P. thyrsoiflora*, ativa a 100 ppm (Lopes et al., 1986). Algumas

TABELA II

Ação moluscicida do extrato butílico de *Phytolacca dodecandra* e de niclosamida, sobre criadouros de *Biomphalaria glabrata*

Nº do criadouro	Volume de água em litros por criadouro	Produto	Concentração em ppm	Caramujos adultos		
				Capturadas após tratamento*	% de mortalidade**	Diâmetro em mm
1	193	<i>P. dodecandra</i>	10,00	27	84,6	5-22
2	410	Niclosamida	3,00	32	100,0	6-18
3	810	Controle	—	27	15,4	13-25

* 24 horas e levados para o laboratório; **96 horas após tratamento.

QUADRO

Plantas com propriedades moluscicidas para *Biomphalaria glabrata* e concentrações letais (CL₉₀) em ppm, após 24 horas de exposição

Autores (ano)	Planta			CL ₉₀ em ppm		
	Nome	Parte testada	Procedência	Adultos	Recém-eclodidos	Desovas
Rouquayrol et al. (1973)	<i>Pithecelobium multiflorum</i> , B	casca do caule	Ceará (Brasil)	4,9	—	21,0
Pereira & Souza (1974)	<i>Anacardium occidentale</i> , L.	casca da castanha	Ceará	2,80	0,78*	33,0
Pereira et al. (1978)	<i>Euphorbia cotinifolia</i> , L.	folha	Minas Gerais (Brasil)	3,40	8,0*	31,0
Paulini (1978)	<i>Phytolacca dodecandra</i>	fruto	Etiópia (África)	2,3	10,0*	—
Lemma (1984)	<i>Phytolacca dodecandra</i>	fruto	Etiópia	3,0	4,7**	100,0
Souza et al. (atual)	<i>Phytolacca dodecandra</i>	fruto	Etiópia	4,5	23,0*	102,0
Jurberg et al. (1985)	<i>Euphorbia tirucalli</i> , L.	látex	Rio de Janeiro (Brasil)	85,0	—	—

* Com 0,8 a 1,0 mm de diâmetro; ** Com 1,0 a 3,0 mm de diâmetro.

plantas brasileiras, tóxicas para moluscos, já foram estudadas e seus nomes e as concentrações letais (CL₉₀) constam do Quadro. Dentre as plantas com atividade moluscicida temos o caju (*Anacardium occidentale*), que parece promissora, pois existe em grande quantidade no nordeste, onde a castanha é industrializada. A substância tóxica para moluscos é o “ácido anacárdico” (Sullivan et al., 1982), extraído da casca da castanha que é resíduo industrial. A utilização do extrato bruto da casca da castanha do caju no campo apresentou resultados animadores para o controle de *B. glabrata* e de *Bulinus globosus* (Pereira & Souza, 1974; Soria et al., 1982).

Parece, portanto, que a utilização de plantas com ação tóxica reconhecida para moluscos, como fonte de obtenção de matéria prima, deve continuar a ser investigada. O emprego de extratos vegetais no campo, no combate a focos de esquistossomose, em nosso país, poderá vir a ser preconizado após padronização de técnicas simples e baratas para uso pelas populações residentes em zonas endêmicas.

RESUMO

Atividade moluscicida do extrato butílico de *Phytolacca dodecandra* (Endod) sobre *Biomphalaria glabrata* — O extrato butílico da *Phytolacca dodecandra* (tipo 44) obtido de frutos

procedentes da Etiópia, foi testado como moluscicida em nosso laboratório e no campo. As concentrações letais, CL₉₀, com 24 horas de exposição, para *Biomphalaria glabrata* adulta, recém-eclodidas e desovas foram de 4,5, 23,0 e 102,0 ppm, respectivamente. Para peixes, *Lebistes reticulatus*, a CL₉₀ foi de 2,0 ppm. Esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Lemma em 1984, na Etiópia. Em dois criadouros com água parada, tratados com 10 ppm de extrato butílico e 3 ppm de niclosamida, ocorreu 84,6 e 100,0% de mortalidade de *B. glabrata*, respectivamente. Os dois produtos foram tóxicos para peixes (*L. reticulatus*) no campo. É discutida a possibilidade do uso de moluscicidas de origem vegetal, como alternativa para o combate a focos de esquistossomose no Brasil.

Palavras-chave: *Phytolacca dodecandra* — moluscicida vegetal — *Biomphalaria glabrata* — controle esquistossomose

AGRADECIMENTOS

Ao técnico Moacyr Rodrigues da Silva, pela inestimável colaboração nos experimentos do campo e à Maureen Rodarte pela datilografia final do texto.

Ao Dr. Aklilu Lemma, da Etiópia, pela remessa dos frutos de *P. dodecandra*.

REFERÊNCIAS

- BARBOSA, F.S. & MELO, D.A., 1969. Ação moluscicida de plantas. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, 2 :364-366.
- CHINGAIPE, T.M., 1984. Studies on the distribution and negative propagation of *Phytolacca dodecandra* (Ipoko) in Zambia, Cep. 9, 130-131. In: A Lemma, D. Reyneman & S.M. Silangwa, *Phytolacca dodecandra* (Endod).
- EVANS, A.C., 1983. Control of schistosomiasis in large irrigation schemes by use of niclosamide. A ten years study in Zimbabwe. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 32 :1029-1039.
- JURBERG, J.; CABRAL NETO, J.B. & SCHALL, V. T., 1985. Molluscicide activity of the "Avelós" plant (*Euphorbia tirucalli*, L.) on *Biomphalaria glabrata*, the mollusc vector of schistosomiasis. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80 :423-427.
- KLOOS, H. & McCULLOUGH, F., 1981. Plant molluscicides: A review. *WHO Schisto.*, 81-59.
- LEMMA, A., 1970. Laboratory and field evaluation of the molluscicidal properties of *Phytolacca dodecandra*. *Bull. WHO.*, 42 :597-612.
- LEMMA, A., 1973. Schistosomiasis: the social challenge of controlling a man-made disease. *Impacts Sci. Soc.*, 23 :133-142.
- LEMMA, A.; HEYNEMAN, D. & KLOOS, H., 1979. *Studies on the molluscicidal and other properties of the Endod plant Phytolacca dodecandra*, Ethiopia, 522 p.
- LEMMA, A., 1984. Background and historical review. Another development in schistosomiasis: The case of Endod for use as molluscicide, Cap. 2, p. 12-44. In: A. Lemma, D. Reyneman & S.M. Silangwa, *Phytolacca dodecandra* (Endod).
- LITCHFIELD, J.T. & WILCOXON, F., 1949. A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 96.
- LOPES, J.L.C.; LOPES, J.N.C.; VICHNEWSKI, W.; NASI, A.M.T.T.; DIAS, D.A. & SOUZA, C.P., 1986. Avaliação da atividade moluscicida de extratos vegetais V. X Jornada Farmacêutica de Ribeirão Preto, SP, p. 44.
- MARSTON, A. & HOSTETTMANN, K., 1985. Plant molluscicides. *Phytochemistry*, 24 :639-652.
- MENDES, N.M.; PEREIRA, J.P.; SOUZA, C.P. & AZEVEDO, M.L.L., 1984. Ensaios preliminares em laboratório para verificar a ação moluscicida de algumas espécies da flora brasileira. *Rev. Saúde Públ. São Paulo*, 18 :348-354.
- MENDES, N.M.; SOUZA, C.P.; ARAÚJO, N.; PEREIRA, J.P. & KATZ, N., 1986. Atividade moluscicida de alguns produtos naturais sobre *Biomphalaria glabrata*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 81 :87-91.
- OLIVIER, L., 1960. The employment of snail eggs for chemical tests. *Working paper WHO/Bilharziasis*, 145.
- PAULINI, E., 1979. Laboratory evaluation of Endod extract as molluscicide, p. 118-120. In: A. Lemma, D. Reyneman & H. Kloss *Studies on the molluscicidal and other properties of the Endod plant Phytolacca dodecandra*. Ethiopia.
- PEREIRA, J.P. & SOUZA, C.P., 1974. Ensaios preliminares com *Anacardium occidentale* com moluscicida. *Ciência e Cultura*, 26 :1054-1057.
- PEREIRA, J.P.; SOUZA, C.P. & MENDES, N.M., 1978. Propriedades moluscicidas da *Euphorbia cotinifolia* L. *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.*, 11 :345-351.
- PHYTOLACCA DODECANDRA (ENDOD), 1984. LEMMA, A., REYNEMAN, D. & SILANGWA, S. M. Eds., Zambia, The Zambian, National Council for Scientific Research by Tycooly. International Publishing Limited, Dublin, Ed., 318 p.
- ROUQUAYROL, M.Z. & SOUZA, M.P., 1972. Atividade moluscicida de plantas do nordeste brasileiro III. *Rev. Brasil. Farm.*, 52 :220.
- ROUQUAYROL, M.Z.; SOUZA, M.P. & MATTOS, F. J.A., 1973. Atividade moluscicida de *Pithecelobium multiflorum*. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.*, 7 :11-19.
- SORIA, G.P.; LOURENÇO, M.I. & REY, L., 1982. Controle de populações de *Bulinus globosus* transmissores da esquistossomose em Moçambique, com moluscocida vegetal. *Rev. Med. Moçambique*, 2 :75-79.
- SOUZA, C.P.; AZEVEDO, M.L.L.; LOPES, J.L.C.; SARTI, S.J.; SANTOS FILHO, D.; LOPES, J.N.C.; VICHNEWSKI, W.; NASI, A.M.T.T. & LEITÃO FILHO, H.P., 1984. Quimioprofilaxia da esquistossomose: atividade moluscicida de produtos naturais – ensaios com caramujos adultos e desovas. *An. Acad. Brasil. Ciênc.*, 56 :333-338.
- SULLIVAN, J.T.; RICHARDS, C.S.; LLOYD, H.A. & KRISHNA, G., 1982. Anacardic acid: molluscicide in cashew nut shell liquid. *J. Med. Plant. Research*, 44 :175-177.