
ESTUDO DO EFEITO MOLUSCICIDA
DE ESPÉCIES VEGETAIS EM EMBRIÕES E CARAMUJOS
ADULTOS DE *Biomphalaria glabrata* SAY, 1818
(GASTROPODA, PLANORBIDAE)

Thiago José Matos Rocha¹, Bonifácio Pereira do Nascimento Filho¹, Bruno Dyego da Rocha Noé¹, Cristino Paciente Veiga Júnior¹, Gisela Nunes Costa¹, Madiane Brito Aragão¹ e Aldenir Feitosa dos Santos²

RESUMO

A esquistossomose é uma doença parasitária causada por helmintos trematódeos do gênero *Schistosoma*, que tem o ser humano como hospedeiro definitivo e os planorbídeos do gênero *Biomphalaria* como hospedeiros intermediários. É a segunda doença parasitária mais importante no mundo, atingindo mais de 220 milhões de pessoas. A busca por moluscicidas derivados de espécies vegetais tem sido intensificada como alternativa ao uso de moluscicidas sintéticos. O objetivo deste trabalho foi investigar o efeito moluscicida de *Annona muricata* e *Jatropha elliptica* no caramujo adulto e em suas desovas. Nos bioensaios, observou-se que os extratos etanólicos das espécies *A. muricata* e *J. elliptica* apresentaram efeito concentração-dependente com valores de DL₅₀ 68,3 e 41,1 mg/mL⁻¹, respectivamente, sobre o caramujo adulto, e DL₅₀ 27,7 e 24,0 mg/mL⁻¹ sobre as suas desovas. As espécies vegetais investigadas neste trabalho apresentam efeito moluscicida e possivelmente podem ser fontes de compostos no controle da esquistossomose.

DESCRITORES: Atividade moluscicida; *Biomphalaria glabrata*; bioensaios.

ABSTRACT

Investigation of the effects of plant species molluscicides on embryos and adult snails of the species *Biomphalaria glabrata*

Schistosomiasis is a parasitic disease caused by a helminth trematode of the genus *Schistosoma*, which has humans as the definitive host and *Biomphalaria* snails as intermediate hosts. It is the second most important parasitic disease worldwide, infecting over 220 million people. The search

-
- 1 Graduação em Farmácia. Centro Universitário CESMAC, Rua Cônego Machado, 918, Farol, CEP 57051-160. Maceió, AL, Brasil.
 - 2 Doutora em Química e Biotecnologia. Docente da Universidade do Estado de Alagoas (UNEAL), Arapiraca-AL e do Centro Universitário CESMAC, Maceió - AL, Brasil.

Endereço para correspondência: Thiago José Matos Rocha, Rua Joaquim Nabuco, nº 481, Farol, CEP: 57051-410 Maceió, AL, Brasil. E-mail: thy_rocha@hotmail.com

Recebido para publicação em: 7/3/2011. Revisto em: 14/1/2013. Aceito em: 21/6/2013.

for molluscicides derived from plant species has been highlighted as an alternative to the use of synthetic molluscicides. The aim of this study was to investigate the molluscicidal activity of *Annona muricata* and *Jatropha elliptica* on adult snails and their eggs. Ethanol extracts of *Annona muricata* and *Jatropha elliptica* bioassays showed a concentration-dependent effect with LD₉₀ values of 68.3 and 41.1 µg/ml, respectively, on the adult snails, and DL₉₀ 27.7 and 24.0 µg/ml on their eggs. The plant species investigated in this work show molluscicidal effect and may be sources of useful compounds for the control of schistosomiasis.

KEY WORDS: Molluscicidal activity; *Biomphalaria glabrata*; bioassays.

INTRODUÇÃO

Moluscicidas são substâncias usadas para exterminar moluscos, principalmente caramujos que vivem e se alimentam de folhagens em estufas, jardins, lavouras e campos (Santos, 2005). Também são utilizados para controlar caramujos vetores de parasitos importantes em saúde pública, como é o caso dos vetores de parasitos do gênero *Schistosoma* (Silva et al., 2008).

A niclosamida é o moluscicida recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), já que demonstrou ser mais efetivo e menos danoso ao meio ambiente que outros moluscicidas inorgânicos ou sintéticos. Porém, sua ação biocida, o elevado custo de sua aplicação em áreas extensas e a dificuldade de seu transporte para distantes áreas rurais tornam necessário o investimento em pesquisas que busquem novas alternativas mais bem-sucedidas no controle desses caramujos (Ministério da Saúde, 2008).

Dessa forma, a necessidade de se investigar moluscicidas eficientes e ecologicamente aceitáveis ganhou um novo destaque. A tendência de pesquisar nas plantas substâncias ativas que possam ser utilizadas no desenvolvimento de produtos alternativos tem crescido cada vez mais. Este esforço visa à obtenção de um produto alternativo mais econômico, biodegradável, seguro e disponível localmente para controle das populações de caramujos (Vasconcellos et al., 2005; Brasil, 2007).

O Brasil possui algumas plantas nativas que são consideradas medicinais, mas muitas ainda não tiveram qualquer avaliação científica de seu uso medicinal, o que é essencial para que possam ser utilizadas com segurança pela população (Brandão et al., 2006). Alguns estudos publicados demonstraram a atividade moluscicida de extratos de plantas e de seus metabólitos secundários (Zhang et al., 2012; Dawidar et al., 2012; Salama et al., 2012).

Considerando a importância da descoberta de novas substâncias que apresentem potencial moluscicida, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito moluscicida dos extratos etanólicos de *A. muricata* e *J. elliptica* sobre embriões e caramujos adultos de *Biomphalaria glabrata*, espécie mais importante em decorrência de sua extensa distribuição geográfica, dos elevados índices de infecção e da eficiência na transmissão da esquistossomose (Silva et al., 2008).

MATERIAL E MÉTODOS

Preparação dos extratos vegetais

As folhas de *A. muricata* e raízes de *J. elliptica* foram secas em estufa (40°C) com circulação de ar e, posteriormente, moídas ou trituradas e submetidas à maceração com álcool etílico. Depois desse período, os extratos brutos obtidos foram filtrados e evaporados em equipamento *rotavapor* sob pressão reduzida e temperatura não superior a 60°C até a remoção completa do etanol.

Criação e manutenção dos caramujos

Para a manutenção da colônia de caramujos, a técnica utilizada consistiu na adaptação dos exemplares do molusco em aquários de vidro, temperatura ambiente, sistema de água corrente e desclorada durante quatro horas. Como alimento, recebiam alface fresca e lavada com água potável.

Avaliação da atividade moluscicida

A verificação da atividade moluscicida em desovas e adultos de *B. glabrata* seguiu os procedimentos recomendados pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2008) e adaptações (Silva et al., 2008). Foram utilizados caramujos da espécie *B. glabrata* de tamanho uniforme (diâmetro da concha entre 11mm e 18mm), criados em aquários do Centro Universitário Cesmac, em temperatura de 25°C. A solução teste para cada extrato vegetal foi preparada a 140, 120, 100, 80, 60, 10, 5 e 1 mg/mL⁻¹ para o bioensaio preliminar com o caramujo adulto. Para as desovas, foram preparadas a 60, 55, 50, 45, 40, 10 e 1 mg/mL⁻¹ para os bioensaios preliminares. Para o preparo das soluções de teste, foram realizadas sucessivas diluições da solução em estoque. As amostras foram diluídas em água do próprio reservatório, sem cloro, com o auxílio de 100µL de dimetilsulfóxido (DMSO). Em razão dos resultados obtidos nos ensaios preliminares, foram selecionadas as concentrações para o bioensaio apurado realizado em triplicata. Em ambas as fases do teste, foi estabelecida a relação de 1 caramujo por 50 mL de solução teste. Cinco caramujos foram colocados nos frascos e mantidos submersos na solução com o auxílio de uma tela de gaze. Dois tipos de controle foram utilizados visando verificar a mortalidade dos caramujos: um com niclosamida a 3mg/mL⁻¹ e um branco com água desclorada contendo 0,01% de DMSO. O tempo de exposição destes organismos foi de 24 horas, 48 horas e 72 horas, em temperatura ambiente com leitura a cada 24 horas e remoção dos exemplares mortos. Foram considerados mortos os caramujos que apresentaram descoloração das conchas, imobilidade, exposição da massa visceral, liberação de hemolinfa e ausência de batimentos cardíacos, utilizando-se, para isso, microscópio estereoscópico. Durante todo o

ensaio moluscicida, os caramujos foram alimentados com alface fresca (*Lactuca sativa*). Após o período de experimentação e avaliação da mortalidade, todos os caramujos, vivos ou mortos, foram expostos diretamente à solução concentrada de hipoclorito de sódio (água sanitária comercial) para completa letalidade.

A análise dos dados sobre a relação concentração \times mortalidade dos organismos-alvo, visando à determinação dos valores de concentração letal CL_{90} , CL_{50} e CL_{10} e seus respectivos intervalos de confiança IC_{95} e IC_{90} , foi realizada de acordo com o método Próbitos de análises, disponível no programa computacional POLO (Finney, 1974).

Testes fitoquímicos

Os testes fitoquímicos foram realizados segundo a metodologia proposta por Matos (1997). O teste para detecção de glicosídeos cianogênicos (teste do papel de picrato de sódio) foi realizado com as folhas frescas, levemente fragmentadas, e com o extrato hidroalcoólico. Parte do resíduo do extrato hidroalcoólico foi ressuspenso com solventes adequados e submetido a testes para verificação de fenóis e taninos (reação com cloreto férrico), flavonoides (teste de variação de pH, com hidróxido de sódio e ácido sulfúrico), esteroides e triterpenos (teste de Liebermann-Burchard), saponinas (teste de espuma e teste de precipitação), cumarinas (teste com luz UV), resinas (teste de turvação do extrato) e alcaloides (identificação com Dragendorff, Hager e Mayer e confirmação com a obtenção da fração de alcaloides terciários totais a partir do método de extração ácida, alcalinização e separação por partição com clorofórmio).

RESULTADOS

Os extratos etanólicos das folhas de *A. muricata* e as raízes de *J. elliptica* demonstraram atividade moluscicida nos caramujos adultos de *B. glabrata* em todas as concentrações avaliadas (Tabela 1). Uma forte atividade foi observada na concentração de 50g/mL^{-1} do extrato etanólico das raízes de *J. elliptica*, causando 100% de letalidade dos caramujos após 96 horas de exposição. Esses mesmos resultados foram encontrados ao serem testados os extratos etanólicos das folhas de *A. muricata*, porém foi necessária uma concentração de 80mg/mL^{-1} . Nota-se ainda nesses resultados que apenas 1mg/mL^{-1} do extrato de *A. muricata* foi suficiente para causar a morte de 10% da população de caramujos adultos, ao passo que, para se conseguir este mesmo resultado com o extrato de *J. elliptica*, foi necessária uma concentração dez vezes maior, o que demonstra um maior efeito moluscicida de *A. muricata* sobre os caramujos adultos.

Ainda neste experimento foi observado que os extratos oriundos de duas plantas – *J. elliptica* (raiz) e *A. muricata* (folhas) – apresentaram CL_{90} $41,1\text{mg/mL}^{-1}$ e $68,3\text{mg/mL}^{-1}$, respectivamente. É importante ressaltar que, mesmo não

sendo consideradas plantas moluscicidas com atividade significativa conforme as normas da OMS (WHO, 2008), as espécies vegetais que apresentaram CL_{90} entre 20mg/mL^{-1} – 200 mg/mL^{-1} também são importantes para um estudo fitoquímico que objetive o isolamento e a elucidação de seus constituintes químicos bioativos, os quais poderão ser úteis como moléculas líderes para o estudo da relação entre a estrutura da molécula e sua atividade-QSAR (Santos, 2005). O esclarecimento da relação entre a estrutura química e a atividade biológica aumenta as chances de obtenção de novos agentes moluscicidas mais ativos, seletivos e biodegradáveis. Neste experimento, também foi exibido o efeito concentração-dependente dos extratos vegetais avaliados (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade moluscicida das folhas de *Annona muricata* e das raízes de *Jatropha elliptica* em *B. glabrata* adulto

Espécies vegetais	Parte testada	Caramujo adulto				
		Conc. ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)	% de mortos	Após 96 horas ($\mu\text{g/mL}^{-1}$)		
				CL_{10}	CL_{50}	CL_{90}
<i>Annona muricata</i>	Folhas	80	100,0			
		50	096,6			
		20	033,3	1,57	10,38	68,29
		05	036,0	$IC_{95} = 0,09-4,17$	$IC_{95} = 3,79-23,47$	$IC_{95} = 64,02-69,53$
		01	010,0			
<i>Jatropha elliptica</i>	Raiz	50	100,0			
		40	096,6			
		35	083,3	13,42	23,50	41,12
		25	033,3	$IC_{95} = 8,25-17,00$	$IC_{95} = 19,16-27,66$	$IC_{95} = 33,94-59,04$
		20	030,0			
		10	010,0			

A atividade moluscicida nos embriões do caramujo, hospedeiro invertebrado do *S. mansoni*, é um aspecto essencial na bioatividade geral de um moluscicida eficiente no controle da esquistossomose mansônica (Tang et al., 1995), visto que está diretamente relacionada à repovoação dos ambientes aquáticos pelos moluscos transmissores e à eliminação da possibilidade de surgimento de cepas de caramujos resistentes.

O efeito dos extratos etanólicos das folhas de *A. muricata* e das raízes de *J. elliptica* também foi avaliado nos embriões de *B. glabrata*. Concluídos os ensaios biológicos, estes também demonstraram atividade moluscicida em todas as concentrações avaliadas. A análise dos resultados contidos na Tabela 2 indicou que os extratos avaliados ante a desova de *B. glabrata* foram ativos na concentração máxima avaliada (cerca de 70% de mortalidade a 100 mg/mL^{-1}) (Tabela 2).

Semelhantemente ao que ocorreu nos ensaios com caramujos adultos, o extrato da raiz de *J. elliptica* mostrou ser mais ativo quando comparado com as mesmas concentrações do extrato das folhas de *A. muricata*. Uma forte atividade foi observada na concentração de 35mg/mL^{-1} do extrato etanólico das raízes de *J.*

elliptica, uma vez que causou 100% de letalidade dos caramujos após 96 horas de exposição. Resultados semelhantes a estes foram notados quando se testou o extrato etanólico das folhas de *A. muricata*, porém foi necessária uma concentração de 50 mg/mL⁻¹. Nota-se ainda nesses resultados que com 5 mg/mL⁻¹ do extrato de *J. elliptica* não houve atividade biológica sobre os embriões e 5 mg/mL⁻¹ do extrato de *A. muricata* foram suficientes para causar a morte de 10% da população dos embriões. Estes resultados, quando comparados com a ação destes mesmos extratos ante o caramujo adulto (Tabela 1), comprovam que o embrião é mais susceptível à ação dos extratos moluscicidas do que a espécie adulta.

Tabela 2. Atividade moluscicida das folhas de *Annona muricata* e das raízes de *Jatropha elliptica* em *Biomphalaria glabrata*-embriões

Espécies vegetais	Parte testada	Embriões					
		No. de embriões	Conc. (mgmL ⁻¹)	% de mortos	Após 96 horas (mg/mL ⁻¹)		
CL ₁₀	CL ₅₀				CL ₉₀		
<i>Annona muricata</i>	Folha	64	50	100			
		53	30	48	9,29	16,05	27,73
		77	20	55	IC ₉₅ = 4,37-12,35	IC ₉₅ = 11,96-20,83	IC ₉₅ = 21,27-53,94
		92	10	12			
<i>Jatropha elliptica</i>	Raiz	105	35	100			
		77	20	71,4	11,77	16,82	24,03
		77	10	37,6	IC ₉₅ = 5,64-14,76	IC ₉₅ = 12,48-20,24	IC ₉₅ = 20,00-38,34
		72	5	0			

Nos experimentos com embriões e caramujos adultos foram utilizados dois tipos de controle, um com niclosamida a 3mg/mL⁻¹ e um branco com água desclorada contendo 0,01% de DMSO. Nos grupos expostos à niclosamida, com até 24 horas houve mortalidade de todos os embriões e caramujos adultos avaliados neste estudo, ao passo que todos os embriões e caramujos adultos mantiveram 100% de viabilidade no fim de 72 horas.

Além da farmacoterapia dos doentes, o controle da esquistossomose tem sido feito por meio de práticas de educação em saúde e do uso de agentes moluscicidas (Vasconcellos et al., 2005). Atualmente, o único moluscicida empregado em grande escala é a niclosamida, moluscicida sintético que tem como principal desvantagem sua ação letal sobre os peixes (Rug & Ruppel, 2000; Corrêa, 2006).

Os bioensaios com extratos de plantas medicinais devem se iniciar com o uso de soluções a 100 ppm (WHO, 2008). Este valor teoricamente sugere um limite para que os efeitos tóxicos causados pelo extrato sejam os menores possíveis. Assim, quanto menor for a concentração na dose letal (100% de letalidade dos caramujos), melhores serão as condições de uso do extrato no meio ambiente, já que o impacto causado por este é reduzido e uma menor quantidade do material vai ser utilizada (Moreira et al., 2010).

Os moluscicidas vegetais representam um método eficaz e de baixo custo no controle de transmissão da esquistossomose, sabendo-se que apenas são vendidos moluscicidas orgânicos (Babili et al., 2006).

Com o fim de obter produtos com elevado teor moluscicida a partir de extratos vegetais, a busca por plantas medicinais com atividade moluscicida tem aumentado nas últimas décadas por ser uma alternativa mais econômica, além de ser menos agressiva contra a natureza (Leyton et al., 2005).

As pesquisas relacionadas à avaliação moluscicida de vegetais que obtiveram resultados positivos durante avaliação dos extratos sugerem que a atividade tóxica das plantas se deve à presença de taninos, saponinas, terpenoides, esteroides e flavonoides, dentre outros (Chifundera et al., 1993; Hymete et al., 2005; Cantanhede et al., 2010).

Sá Barreto et al. (2007), em estudo fitoquímico das folhas, cascas do caule e das raízes de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae), identificaram a presença de terpenoides/esteroides, saponinas, açúcares redutores, fenilpropanoglicosídeos e iridoides. Os extratos oriundos das folhas e das cascas do caule apresentaram maior quantidade de metabólitos secundários e foram eleitos, junto com o iridoide aucubina, para ensaio moluscicida nas desovas de *B. glabrata*. Os extratos selecionados (100 ppm) mostraram pronunciada atividade ovicida, superior ao do controle positivo de saponina, com mortalidade aproximada de 90%. A aucubina isolada (100 ppm) apresentou um resultado ainda melhor, com 100% de mortalidade.

Moreira et al. (2010) avaliaram o extrato metanólico do látex da *Synadenium carinatum* e, após os experimentos, foi observada uma atividade moluscicida na concentração de 0,5 µg/L ($CL_{100}/24h = 0,5$ ppm) e seu constituinte majoritário foi isolado e identificado como sendo o triterpeno tetracíclico eufol.

Rodrigues et al. (2010) avaliaram o potencial moluscicida de *Momordica charantia* L. e, em suas avaliações fitoquímicas dos extratos, encontraram a presença de alcaloides, fenóis, catequinas, esteroides e saponinas. Foram obtidos resultados negativos para glicosídeos cianogênicos, antraquinonas, cumarinas, resinas e triterpenos. O extrato hidroalcoólico das folhas desta espécie apresentou atividade moluscicida significativa, com 85% de mortalidade na concentração de 100 ppm.

Rapado et al. (2011) avaliaram a toxicidade dos extratos de folhas, caules e raízes de 13 espécies da família Piperaceae sobre os caramujos de *B. glabrata* em duas concentrações diferentes (500 e 100 ppm). Aqueles que causaram a mortalidade de 100% na concentração de 100 ppm foram selecionados para obter o CL_{90} (concentração letal de 90% de mortalidade). *Piper aduncum*, *P. crassinervium*, *P. cuyabanum*, *P. diospyrifolium* e *P. hostmannianum* causaram 100% de mortalidade dos caramujos adultos nas concentrações com variação de 10 ppm a 60 ppm. Estes extratos também foram testados em estágios embrionários de *B. glabrata* e os extratos de *P. cuyabanum* e *P. hostmannianum* apresentaram 100% de ação ovicida a 20 ppm.

Os trabalhos descritos foram realizados predominantemente pela metodologia preconizada pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2008),

adotada também no presente estudo. Esta metodologia traz as especificações para se realizar testes com moluscicidas e recomenda a busca de plantas medicinais e produtos vegetais com atividade moluscicida que possam ser utilizados sem agredir o meio ambiente (Cantanhede et al., 2010).

Silva Filho et al. (2009) analisaram o efeito moluscicida dos extratos de *Curcuma longa* L. contra caramujos adultos da espécie *B. glabrata*. A oleoresina e o óleo essencial de cúrcuma foram ativos contra os indivíduos adultos de *B. glabrata* (CL50 = 58,3 e CL50 = 46,73 µg/mL, respectivamente). Os autores, com base nos resultados obtidos, concluíram que ambos os extratos podem constituir uma alternativa para o controle da população desses caramujos e a redução da esquistossomose.

Durante os ensaios biológicos *in vitro*, uma forte atividade foi observada na concentração de 50 mg/mL⁻¹ do extrato etanólico das raízes de *J. elliptica*, uma vez que causou 100% de letalidade dos caramujos após 96 horas de exposição. Esses mesmos resultados foram observados quando foi testado o extrato etanólico das folhas de *A. muricata*, porém foi necessária uma concentração de 80 mg/mL⁻¹. Nos bioensaios, observou-se que os extratos etanólicos das espécies *A. muricata* e *J. elliptica* apresentaram efeito concentração-dependente com valores de DL₉₀ 68,29 e 41,12 mg/mL⁻¹, respectivamente, sobre o caramujo adulto e DL₉₀ 27,73 e 24,03 mg/mL⁻¹ sobre as suas desovas.

O estudo fitoquímico é uma análise qualitativa que visa obter informações a respeito da presença de metabólitos secundários. Na prospecção fitoquímica das folhas desta espécie, os testes revelaram a presença de alcaloides, taninos e saponinas. Em relação aos extratos das raízes de *J. elliptica*, os valores obtidos foram positivos para alcaloides, terpenoides e/ou esteroides, flavonoides e taninos.

Correlacionando os resultados do perfil fitoquímico de ambas as espécies e do bioensaio com embriões e caramujos adultos de *B. glabrata*, é possível apontar as classes de metabólitos responsáveis pela ação moluscicida. Assim, a presença de metabólitos secundários nas folhas de *A. muricata* indica a presença de constituintes que podem ser utilizados como princípio ativo.

Os alcaloides são metabólitos secundários estruturalmente bastante diversificados e caracterizam-se por apresentar uma ampla gama de atividades biológicas: anticolinérgica, emética, antimalárica, anti-hipertensiva, hipoanalgésica, amebicida, estimulante do SNC, antiviral, miorelaxante, anestésica, antitumoral, antitussígeno e colinérgica, dentre outras. Plantas que contêm alcaloides devem ser consideradas potencialmente tóxicas (Barbosa-Filho et al., 2006).

As plantas que possuem saponinas são empregadas também por sua ação mucolítica, diurética e depurativa. Os taninos exercem ação adstringente, antidiarreica e antisséptica (Teske & Trentini, 1995).

Os extratos avaliados no presente estudo mostraram atividade moluscicida significativa, podendo representar um potencial produto para uso no controle da esquistossomose. Estudos aprimorados da avaliação da toxicidade das espécies

vegetais estudadas aqui são necessários para que elas possam ser utilizadas de modo seguro no controle de moluscos do gênero *Biomphalaria*.

AGRADECIMENTOS

Nossos agradecimentos à Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde (FCBS) do Centro Universitário Cesmac por disponibilizar toda a sua infraestrutura para a realização dos experimentos e ao CNPq pelo apoio financeiro por meio do Programa Semente de Iniciação Científica (PSIC).

REFERÊNCIAS

1. Babili FE, Fabre N, Moulis C, Fouraste I. Molluscicidal activity against *Bulinus truncatus* of *Croton campestris*. *Fitoterapia* 77: 384-387, 2006.
2. Barbosa-Filho, J. M. Piuvezam MR, Moura MD, Silva MS, Lima KVB, Cunha EVL, Fechine IM, Takemura OS. Antiinflammatory activity of alkaloids: a twenty-century review. *Rev Bras Farmacog* 16: 109-134, 2006.
3. Brandão MGL, Cosenza GP, Moreira RA, Monte-Mor RLM. Medicinal plants and other botanical products from the Brazilian Official Pharmacopoeia. *Rev Bras Farmacogn* 16: 408-420, 2006.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica. 2ª edição. Brasília-DF, 2007.
5. Cantanhede SPD, Marques AM, Silva-Souza N, Valverde AL. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. *Rev Bras Farmacogn* 20: 282-288, 2010.
6. Chifundera K, Baluku B, Mashimango B. Phytochemical screening and molluscicidal potency of same zairean medicinal plants. *Pharmacol Res* 28: 333-340, 1993.
7. Corrêa MCR. Avaliação moluscicida das plantas *Pterodon emarginatus* Vogel 1837, *Magonia pubescens* St. Hil, e *Croton urucurana* Baill 1864, sobre *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e cercaricida sobre *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907). Goiânia [Dissertação de Mestrado em Medicina Tropical-IPTSP/UFG], 2006.
8. Dawidar AE, Mortada MM, Raghieb HM, Abdel-Mogib M. Molluscicidal activity of *Balanites aegyptiaca* against *Monacha cartusiana*. *Pharm biol* 50: 1326-1329, 2012.
9. Finney D J. *Probit analysis, a statistical treatment of the sigmoid response curve*. University press, Cambridge, New York-London, 1974.
10. Hymete A, Iversen TH, Rohloff J, Erko B. Screening of *Echinops ellenbeckii* and *Echinops longisetus* for biological activities and chemical constituents. *Phytomedicine* 12: 675-679. 2005.
11. Leyton V, Henderson TO, Mascara D, Kawano T. Atividade moluscicida de princípios ativos de folhas de *Lycopersicon esculentum* (Solanales, Solanaceae) em *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, Planorbidae). *Iheringia Ser Zool* 95: 213-216, 2005.
12. Ministério da Saúde. Vigilância e Controle de Moluscos de Importância Epidemiológica Diretrizes Técnicas: Programas de Vigilância e Controle da Esquistossomose (PCE), Brasília, 2008.
13. Moreira CPS, Zani CL, Alves TMA. Atividade moluscicida do látex de *Synadenium carinatum* boiss. (Euphorbiaceae) sobre *Biomphalaria glabrata* e isolamento do constituinte majoritário. *Rev Eletr Farm* 7: 16-27, 2010.
14. Rapado LN, Nakano E, Ohlweiler FP, Kato MJ, Yamaguchi LF, Pereira CA, Kawano T. Molluscicidal and ovidical activities of plant extracts of the Piperaceae on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). *J Helminthol* 85: 66-72, 2011.
15. Rodrigues KAF, Dias CN, Florêncio JC, Vilanova CM, Gonçalves JRS, Coutinho-Moraes DF. Prospecção fitoquímica e atividade moluscicida de folhas de *Momordica Charantia*.
16. *Caderno de Pesquisa* 17: 69-76, 2010.
17. Rug M, Ruppel A. Toxic activities of the plant *Jatropha curcas* against intermediate snail hosts and larvae of schistosomes. *Trop Med Int Health* 5: 423-430, 2000.

18. Sá Barreto LCL, Carvalho EFNB, Cunha-Filho MSS, Ferreira CP, Xavier HS. Atividade Moluscicida de Extratos e de Aucubina de *Vitex gardneriana* Schauer (Verbenaceae) em Embriões da *Biomphalaria glabrata*. *Latin Amer J Pharm* 26: 339-43, 2007.
19. Salama MM, Taher EE, El-Bahy MM. Molluscicidal and Mosquitocidal activities of the essential oils of *Thymus capitatus* Hoff. et Link. and *Marrubium vulgare* L. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 54: 281-286, 2012.
20. Santos AF. Determinação da atividade anti-esquistossomótica dos extratos de substâncias puras obtidas de plantas. Maceió [Tese de Doutorado em Química e Biotecnologia-UFA], 2005.
21. Silva NFS, Cogo J, Wiepieski CCP, Laverde Juniro R. Bioensaio de atividade moluscicida adaptado para a avaliação de extratos de plantas medicinais. *Arq Ciências Vet Zool* 11: 179-181, 2008.
22. Silva Filho CRM, Souza AG, Conceição MM, Silva TG, Silva TMS, Ribeiro APL. Avaliação da bioatividade dos extratos de cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) extracts em *Artemia salina* e *Biomphalaria glabrata*. *Rev Bras Farmacogn* 19: 919-923, 2009.
23. Tang SSH, Whitfield PJ, Perret S. Activity of the molluscicidal plant *Milletia thonningii* (Leguminosae) toward *Biomphalaria glabrata* eggs. *J Parasitol* 81: 833-835, 1995.
24. Teske M, Trentini AM. *Herbarium, Compêndio de Fitoterapia*. Herbarium Laboratório Botânico. Curitiba, 1995.
25. Vasconcellos ML, Silva TMS, Camara CA, Martins RM, Lacerda KL, Crespo LTC, Lopes HM, Pereira VL, de Souza RO. Baylis-Hillman adducts with molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata*. *Pest Manag Sci* 3: 288-292, 2006.
26. Zhang H, Xu HH, Song ZJ, Chen LY, Wen HJ. Molluscicidal activity of *Aglaiia duperreana* and the constituents of its twigs and leaves. *Fitoterapia* 83: 1081-1086, 2012.
27. WHO (World Health Organization). *The Control Social Context of Schistosomiasis and its Control*. World Health Organization, Geneva. 2008.