

Toxidez seletiva do extrato etanólico bruto de *Capsicum baccatum* L. sobre *Biomphalaria glabrata* Say e *Biomphalaria tenagophila* Orbigny

Bomfim T.C.B.¹, Soares G.L.G.², Salgado C.A.³; Kaplan, M.A.C.⁴

¹Departamento de Parasitologia, Instituto de Veterinária, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brasil, 23890-000, e-mail: tcbb@ufrj.br, ²Departamento de Botânica, ICB, UFJF, Juiz de Fora, MG, Brasil, 36036-330, e-mail: gsoares@icb.ufjf.br, ³Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia, ICB, UFJF, Juiz de Fora, Brasil, 36036-330, e-mail: Clarice@icb.ufjf.br, ⁴Núcleo de Pesquisas de Produtos Naturais, CCS, UFRJ, RJ, Brasil, 21941-590, makaplan@nppn.ufrj.br

RESUMO: Com o objetivo de se avaliar a atividade moluscicida de *C. baccatum*, foi testada a toxidez do extrato etanólico bruto (EEB) de seus frutos sobre *Biomphalaria glabrata* (F1) e *Biomphalaria tenagophila* (F1). Foi usado nesse teste o método sugerido pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para pesquisa de substâncias moluscicidas. O extrato etanólico bruto (EEB) de frutos inteiros de *C. baccatum* foi obtido por maceração estática e os tratamentos constituídos de emulsões aquosas do EEB nas concentrações de 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 e 0,05 mg/ml. Cada tratamento foi realizado em cinco repetições, cada uma constituída de cinco indivíduos com diâmetro da concha igual a 1 cm. Água destilada e uma solução aquosa de saponina MERCK® (0,5 mg/ml) foram utilizadas como controles. Após 24h de tratamento, foram observados para *B. glabrata* os índices médios de mortalidade de 100%, 84%, 56%, 16% e 0% para as concentrações de 0,5; 0,3; 0,2; 0,1 e 0,05 mg/ml, respectivamente. Não se observou atividade tóxica significativa desse extrato sobre *B. tenagophila*.

Palavras-chave: Plantas tóxicas, *Capsicum baccatum*, *Biomphalaria*.

ABSTRACT: Selective toxicity of the crude ethanolic extract of *Capsicum baccatum* L. on *Biomphalaria glabrata* Say and *Biomphalaria tenagophila* Orbigny. The molluscicidal activity of the crude ethanol extract of the fruits of *C. baccatum* was tested on *Biomphalaria glabrata* (F1) and *Biomphalaria tenagophila* (F1). The methodology suggested by the World Health Organization for researches on molluscicidal substances was used. The crude ethanol extract (CEE) from whole fruits of *C. baccatum* was obtained by ecstatic maceration and the treatments were composed with aqueous emulsions of CEE in concentrations of 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 and 0.05 mg/ml. Five repetitions of each treatment were performed, each one constituted of five individuals with 1 cm of shell diameter. Distilled water and aqueous solution of saponin MERCK® (0.5 mg/ml) were used as controls. After 24 hours of treatment, there was observed 100%, 84%, 56%, 16% and 0% of average indices of mortality for the concentrations of 0.5, 0.3, 0.2, 0.1 and 0.05 mg/ml, respectively, for *B. glabrata*. Significant toxic activity of this extract on *B. tenagophila* was not observed.

Key words: Molluscicidal activity, *Capsicum baccatum*, *Biomphalaria*.

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma das principais parasitoses humana que apresenta um grande impacto em saúde pública no Brasil, dentro das doenças parasitárias, ocupa o segundo lugar pela sua importância (Passos, 1998).

De acordo com as estimativas da Organização Mundial de Saúde (O.M.S.), quase 30% da população mundial estão exposta à infecção e mais de 200 milhões encontram-se infectadas em 75 países (Who, 1993). No Brasil, embora os inquéritos epidemiológicos sejam parciais, 30 milhões de pessoas correm risco de ter a doença, sendo que 8 a 10 milhões estão parasitadas, e desses aproximadamente 20% encontra-se na região nordeste (Who, 1993).

A exploração de recursos hídricos, indispensável para o desenvolvimento industrial e agrícola, contribui para uma propagação da

esquistossomose no Brasil, determinando fluxos migratórios que propiciaram novos e amplos habitats para o molusco hospedeiro intermediário, favorecendo o contato estreito e frequente da população humana com águas contendo formas infectantes (Passos, 1998).

Os moluscos de água doce, hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*, indispensáveis na cadeia de transmissão da doença, pertencem à família *Planorbidae*, que inclui espécies do Velho Mundo (extensas áreas da África e pequenas partes da Europa e da Ásia) e do Novo Mundo (grandes áreas continentais das Américas e Antilhas). No Brasil, interessa o estudo de três espécies planorbílicas, todas pertencentes ao gênero *Biomphalaria*, que constituem os hospedeiros intermediários encontrados naturalmente no território brasileiro, sendo estas, *B. glabrata* Say, 1818; *B. tenagophila* Orbigny, 1935 e *B. straminea* Dunker, 1848 (Carvalho, 1992).

Recebido para publicação em 30/04/01 e aceito pra publicação em 10/04/02.

Substâncias moluscicidas tiveram as primeiras referências a partir dos anos 1911-1915, com a utilização de produtos não específicos para esta finalidade, tais como cal, cianeto de cálcio, sulfato de cobre e fosfato de cálcio, utilizadas como fertilizantes (Ducan, 1974). No início da década de 70 foram pesquisados em torno de 7000 produtos químicos (Ritchie, 1973), a niclosamida, conhecida comercialmente como Baylucide®, que se destacou como eficiente moluscicida. Entretanto, o uso da niclosamida apresenta como barreiras técnicas a sua toxidez e o elevado custo.

A busca de substâncias moluscicidas de origem vegetal, eficazes, de baixo custo, de fácil aplicação e que não apresentem efeitos tóxicos para o meio ambiente tem sido motivo de intensas pesquisas nos últimos anos. Os primeiros estudos foram conduzidos no Sudão por Archibald (1933) e Wagner (1936), utilizando frutos de *Balanites aegyptiaca* (Zygophyllaceae), que matava moluscos do gênero *Planorbis*, miracídeos e cercárias de *Schistosoma* sp. O uso popular de algumas plantas levou a descoberta de espécies vegetais com atividade esquistossomocida "in vitro", como por exemplo, *Diospyros usambarensis* (Ebenaceae), *Phytolacca dodecandra* (Phytolaccaceae) e *Mammea africana* (Clusiaceae) (Hostettmann & Marston, 1986). Os primeiros estudos sobre moluscicidas vegetais no Brasil são de Pinto & Almeida (1944), que constataram a ação moluscicida de *Serjania* sp. (Sapindaceae), conhecida como Cipó-uva. Amorim & Pessoa (1962) pesquisaram o efeito moluscicida de algumas espécies de vegetais da flora do Nordeste brasileiro, das quais se destacou a *Paullinia pinnata* (Sapindaceae), vulgarmente denominada de Timbó de peixe, considerada como ictiotóxica.

Capsicum baccatum L. (Solanaceae) é uma espécie arbustiva muito comum na Zona da Mata de Minas Gerais, denominada de pimenta-de-Caiena ou pimenta brava, de fácil cultivo, pois se multiplica por sementes e sem grandes exigências de solo. Os frutos de espécie do gênero *Capsicum* são empregados como condimento e também são citados como anti-reumáticos (Maberley, 1987). Registros sobre a atividade moluscicida de espécies de Solanaceae restringem-se a *Petunia hybrida* (Moser, 1999) e *Solanum aculeatum* (Mkoji et al., 1989). O objetivo do presente estudo é a avaliação da atividade moluscicida do extrato etanólico de frutos de *C. baccatum* sobre duas espécies do gênero *Biomphalaria* (*B. glabrata* e *B. tenagophila*).

MATERIAL E MÉTODO

Coleta de frutos de *C. baccatum* e preparo do extrato etanólico bruto (EEB)

Os frutos de *Capsicum baccatum* L. foram

coletados no Campus da Universidade Federal de Juiz de Fora (Minas Gerais). Um espécimen de referência encontra-se incorporado à coleção do Herbário Leopoldo Krieger (CESJ) sob o número 30189. Utilizou-se 100g de frutos, secos em estufa a 35°C que foram fragmentados e submetidos à extração por maceração estática em éter de petróleo. O material resultante foi filtrado, e posteriormente, extraído em etanol. O extrato etanólico bruto (EEB) assim obtido foi seco em evaporador rotatório.

Prospecção fitoquímica do extrato etanólico bruto (EEB) de frutos de *C. baccatum*

Uma amostra do EEB foi submetida à prospecção fitoquímica geral (Matos, 1997). A presença de capsaicinóides foi avaliada segundo a método descrita por Wagner et al. (1984).

Criação de *B. glabrata* e *B. tenagophila*

Amostra de moluscos de duas espécies de *Biomphalaria* (*B. glabrata* e *B. tenagophila*), livres de qualquer infecção, foram obtidos no Laboratório de Malacologia da Escola Nacional de Saúde Pública (FIOCRUZ – RJ). Esses animais, serviram como matrizes da geração F1 utilizada no teste biológico, foram acondicionadas em aquários de vidro com água desclorada e aerada. Placas de isopor de tamanhos variados foram colocados na lâmina d'água para a ovopostura. Folhas de alface, livres de qualquer produto tóxico, constituíram a única fonte de alimento desses moluscos.

Determinação da atividade moluscicida do extrato etanólico bruto de *C. baccatum*

Os bioensaios foram realizados com animais da geração F1 de acordo com a método preconizada pela Organização Mundial de Saúde (Who, 1965a; Webe, 1987). Um dia antes da aplicação do EEB de *C. baccatum*, grupos de cinco animais de cada espécie foram testados e transferidos para recipientes contendo água destilada, telados e privados de alimentação. O EEB foi utilizado em cinco concentrações diferentes (0,5; 0,3, 0,2, 0,1 e 0,05 mg/ml – concentração final no recipiente do teste), sendo que em cada tratamento utilizou-se cinco repetições. Ao final de 24h foi avaliada a mortalidade em cada um dos tratamentos. Utilizaram-se dois controles para esse ensaio, um negativo, constituído de água destilada, e um positivo, constituído de uma solução aquosa de saponina MERCK® na concentração de 0,5 mg/ml.

RESULTADO DISCUSSÃO

Como resultado do processo de extração

dos frutos de *C. baccatum*, obteve-se um material com aspecto oleoso de coloração marrom avermelhada e cheiro característico (EEB). Com base nos testes fitoquímicos, foi possível detectar a presença de terpenóides fixos (provavelmente esteróides e carotenóides) e de capsaicinóides. De acordo com os dados da literatura, os capsaicinóides majoritários de *C. baccatum* são a capsaicina e a diidrocapsaicina que destacam entre as principais substâncias bioativas de *Capsicum* sp. (Zewdie & Bosland, 2001).

O EEB de *C. baccatum* mostrou-se extremamente ativo contra *B. glabrata*. Nos primeiros minutos do tratamento, observou-se alteração no comportamento dos animais, em todas as concentrações utilizadas, onde esses tentavam sair de seus recipientes concentrando-se na tela da superfície. Algumas horas após o tratamento foram observadas mortes nos recipientes que receberam as concentrações mais altas do EEB (0,5 e 0,3mg/ml).

Após 24h, foram observados elevados

índices de mortalidade em *B. glabrata* correspondente às concentrações de eeb entre 0,5 e 0,2 mg/ml (Tabela 1). A dose de 0,5 mg/ml exibiu o mesmo efeito que o tratamento com saponina MERCK® (oleanólica), que constituiu o controle positivo de 100 % de letalidade. Como pode ser visto na Figura 1, a atividade moluscicida de *C. baccatum* foi dose-dependente e a dl 50 obtida é compatível com os parâmetros definidos para substâncias moluscicidas (who, 1965a; 1965b; Webe, 1987). Portanto, o eeb de frutos de *C. baccatum* possui uma ou mais substâncias extremamente tóxicas para *B. glabrata*.

A *B. tenagophila* mostrou-se bastante resistente ao efeito tóxico do EEB de *C. baccatum* (Tabela 2). Apesar desse extrato ter provocado a mesma alteração de comportamento descrita anteriormente para *B. glabrata*, apenas a dose de 0,5 mg/ml provocou alguma mortalidade sobre *B. tenagophila*.

TABELA 1. Resultado do teste de atividade moluscicida do extrato etanólico bruto de frutos de *Capsicum baccatum* sobre moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata*.

Grupo	C1*	C2**	0,5mg/ml	0,3mg/ml	0,2mg/ml	0,1mg/ml	0,005mg/ml
Mortalidade (%)	0	100	100	84	58	16	0
Desvio Padrão	0,00	0,00	0,00	16,73	20,49	8,94	0,00
Erro	0,00	0,00	0,00	7,48	9,17	4,00	0,00

* Água destilada

** saponina MERCK® (0,5 mg/ml)

TABELA 2. Resultado do teste de atividade moluscicida do extrato etanólico bruto de frutos de *Capsicum baccatum* sobre moluscos da espécie *Biomphalaria tenagophila*

Grupo	C1*	C2**	0,5mg/ml	0,3mg/ml	0,2mg/ml	0,1mg/ml	0,05mg/ml
Mortalidade (%)	0	100	12	0	0	0	0
Desvio Padrão	0,00	0,00	10,96	0,00	0,00	0,00	0,00
Erro	0,00	0,00	4,89	0,00	0,00	0,00	0,00

* Água destilada

** saponina MERCK® (0,5 mg/ml)

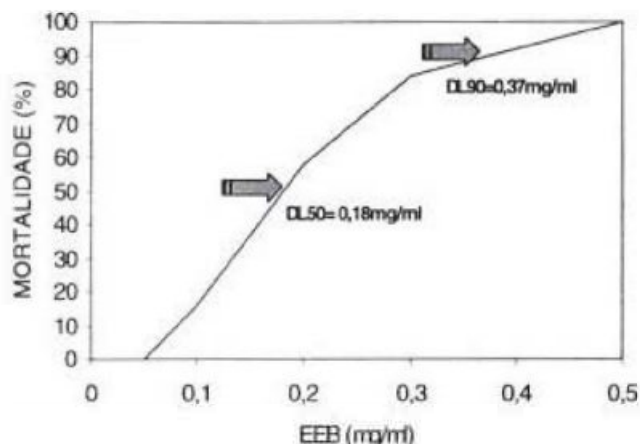


FIGURA 1. Relação dose/mortalidade do extrato etanólico bruto de frutos de *Capsicum baccatum* sobre moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata*

Não existem dados na literatura sobre a existência de diferenças de susceptibilidade em espécies de *Biomphalaria* a extratos vegetais ou metabólitos secundários de moluscicidas. Aliás, a grande maioria dos estudos sobre plantas moluscicidas se refere apenas ao controle de *B. glabrata*. Os resultados desse trabalho indicam que, apesar de apresentarem a mesma sensibilidade ao tratamento com saponina MERCK®, *B. glabrata* e *B. tenagophila* apresentaram nitidamente uma susceptibilidade diferencial frente ao efeito tóxico do EEB de *C. baccatum* (Tabelas 1 e 2).

De maneira geral, a ecologia de planorbídeos é pouco conhecida, em especial o fenômeno de competição intra-específica que é de grande valor para os estudos sobre controle

biológico de moluscos hospedeiros intermediários do do gênero *Schistosoma* (Freitas & Santos, 1995). Tal fenômeno, já foi observado entre as espécies de *B. glabrata* e *B. straminea* e foi relacionado com variações de densidade populacional (Michelson & Dubois, 1979).

Já foi observado que é rara a coexistência das espécies *B. glabrata* e *B. tenagophila*, o que foi associado a possível ocorrência de exclusão competitiva entre as duas espécies (Paraense, 1972). Paraense (1970) descreve tanto o desaparecimento de *B. straminea* quando *B. glabrata* é introduzida no seu habitat, quanto o fenômeno inverso. Entretanto, dados experimentais indicam que a presença de *B. glabrata* diminui a fertilidade e aumenta a mortalidade de exemplares recém-eclodidos de *B. tenagophila* (Santos *et al.*, 1989).

Portanto, é possível que métodos de controle químico que atinjam apenas *B. glabrata* favoreçam o aumento populacional de *B. tenagophila*. Isso pode, em longo prazo, reduzir a eficiência de estratégias de profilaxia da esquistossomose baseada na erradicação de moluscos hospedeiros.

Fica evidente, pelos resultados aqui apresentados, que um extrato vegetal pode apresentar toxidez seletiva para espécies de *Biomphalaria*. O EEB de *C. baccatum*, e provavelmente o(s) seu(s) metabólito(s) moluscicida(s), não se constitui em uma boa opção de controle em habitats onde *B. glabrata* co-exista com *B. tenagophila*. Há necessidade de testes de atividade moluscicida do EEB em outras espécies de planorbídeos, especialmente *B. tenagophila* e *B. straminea*.

AGRADECIMENTO

A FAPEMIG, pelo apoio financeiro para a realização do presente trabalho, e aos pesquisadores do Laboratório de Malacologia da Escola Nacional de Saúde Pública (FIOCRUZ – RJ) pelo fornecimento das matrizes de *B. glabrata* e *B. tenagophila*.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- AMORIM, J. P. & PESSOA, S. B. Experiência de alguns vegetais como moluscocida. *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, v. 14, 255-260, 1962.
- ANDREWS, P., THYSEN, J. & LORKE, D. The biology and toxicology of molluscicides: Bayluscide®. *Pharmacology & Therapeutics*, 19: 245-295, 1983.
- ARCHIBALD, R. G. The use of the fruit of tree *Balanites aegyptiaca* in the control of schistosomiasis in the Sudan. *Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 27, n. 2, 207-210, 1933.
- CARVALHO, O.S. Intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 87, suppl. IV, 307-309, 1992.
- DUCAN, J. A review of the development and application of molluscicides, in schistosomiasis control. In: Cheng, T.C. (Ed.) *Molluscicides in Schistosomiasis Control*, London: Academic Press, 1974, pp. 9-40.
- FREITAS, J.R. & SANTOS, M.B.L. Current advances on study of snail-snail interactions, with special emphasis on competition process. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 90, n. 2, 261-269, 1995.
- HOSSETTMANN, K. & MARSTON, A. Plants used in African traditional medicine, in: Steiner, R.P. (ed.) *Folk Medicine - The Art and the Science*, Washington: American Chemical Society, 1986, 111-124 pp.
- MABERLEY, D.J. *The plant-book: a portable dictionary of the higher plants*. 2nd edition, Cambridge: Cambridge University Press, 1987, 858p.
- MATOS, F.J.A. *Introdução à Fitoquímica Experimental*. Fortaleza: UFC Edições, 1997, 141p.
- MICHELSON, E.H. & DUBOIS, L. Competitive interaction between two snail host of *Schistosoma mansoni*: Laboratory studies on *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria straminea*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 21, n. 5, 246-253, 1979.
- MKOJI, G.M., NJUNGE, K., KIMANI, G., KOFITSEKPO, W., MUNGAI, B.N., KAMAU, T., MUTHAURA, C., KIBAYA, R.M., & WAMBAYI, E. Molluscicidal activity of *Solanum aculeatum* (Family, Solanaceae) berries against *Biomphalaria pfeifferi*, *Bulinus globosus* and *Lymnaea natalensis*. *Tropical Medicine and Parasitology*, v. 40, n. 2, 119-120, 1989.
- MOSER, D., KLAIBER, I., VOGLER, B. & KRAUS, V. Molluscicidal and antibacterial compounds from *Petunia hybrida*. *Pesticide Science*, v. 55, n. 3, 336-339, 1999.
- PARAENSE, W.L. Planorbídeos hospedeiros intermediários do *Schistosoma mansoni*. In: Cunha, A.S (Ed.) *Esquistossomose mansoni*. São Paulo: Sarvier Editora Livros Médicos Ltda. e Editora da Universidade de São Paulo, 1970, pp. 13-30.
- PARAENSE, W.L. Fauna planorbídica do Brasil, in: *Introdução a Geografia Médica do Brasil*. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 1972, pp. 213-239.
- PASSOS, A.D.C. Fundação Nacional da Saúde *Controle da esquistossomose: diretrizes técnicas*. 2^a ed. Brasília: Ministério da saúde. 1998, 70p.
- PINTO, C. & ALMEIDA, A. F. Um novo método para a profilaxia da esquistossomose mansônica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 40, n. 3, 291-311, 1944.

- RITCHIE, L. S. Chemical control of snails. In: N. Anssari (Ed.) **Epidemiology and Control of Schistosomiasis**. Basel: S. Karger. 1973, pp.485-532.
- SANTOS, M.B.L, FREITAS, J.R., ALVES, E.S.R & ROCHA, L.A. Estratégia competitiva entre *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* - Estudos de laboratório. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 84, supl. I, 156-171, 1989.
- WAGNER, V.A. The possibility of eradicating bilharzias by extensive planting of the tree *Balanites*. **South African Medical Journal**, 10:10-11.1936.
- WAGNER, H.; BLADT, S. & ZGAINSKI, E.M. **Plant Drug Analysis**. Berlin: Springer-Verlag, 1984, 394p.
- WEBE, G. Molluscicides in the control of schistosomiasis. In: Mott, K.E. **Plant Molluscicides**. Genebra: UNDP/World Bank/WHO. 1987, 1-26pp.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Molluscicidal screening and evaluation. **Bulletin WHO**, v. 33, 567-581, 1965a.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Snail control in the prevention of bilharziasis. Genebra: WHO, 1965b, 255p.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. The control of schistosomiasis. **WHO Technical Report Series**, v. 830, 1-86. 1993
- ZEWDIE, Y & BOSLAND, P.W. Capsaicinoid profiles are not good chemotaxonomic indicators for *Capsicum* species. **Biochemical Systematics and Ecology** v. 29, n. 2, 161-169, 2001.