

ATIVIDADE MOLUSCICIDA DO ÓLEO ESSENCIAL DA ERVA-DE-SANTA-MARIA (*Chenopodium ambrosioides* L.) SOBRE O MOLUSCO DO GÊNERO *Biomphalaria*

Henrique Oliveira Frank, Danielle Ferreira Vieira, Iana P. da Silva Quadros, Patrícia Fontes Pinheiro, Vagner Tebaldi de Queiroz, Olavo dos Santos Pereira Júnior, Adilson Vidal Costa.

Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Alto Universitário, s/n, caixa postal 16, Guararema, Cep. 29500-000 - Alegre - ES, E-mail: avcosta@hotmail.com

Resumo- *Chenopodium ambrosioides* L., planta nativa da América tropical, originária, provavelmente, do México, encontra-se vastamente distribuída no Brasil, com ocorrência em quase todo o território. Esta espécie apresenta um alto poder alelopático e apresenta atividades antioxidantes, antiinflamatórias, anti-sépticas, antifúngicas e antibacteriana. Tendo em vista as propriedades citadas do óleo essencial dessa espécie, o presente trabalho tem como objetivo o isolamento e avaliação do potencial moluscicida do óleo essencial extraído das folhas da erva-de-santa-maria (*Chenopodium ambrosioides* L.). As etapas de execução do trabalho envolveram a determinação do teor do óleo essencial das folhas e avaliação da atividade moluscicida sobre o molusco do gênero *Biomphalaria*. O óleo essencial, obtido por hidrodestilação (rendimento de 0,3%), avaliado conforme recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS) (10, 20, 40, 60, 80 e 100 µg/mL; respectivamente), apresentou atividade moluscicida contra caramujos do gênero *Biomphalaria*, nunca descrita na literatura. Exímia atividade foi observada para as concentrações de 80 e 100 µg/mL que alcançaram a dose letal em apenas seis horas de contato com os moluscos.

Palavras-chave: *Chenopodium ambrosioides* L., atividade moluscicida, *Biomphalaria*.

Área do Conhecimento: Ciências Agrárias

Introdução

A esquistossomose, causada pelo trematódeo *Schistosoma mansoni*, é uma doença endêmica no Brasil e em muito outros países tropicais. O ciclo de vida desse parasita envolve um hospedeiro intermediário representado no Brasil por caramujos do gênero *Biomphalaria*, sendo o caramujo *B. glabrata* o principal vetor nas Américas do Sul e Central (ALVES *et al.*, 2000).

Para o controle da esquistossomose, além do tratamento dos pacientes infectados, é muito importante que as populações de caramujos sejam controladas como uma forma de redução do risco de transmissão da doença. A niclosamida é o moluscicida comercialmente disponível, recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), e provou ser mais efetivo e menos prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana do que outros moluscicidas inorgânicos ou sintéticos. Porém, o alto custo de sua aplicação em áreas extensas torna inadequado o seu uso na maioria dos países em desenvolvimento. Desta forma, a busca por moluscicidas naturais e sintéticos ganhou um novo destaque, visando à obtenção de um produto alternativo mais barato, biodegradável, seguro e disponível localmente para controle das populações de caramujos (VASCONCELLOS *et al.*, 2005).

A erva-de-santa-maria, *Chenopodium ambrosioides* L., é uma espécie nativa da América tropical, originária, provavelmente, do México. Atualmente, a planta encontra-se vastamente distribuída em regiões de clima tropical, subtropical e temperada. No Brasil é extensa a sua distribuição, com ocorrência em quase todo o território. É uma planta anual ou perene, que se reproduz por sementes. A espécie prefere solos de textura média, com boa fertilidade e suprimento moderado de água, tolerando solos salinos. O desenvolvimento vegetativo é favorecido por boa iluminação e as plantas se tornam mais competitivas em regiões e em épocas de dias longos, sendo o florescimento estimulado por dias curtos (KISSMANN, 1991; CORREA, 1984). Extratos e outros derivados da planta são usualmente utilizados contra sífilis, sarampo e doenças intestinais (CABANIS *et al.*, 1970; NOUMI, 2001). A espécie apresenta-se como potente vermífuga (BOITEAU, 1986). O óleo essencial apresenta propriedade antifúngica, antibacteriana e antiinflamatória (BEGUM *et al.*, 1993; BOURREL *et al.*, 1995; CHAUDHARY *et al.*, 1995; KISHORE *et al.*, 1996; ARISPURO *et al.*, 1997; CASTANEDA *et al.*, 2001; MISHRA *et al.*, 2002; KISHORE e DUBEY, 2002).

Esta pesquisa teve por objetivo avaliar o potencial da atividade moluscicida do óleo essencial de *C. ambrosioides* sobre moluscos do

gênero *Biomphalaria*, ainda não relatado na literatura.

Metodologia

A execução desse trabalho ocorreu em duas etapas, sendo os testes biológicos realizados em laboratório. Para isso foram utilizadas as folhas da espécie *Chenopodium ambrosioides* L., na forma de óleo essencial, para estudo da atividade moluscicida sobre moluscos do gênero *Biomphalaria*. Os estudos foram todos realizados no Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, no laboratório do NUDEMAFI (Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário), do departamento de Produção Vegetal e no laboratório de Malacologia do departamento de Zootecnia.

As partes aéreas da planta *Chenopodium ambrosioides* L. (erva-de-santa-maria) foram coletadas na parte da manhã em abril de 2011, em casa de vegetação do NUDEMAFI.

O óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* L., foi obtido por hidrodestilação. A um balão de fundo redondo (3L) foram adicionados 100g da planta fresca, triturada manualmente, e 1,5 L de água destilada. Após o aquecimento, o hidrolato coletado (100 mL) foi extraído com pentano (3x30 mL), seco com sulfato de sódio anidro e concentrado em rotavapor. O óleo essencial obtido foi mantido sob refrigeração.

Caramujos do gênero *Biomphalaria* foram coletados no Distrito de Araraí, Município de Alegre, região Sul do Estado do Espírito Santo. Em seguida, os mesmos foram recebidos em aquários de polietileno de 20 litros, contendo água decolorada e sob aeração, em temperatura controlada de 25 °C e alimentados com alface in natura.

O teste foi conduzido com cinco caramujos, cada um com tamanho aproximado de 8 a 12mm, para cada concentração de um total de seis concentrações. De cada grupo foi colocado em um recipiente plástico juntamente com determinado volume de óleo essencial e certo volume de água para completar o volume de 2 mL. A solução padrão do óleo essencial foi preparada na concentração de 10.000 ppm usando como solvente dimetil-sulfóxido (DMSO) e, posteriormente diluída com água para que alcançassem as concentrações desejadas: 10, 20, 40, 60, 80 e 100 ppm, conforme recomendações da Organização Mundial de Saúde (WHO, 1983) e adaptações (SILVA *et al.* 2008, MAGALHÃES *et al.*, 2003). Para o ensaio biológico foi elaborado um controle negativo na concentração de 100 ppm de DMSO. Foram feitas observações de duas,

quatro, seis, doze e vinte e quatro horas para avaliar a possível mortalidade dos caramujos, baseado no extravasamento de hemolinfa ou retração do corpo do animal para dentro da concha, em duplicata (MACCULLOUGH, 1980).

Resultados

O teor de óleo encontrado nas folhas da espécie *Chenopodium ambrosioides* L., foi de 0,3%.

Os resultados obtidos no ensaio biológico encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Acompanhamento da mortalidade de moluscos *Biomphalaria* expostos ao óleo essencial de erva-de-santa-maria.

Conc.	Tempo de exposição (horas) e indivíduos mortos				
	2h	4h	6h	12h	24h
100 ppm	0	20%	100%	0	0
80 ppm	0	0	100%	0	0
60 ppm	0	0	0	100%	0
40 ppm	0	0	0	100%	0
20 ppm	0	0	0	60%	100%
10 ppm	0	0	0	40%	100%
Controle	0	0	0	0	0

Discussão

A partir das folhas de *C. ambrosioides* obteve-se o óleo essencial, com rendimento de 0,3%. Na literatura encontrase que esse valor pode sofrer alteração em função da origem do material vegetal coletado. A extração do óleo essencial de *C. ambrosioides* de Ruanda, por destilação em aparelho Clevenger, apresentou um rendimento de 0,3% (MUHAYIMANA *et al.*, 1998), já na planta da Nigéria exibiu rendimento de 0,06% (ONOCHA *et al.*, 1999) e, na Índia, 0,25% de rendimento foi encontrado (GUPTA *et al.*, 2002).

Após a obtenção do óleo essencial, foi realizada a avaliação da atividade moluscicida dos mesmos. Esta é a primeira vez que óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* é submetido a ensaios de atividade moluscicida. A utilização do óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides*, a partir das folhas, como possíveis agentes moluscicidas, se mostraram efetivas nos testes realizados *in vitro* sobre os caramujos do gênero

Biomphalaria, nas concentrações de 10, 20, 40, 60, 80 e 100 ppm.

A Organização Mundial da Saúde especifica metodologias para testes com moluscidas diversos e recomenda a procura de plantas e produtos vegetais dotados de propriedades moluscidas que possam ser utilizados sem afetar o equilíbrio do meio ambiente (OMS, 1965). Essa metodologia considera que o extrato pode ser classificado 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. Entretanto, de acordo com uma outra publicação de 1983 (OMS, 1983), a planta moluscida só deve ser considerada ativa quando obtiver 90% de mortalidade nas concentrações máximas de 20 µg/mL (20 ppm) para princípio ativo isolado e 100 µg/mL (100 ppm) para o extrato bruto.

A nicosamida é o moluscida comercialmente disponível recomendado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e provou ser mais efetivo e menos prejudicial ao meio ambiente e à saúde humana do que outros moluscidas inorgânicos ou sintéticos, porém o alto custo de sua aplicação em áreas extensas torna inibido o seu uso na maioria dos países em desenvolvimento. Assim, a busca por moluscidas naturais visa um novo destaque com a obtenção de um produto alternativo mais econômico, eficiente, seguro, disponível localmente para controle das populações de caramujos e que cause menor impacto ambiental. (MARSTON; HOSTETTMANN, 1985; CLARK *et al.*, 1997).

Conforme observado na tabela 1, a dose letal alcançada em menor tempo de exposição dos moluscos, foi observada para as concentrações de 80 e 100 ppm no tempo de 6 horas. Para as concentrações de 40 e 60 ppm esse tempo passou para 12 horas e foi observado ainda que nas concentrações de 10 e 20 ppm foi necessário um tempo maior para a dose letal de 24 horas.

Segundo MCCULLOUGH e colaboradores (1980), o envenenamento por moluscida pode provocar a ruptura do equilíbrio osmótico do molusco, que está sob controle neuro-hormonal. Consequentemente pode ser observada a retração da massa cefalopodal para dentro da concha com a liberação de hemolinfa ou a projeção anormal dessa massa, para fora da concha. Em conformidade com o autor, a maioria dos moluscos analisados, após exposição ao óleo essencial, sofreu retração corporal, o que evidencia a possível ruptura do equilíbrio osmótico. Após as análises de letalidade total, pode-se constatar que o óleo testado demonstrou eficácia, estando de acordo com os parâmetros

apresentados pela OMS (1983), levando em consideração concentração e tempo de exposição. Destacando as concentrações de 80 e 100 ppm que alcançaram a dose letal em apenas seis horas de contato com o molusco.

Dados que estabelecem o composto responsável pela atividade moluscida de *C. ambrosioides* não são reportados na literatura. No entanto, estudos revelam a toxicidade de óleos voláteis de *C. ambrosioides*, atribuindo-a ao constituinte ascaridol (POLLACK *et al.*, 1990).

O próximo passo a ser avaliado para a atividade do óleo essencial em questão será o mecanismo de ação de substâncias encontradas no óleo, sua purificação e a respectiva resposta fisiológica do molusco (RAGURAN; SINGH, 1999). Estudos fisiológicos conduzidos por MELO-SILVA e colaboradores (2006) para o efeito de *Euphorbia splendens* em *B. glabrata* indicaram a redução significativa das reservas de glicogênio nas glândulas digestivas do molusco, bem como a elevação de proteínas presentes na hemolinfa do mesmo.

Conclusão

Ensaio biológicos, *in vitro*, apontaram uma relevante atividade moluscida do óleo essencial de *C. ambrosioides* sobre moluscos do gênero *Biomphalaria*. Destacando as concentrações de 80 e 100 ppm que alcançaram a dose letal em apenas seis horas de contato com o molusco.

Estudos aprimorados da avaliação da toxicidade do óleo essencial são necessários, para que eles possam ser utilizados, seguramente, no controle de moluscos do gênero *Biomphalaria*, viabilizando a substituição dos agroquímicos nocivos atualmente empregados.

Agradecimentos

Centro de Ciências Agrárias – UFES
PRPPG/UFES e Fapes-ES.

Referências

- ALVES, T.M.D.; SILVA, A.F.; BRANDÃO, M., GRANDI, T.S.M.; SMÂNIA, E.F.A.; SMÂNIA, A.; ZANI, C. L. Biological screening of Brazilian medicinal plants. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.95, p.367-373, 2000.

- VASCONCELLOS, M. L. A. A.; SILVA, T. M. S.; CAMARA, C. A.; MARTINS, R. M.; LACERDA, K. L.; CRESPO, L. T. C.; LOPES, H. M. Baylis-Hillman adducts with molluscicidal activity against

- Biomphalaria glabrata*. **Pest. Manag. Sci.**, v.3, p.288- 292, 2005.
- KISSMANN, K. G. Plantas infestantes e nocivas. **São Paulo: BASF**. t.1. 608 p., 1991.
- CORREA, M. P. **Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, v.4, 1984.
- CABANIS, Y.; CHABOUI, L.; CHABOUI, F. Végétaux et Groupements Végétaux de Madagascar et des Mascareignes, Vol. 2. **Bureau pour le Développement de la Production Agricole** (BDPA): Tananarive, 1970.
- NOUMI, E.; YOMI, A. Medicinal plants used for intestinal diseases in Mbalmayo Region, Central Province, Cameroon. **Fitoterapia**, 72, p.246-254, 2001.
- BOITEAU, P. Médecine Traditionnelle et Pharmacopée: Précis de Matière Médicale Malgache. **Agence de Coopération Culturelle et Technique**: Paris, 1986.
- ARISPURO, I. V.; BERNAL, S. A.; TELLEZ, M. A. M.; NIEBLAS, M. O. Effect of plant extracts on the growth and aflatoxin production of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v.15, n.2, p.91-95, 1997.
- BEGUM, J.; YUSUF, M.; CHOWDHURY, J. U.; WAHAB, M. A. Studies on essential oils for their anti-bacterial and anti-fungal properties. Part 1. Preliminary screening of 35 essential oils. **Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research**, 28, p.25-34, 1993.
- BOURREL, C.; VILAREM, G.; MICHEL, G.; GASET, A. Etude des propriétés bactériostatiques et fongistatiques en milieu solide de 24 huiles essentielles préalablement analysées. **Rivista Italiana EPPS**, 16, p.3-12, 1995.
- CHAUDHARY, R. K.; RAO, G. P.; PANDEY, A. K. Fungitoxicity of some essential oils against sugarcane pathogens. **Journal of Living World**, v.2, n.2, p.30-37, 1995.
- KISHORE, N.; MISHRA, A.K.; CHANSOURIA, J.P. Fungitoxicity of essential oils against dermatophytes. **Mycoses**, v.36, p.211–215, 1993.
- CASTANEDA, G. R.; TELLEZ, M. A. M.; COHEN, S. V.; MANILLA, G. A.; ARISPURO, I. C. V.; SANZ, P. M.; YUFERA, E. P. In vitro inhibition of mycelial growth of *Tilletia indica* by extracts of native plants from Sonora, Mexico. **Revista Mexicana de Fitopatologia**, v.19, n.2, p.214-217, 2001.
- MISHRA, A.; DUBEY, N. K.; SINGH, S.; CHATURVEDI, C. M. Biological activities of essential oil of *Chenopodium ambrosioides* against storage pests and its effect on puberty attainment in Japanese quail. **National Academy Science Letters**, v.25, n.5/6, p.174-177, 2002.
- DUBEY, N. K.; KISHORE, N.; SRIVASTAVA, O. P.; DIKSHIT, A.; SINGH, S. K. Fungitoxicity of some higher plants against *Rhizoctonia solani*. **Plant Soil**, 1983, v.72, p.91-94, 1983.
- KISHORE, N.; DUBEY, N. K. Fungitoxic potency of some essential oils in management of damping-off diseases in soil infested with *Pythium aphanidermatum* and *P. debaryanum*. **Indian Journal of Forestry**, v.25, n.3/4, p.463-468, 2002.
- 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.
- 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**, v.11, n.2, p.79-82, 2008.
- MAGALHÃES, A.F.; TOZZI, A. M. G. A.; SANTOS, C. C.; SERRANO, D. R.; ZANOTTI-MAGALHÃES, E. M.; MAGALHÃES, E. G.; MAGALHÃES, L. A. Saponins from *Swartzia langsdorffii*. In: Biological activities. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.98, p.713-718, 2003.
- MCCULLOUGH, F. S.; GAYRAL, P.; DUNCAN, J.; CHRISTIE, J. D. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 58, p. 681-689, 1980.
- MUHAYIMANA, A.; CHALCHAT, J. C.; GARRY, R. P. Chemical composition of essential oils of *Chenopodium ambrosioides* L. from Rwanda. **Journal of Essential Oil Research**, v.10, n.6, p.690-692, 1998.
- ONOCHA, P. A.; EKUNDAYO, O.; ERAMO, T.; LAAKSO, I. Essential oil constituents of *Chenopodium ambrosioides* L. leaves from Nigeria. **Journal of Essential Oil Research**, v.11, n.2, p.220-222, 1999.

- GUPTA, D.; CHARLES, R., MEHTA, V. K.; GARG, S. N.; KUMAR, S. Chemical examination of the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. from the southern hills of India. **Journal of Essential Oil Research**, v.14, n.2, p.93- 94, 2002.

- WHO. Memoranda – molluscicide screening and evaluation. **Bulletin of the world health organization**, v.33, n.4, p.567-581, 1965.

- MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. Review article number 6: Plantas moluscicidas. **Phytochemistry**, v.24, p.639-652, 1985.

- CLARK, T.E.; APPLETON, C.C.; DREWES, S.E. A semi-quantitative approach to the selection of appropriate candidate plant molluscicides – A South African application. **Journal Ethnopharmacology**. v. 56, p.1-13, 1997.

- POLLACK, Y.; SEGAL, R.; GOLENSER, J. The effect of ascaridole on the in vitro development of *Plasmodium falciparum*. **Parasitology Research**, v.76, p.570-572, 1990.