UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA E FISIOLOGIA

JOSÉ JOSENILDO BATISTA

AVALIAR PREPARAÇÕES DE SEMENTES DE *Parkia pendula* CONTENDO LECTINA COMO AGENTES MOLUSCICIDA (*Biomphalaria glabrata*), CERCARICIDA (*Schistosoma mansoni*) E ECOTOXICIDADE AMBIENTAL (*Artemia salina*)

Recife
2022

JOSÉ JOSENILDO BATISTA

AVALIAR PREPARAÇÕES DE SEMENTES DE *Parkia pendula* CONTENDO LECTINA COMO AGENTES MOLUSCICIDA (*Biomphalaria glabrata*), CERCARICIDA (*Schistosoma mansoni*) E ECOTOXICIDADE AMBIENTAL (*Artemia salina*)

Dissertação apresentada para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Área de concentração: Bioquímica e Fisiologia

Orientadora: Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho

Coorientador: Prof. Dr. André de Lima Aires

Coorientador: Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo

Recife

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Batista, José Josenildo
Avaliar preparações de sementes de *Parkia pendula* contendo lectina como agentes moluscicida (*Biomphalaria glabrata*), cercaricida (*Schistosoma mansoni*) e ecotoxicidade ambiental (*Artemia salina*) / José Josenildo Batista – 2022.

97 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho
Coorientadores: André de Lima Aires e Hallysson Douglas Andrade de Araújo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia, Recife, 2022.
Inclui referências e anexos.

1. Esquistossomose 2. Lectina 3. Testes de toxicidade I. Coelho, Luana Cassandra Breitenbach Barroso (orient.) II. Aires, André de Lima III. Araújo, Hallysson Douglas Andrade de IV. Título

616.963 CDD (22.ed.) UFPE/CB – 2023 -060

Elaborado por Elaine C Barroso - CRB-4/1728

JOSÉ JOSENILDO BATISTA

AVALIAR PREPARAÇÕES DE SEMENTES DE *Parkia pendula* CONTENDO LECTINA COMO AGENTES MOLUSCICIDA (*Biomphalaria glabrata*), CERCARICIDA (*Schistosoma mansoni*) E ECOTOXICIDADE AMBIENTAL (*Artemia salina*)

Dissertação apresentada para o cumprimento parcial das exigências para obtenção do título de Mestre em Bioquímica e Fisiologia pela Universidade Federal de Pernambuco.

Aprovado em: 19/04/2022

Banca Examinadora

_____

Profª. Drª. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho (Orientadora)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Patrícia Maria Guedes Paiva (Examinadora interna)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo (Examinadora externa)

Universidade Federal de Pernambuco

_____

Profª. Drª. Ivone Antônia de Souza (Examinadora externa)

Universidade Federal de Pernambuco

A Deus,

Aos meus pais José Josenias Batista e Maria Erinalda dos Santos (*In memoriam*) e a minha vó Maria Luiza de Jesus dos Santos, pelos incentivos e palavras de apoio que me fizeram chegar até aqui.

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela proteção física e espiritual e por me proteger todos esses anos, com muita coragem, força e determinação para alcançar os objetivos traçados durante essa jornada.

A Profa. Dra. Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho, pela oportunidade, paciência, confiança e generosidade em compartilhar comigo durante todos esses anos, seus conhecimentos, proporcionando meu amadurecimento científico.

Ao Prof. Dr. André de Lima Aires, pelas orientações, troca de conhecimento e disponibilidade em contribuir com esse trabalho.

Ao Dr. Hallysson Douglas Andrade de Araújo, por sua valiosa contribuição em todos os aspectos para o desenvolvimento dessa pesquisa e pelo exemplo de pesquisador e dedicação à ciência. Obrigado pelo acolhimento no laboratório, ensinamentos compartilhados durante esses anos e por sempre me motivar a continuar buscando melhores resultados.

A Profa. Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo pelas sugestões e colaboração para o desenvolvimento dessa pesquisa.

A Profa. Dra. Patrícia Maria Guedes Paiva pela contribuição e conhecimentos compartilhados durante as disciplinas do mestrado.

A Profa. Dra. Ivone Antônia de Souza pelas sugestões e disponibilidade em participar da banca examinadora.

Ao Dr. Silvio Assis de Oliveira Ferreira, pela colaboração na preparação do extrato salino e fração utilizada nesse estudo.

Ao Dr. Dewson Rocha Pereira e Dra. Maíra de Vasconcelos Lima (Laboratório de Biofísica e Radiobiologia - Departamento de Biofísica) pela colaboração nos testes de citotoxidade e genotoxicidade.

A Dra. Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque (Laboratório de disciplina de Parasitologia – Departamento de Medicina Tropical) pela colaboração nessa pesquisa.

Aos amigos do laboratório: Thierry Wesley de Albuquerque Aguiar, Kaio Henrique de Freitas, Letícia da Silva Santos, João Victor Ritinto da Rocha, Wilza Wanessa Melo França, Adriana Maria da Silva e Emily Gabriele Marques Diniz pela colaboração durante a realização deste trabalho e por todos os momentos de convivência.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Fisiologia da Universidade Federal de Pernambuco.

Aos meus pais, José Josenias Batista e Maria Erinalda dos Santos (*In memoriam*), por sempre torcerem por mim e me incentivarem em todos os momentos. Vocês são os meus maiores motivos de continuar lutando por uma vida profissional cada vez melhor.

Aos meus familiares, por sempre torcerem e incentivarem de todas as formas o meu crescimento e minhas realizações. Maria Luiza de Jesus dos Santos e Daurieta Batista (vó), obrigado pelo apoio e orações.

Aos amigos do Ceará, em especial Francisca Crislândia, Luis Afonso, Francisco Regis, Lorena Duarte, Samira Lopes e Thanniely Souza por todos os momentos compartilhados com vocês e pela torcida para que esse momento pudesse se concretizar.

Aos amigos de Recife: Vera Lúcia, Maximiliano José, Mirela Carla,Maria Júlia, Tammaris e Eduarda pelos momentos compartilhados. Muito obrigado pela amizade de vocês!

A Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pela concessão da bolsa de mestrado.

Por fim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para que esta etapa fosse concluída.

A persistência é o caminho do êxito
Charles Chaplin

RESUMO

O caramujo *Biomphalaria glabrata* é o hospedeiro intermediário do parasita *Schistosoma mansoni*; o único moluscicida disponível para o controle dessa doença tem apresentado elevado custo e baixa seletividade, o que leva a busca por novas alternativas. O objetivo do trabalho foi avaliar a toxicidade do extrato salino e fração enriquecida com lectina de sementes de *Parkia pendula* sobre estágios embrionários e adultos *B. glabrata*, cercária de *S. mansoni* e a ecotoxicidade frente à *Artemia salina*. O extrato salino (ES) obtido da suspensão em NaCl 0,15 M e a fração (FR) com sulfato de amônia 0-60% foram avaliados por cromatografia em camada delgada, cromatografia líquida de alta eficiência e análises físico-químicas. Embriões nos estágios de blástula, gástrula, trocófora, véliger e *Hippo stage* e caramujos adultos foram expostos (24 h) ao ES e FR e os parâmetros reprodutivos (fecundidade e fertilidade) e sobrevivência (sete dias após exposição), bem como a citotoxicidade e genotoxicidade foram analisados. Além disso, os efeitos cercaricida e segurança ambiental utilizando *A. salina* foram realizados. ES apresentou apenas açúcares redutores (0,86 mg/mL), enquanto a FR não revelou nenhum metabólito analisado. O conteúdo de proteína do ES foi 5,1 mg/mL, atividade hemaglutinante (HA) de 64 e HA específica (SHA) de 12,54, enquanto FR continha 0,91 mg/mL de proteína, HA 128 e SHA 140,65. O ES e FR apresentaram efeitos tóxicos para os embriões (CL_{90} de 464,25; 479,62; 731,28; 643,28; 408,43 e 250,94; 318,03; 406,12; 635,64; 1,145 mg/mL, para blástula, gástrula, trocófora, véliger e *Hippo stage*, respectivamente), caramujos adultos após 24 h de exposição (CL_{90} de 9,50 e 10,92 mg/mL, respectivamente) com aumento da mortalidade após 7 dias de observação e diminuição significativa ($p< 0,05$; $p< 0,01$ e $p< 0,001$) na deposição de massa de ovos. Em concentrações subletais, observou-se o aumento das alterações quantitativas e morfológicas nos hemócitos, e na análise de genotoxicidade foram detectados vários graus de dano nuclear. Além disso, o ES apresentou alterações na motilidade das cercárias, enquanto a FR apresentou toxicidade a partir da concentração de 1,0 mg/mL. O ES apresentou toxicidade para *A. salina* nas maiores concentrações (3,0, 4,0 e 5,0 mg/mL), enquanto a fração foi atóxica. Conclui-se que ES e FR apresentam-se como promissores no combate à esquistossomose por eliminar o hospedeiro intermediário e causar alteração e/ou mortalidade ao agente infeccioso. Além disso, o ES apresentou toxicidade e a FR foi atóxica para *A. salina.*

Palavras-chave: *Parkia pendula*; Moluscicida vegetal; Embriotoxicidade; *Biomphalaria glabrata*; *Schistosoma mansoni*.

ABSTRACT

The snail *Biomphalaria glabrata* is the intermediate host of the parasite *Schistosoma mansoni*; the only molluscicide available to control this disease has shown high cost and low selectivity, which leads to the search for new alternatives. The objective of this work was to evaluate the toxicity of the saline extract and lectin-enriched fraction of *Parkia pendula* seeds on embryonic and adult stages of *B. glabrata*, cercariae of *S. mansoni* and the ecotoxicity against *Artemia salina*. The saline extract (ES) obtained from the suspension in 0.15 M NaCl and the fraction (FR) with 0-60% ammonium sulfate were evaluated by thin layer chromatography, high performance liquid chromatography and physicochemical analyses. Blastula, gastrula, trocophore, veliger and hippo stage embryos and adult snails were exposed (24 h) to ES and FR and reproductive parameters (fecundity and fertility) and survival (seven days after exposure), as well as cytotoxicity and genotoxicity were analyzed. In addition, the effects of fenced and environmental safety using *A. salina* were performed. ES showed only reducing sugars (0.86 mg/mL), while FR did not reveal any metabolite analyzed. The protein content of EP was 5.1 mg/mL, hemagglutination activity (HA) of 64 and specific HA (SHA) of 12.54, while FR contained 0.91 mg/mL of protein, HA 128 and SHA 140.65. The ES and FR showed toxic effects for embryos (CL_{90} of 464.25, 479.62, 731.28, 643.28, 408.43 and 250.94, 318.03, 406.12, 635.64, 1.145 mg/mL, for blastula, gastrula, trocophore, veliger and hippo stage respectively), adult snails after 24 h of exposure (CL_{90} of 9.50 and 10.92 mg/mL, respectively) with increased mortality after 7 days of observation and significant decrease ($p< 0.05$; $p< 0.01$ and $p< 0.001$) in egg mass deposition. At sublethal concentrations, an increase in quantitative and morphological changes in hemocytes was observed, and in the genotoxicity/comet assay analysis, varying degrees of nuclear damage were detected. In addition, the ES showed changes in the motility of the cercariae, while the FR howed toxicity from a concentration of 1.0 mg/mL. The ES showed toxicity to *A. salina* at the highest concentrations (3.0, 4.0 and 5.0 mg/mL), while the FR did not show ecotoxicity. Thus, the ES and FR was promising in combating schistosomiasis by eliminating the intermediate host and causing alterations and/or mortality to the infectious agent.In addition, ES showed toxicity and FR was non-toxic to *A. salina*.

Keywords: *Parkia pendula*; Vegetable molluscicide; Embryotoxicity; *Biomphalaria glabrata*; *Schistosoma mansoni*.

LISTA DE FIGURAS DISSERTAÇÃO

Figura 1 – Distribuição global da esquistossomose..... 17
Figura 2 – Distribuição da esquistossomose no Brasil..... 18
Figura 3 – Mortalidade por esquistossomose no Brasil entre entre 1999 a 2018..... 18
Figura 4 – Mortalidade por esquistossomose no Nordeste entre 1980 a 2017..... 19
Figura 5 – Espécie de *Schistosoma*, hospedeiro definitivos e sua distribuição geográfica.... 20
Figura 6 – Etapas do desenvolvimento de *Schistosoma mansoni*..... 21
Figura 7 – Ciclo biológico do Schistosoma mansoni..... 22
Figura 8 – Conchas dos caramujos do gênero *Biomphalaria*..... 23
Figura 9 – Caramujo *Biomphalaria glabrata* adulto..... 25
Figura 10 – Diferenciação morfologica de hemócitos de *Biomphalaria glabrata*..... 26
Figura 11 – Massa ovígera de *Biomphalaria glabrata* no estágio de blástula..... 27
Figura 12 – Estágios embrionários de *Biomphalaria glabrata* 27
Figura 13 – Estrutura molecular da niclosamida 29
Figura 14 – Ciclo de vida da *Artemia* 37
Figura 15 – Constituintes químicos identificados em espécies do gênero *Parkia*..... 38
Figura 16 – Distribuição geográfica no Brasil e as principais partes de *Parkia pendula*..... 40

LISTA DE FIGURAS ARTIGO

TOXIC, CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECT OF SALINE EXTRACT AND FRACTION OF *Parkia pendula* SEEDS IN THE DEVELOPMENTAL STAGEN OF*Biomphalaria glabrata* (Say 1818 – INTERMEDIATE HOST) AND CERCARICIDE ACTIVITY AGAINST THE INFECTIOUS AGENT OF SCHISTOSOMIASIS

Figura 1 – Embryonic stagen of *Biomphalaria glabrata* and exposure to saline extract and fraction for 24 h..... 48

Figura 2 – Molluscicidal activity against adult *Biomphalaria glabrata*..... 49

Figura 3 – Morphological changes after exposure to different concentrations of saline extract and fraction..... 50

Figura 4 – Comet assay images obtained from *Biomphalaria glabrata* hemocytes, stained with Sybrsafe™ and DNA damage after exposure to different concetratins of saline extract and fraction..... 50

Figura 5 – *Schistosoma mansoni* cercariae exposed to the fraction 52

Figura 6 – Toxicity of saline extract and fraction in the bioindicator *Artemia salina* after 24 h of exposure 52

LISTA DE TABELAS DISSERTAÇÃO

DISSERTAÇÃO

Tabela 1 – Estudos realizados nos últimos 20 anos com extrato de plantas como agente moluscicida frente a caramujo *Biomphalaria glabrata*..... 32

ARTIGO 1

TOXIC, CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECT OF SALINE EXTRACT AND FRACTION OF*Parkia pendula* SEEDS IN THE DEVELOPMENTAL STAGEN OF*Biomphalaria glabrata* (Say 1818 – INTERMEDIATE HOST) AND CERCARICIDE ACTIVITY AGAINST THE INFECTIOUS AGENT OF SCHISTOSOMIASIS

Tabela 1 – Mortality of different embryonic stages of *Biomphalaria glabrata* after exposure to saline extract and fraction of *P. pendula* seeds…… 33

Tabela 2 – Lethal concentration for embryonic stages and adult snails of *B. glabrata* after exposure to saline extract and fraction of *P. pendula* seeds …….. 48

Tabela 3 – Mortality of cercariae exposed to the fraction in relation to exposure…….. 51

LISTA DE TABELA ARTIGO

Tabela 1 – Mortality of different embryonic stages of *Biomphalaria glabrata* after exposure to saline extract and fraction of *P. pendula* seeds……...…… 33

Tabela 2 – Lethal concentration for embryonic stages and adult snails of *B. glabrata* after exposure to saline extract and fraction of *P. pendula* seeds …… 48

Tabela 3 – Mortality of cercariae exposed to the fraction in relation to exposure…….. 51

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 14
1.1 OBJETIVOS..... 16
1.1.1 Objetivo geral..... 16
1.1.2 Objetivos específicos..... 16
2 **FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**..... 17
2.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE..... 17
2.2 GÊNERO *Schistosoma* E CICLO BIOLÓGICO DE *Schistosoma mansoni*..... 20
2.3 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO *Biomphalaria*..... 24
2.3.1 Características do caramujo *Biomphalaria glabrata*..... 24
2.3.1.1 Características morfoanatômica..... 25
2.3.1.2 Desenvolvimento embrionário..... 27
2.4 MOLUSCICIDAS NO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE..... 28
2.4.1 Niclosamida..... 29
2.4.2 Moluscicida de origem vegetal..... 30
2.5 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS..... 36
2.5.1 **Ensaio com *Artemia salina*.**..... 36
2.6 GÊNERO *Parkia*..... 37
2.7 *Parkia pendula*..... 39
2.8 LECTINAS DE PLANTAS..... 41
3 **RESULTADOS**……. 43
3.1 ARTIGO 1 - TOXIC, CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFECT OF SALINE EXTRACT AND FRACTION OF *Parkia pendula* SEEDS IN THE DEVELOPMENTAL STAGES OF *Biomphalaria glabrata* (SAY 1818 - INTERMEDIATE HOST) AND CERCARICIDE ACTIVITY AGAINST THE INFECTIOUS AGENT OF SCHISTOSOMIASIS …… 43
4 **CONCLUSÕES**..... 55
REFERÊNCIAS..... 56
ANEXO A - RESUMOS ENVIADOS PARA EVENTOS CIENTÍFICOS..... 93
ANEXO B - LINK DO GUIA DOS AUTORES DO PERIÓTICO ACTA TROPICA EDITORIAL ELSEVIER..... 94

1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma infecção parasitária causada por vermes trematódeos do gênero *Schistosoma* spp. (KLOHE et al., 2021; WANG et al., 2021a). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a infecção ainda apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade, é prevalente em 78 países e territórios e acomete aproximadamente 236,6 milhões de pessoas (WHO, 2022). No Brasil, o único agente etiológico é o *S. mansoni*, sendo diretamente relacionado às condições socioambientais e socioeconômicas, presente em 19 dos 27 estados e com estimativa de pelo menos 1,5 milhões de brasileiros parasitados e outros 25 milhões habitam áreas endêmicas (BRASIL, 2014; KATZ, 2018). A região Nordeste é a mais afetada, com destaque para Pernambuco que apresenta alta prevalência e expansão na transmissão, com 2.514 casos e 206 óbitos entre 2010-2017 e 473 internações nos anos de 2008 a 2014 (BARBOSA et al., 2016; BRASIL, 2018; NASCIMENTO; MEIRELLES, 2020).

O caramujo de água doce, *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), possui importância epidemiológica na transmissão e manutenção da esquistossomose mansoni, uma vez que é o principal hospedeiro intermediário no ciclo de vida do *S. mansoni* (OLIVEIRA et al., 2020; VALLADARES et al., 2021). Essa espécie apresenta ampla distribuição geográfica, os espécimes adultos possuem curto ciclo reprodutivo, são hermafroditas, mas apresentam também reprodução sexuada que garante variabilidade genética e os estágios embrionários são bem definidos e de rápido desenvolvimento. Quando infectados pelo *S. mansoni*, *B. glabrata* elimina diariamente milhares de cercárias, fase evolutiva infectante para o homem – hospedeiro definitivo (KAWANO; NAKANO; WATANABE, 2008; CALASANS et al., 2018). Além do tratamento dos infectados com o praziquantel, única droga disponível, implementação de políticas públicas e das estratégias de educação em saúde, a OMS recomenda o controle da população dos caramujos, como importante mecanismo para reduzir a prevalência e incidência da esquistossomose (COELHO; CALDEIRA, 2016; ALLAN et al., 2020). Nesse contexto, o controle dos caramujos é frequentemente realizado por meio da utilização de agentes moluscicidas.

Niclosamida (Bayluscide®), atualmente o moluscicida recomendado pela OMS, é um composto sintético com ação contra todos os estágios de desenvolvimento dos moluscos do gênero *Biomphalaria* (COELHO; CALDEIRA, 2016; ARAÚJO et al., 2018a; FARIA et al., 2018; LÓPEZ-HERNÁRDEZ et al., 2019). No entanto, esse composto apresenta alto custo de produção e aplicação, efeitos secundários como irritação da pele e mucosa humana e bioacumulação, baixa seletividade e alta toxicidade para organismos não alvos (flora e fauna)

e ao longo dos anos, o seu uso repetido e extenso tem sinalizado a resistência e/ou tolerância de algumas espécies de caramujos (COURA-FILHO et al., 1992; MARTINS et al., 2014; LEAK et al., 2020; ZHENG et al., 2021). Assim, a pesquisa por novos candidatos moluscicidas, de baixo custo de produção e aplicação, biosseguros e com toxicidade seletiva contra estágios embrionários e adultos *B. glabrata* torna-se importante (YADAV; JAGANNADHAM, 2008; ROCHA-FILHO et al., 2015).

Moluscicidas vegetais são candidatos promissores que podem aumentar o escopo para o controle de *B. glabrata*, uma vez que são acessíveis, de fácil manipulação e podem ser encontrados em áreas endêmicas para a esquistossomose (ABDEL-HALEEM, 2013). Além disso, esses vegetais apresentam na sua composição uma variedade de moléculas biologicamente ativas, como as lectinas, grupo diverso de proteínas naturais que se ligam reversivelmente a mono e oligossacarídeos com alta especificidade (LAGARDA-DIAZ; GUZMAN-PARTIDA; VAZQUEZ-MORENO, 2017; NAITHANI et al., 2021). Essas proteínas desempenham um papel fundamental na comunicação celular, bem como glicoproteínas, e na literatura, uma variedade de atividades biológicas tem sido reportada; como moluscicida, antiviral, antibacteriana, antifúngica, inflamatória, nociceptiva, imunoestimulante e antiproliferativa (ALBUQUERQUE et al., 2014; MISHRA et al., 2019; CAVADA et al., 2020; AHMED et al., 2022).

Parkia pendula (subfamília Mimosoideae) é conhecida popularmente como visgueiro e possui ampla distribuição no Brasil (ROSA; CAVALCANTI, 2005). Das suas sementes é possível isolar uma lectina denominada PpeL, a partir do extrato com solução salina (NaCl 0,15 M), fracionamento com sulfato de amônio (0-60%) e cromatografia de afinidade (Sephadex G-75). Tem sido reportado que PpeL pode ser utilizada como marcador de células tumorais (BELTRÃO et al., 2003; RODRIGUES et al., 2008), na redução de infecção viral (FAVACHO et al., 2007), em feridas cutâneas (CORIOLANO et al., 2014) e leishmanicida (CARNEIRO et al., 2020). No entanto, não há relatos da ação do extrato salino e fração de sementes de *P. pendula* frente a *B. glabrata*. Assim, este estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade do extrato salino e fração enriquecida com lectina de sementes de *P. pendula* sobre diferentes estágios embrionários (blástula, gástrula, trocófora, véliger e *Hippo stage*) e adultos *B. glabrata* e seu efeito citotóxico e genotóxico, atividade cercaricida em *S. mansoni* e ecotoxicidade frente à *Artemia salina* .

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

Avaliar a toxicidade do extrato salino e fração enriquecida com lectina de sementes de *Parkia pendula*, PpeL, sobre estágios embrionários e adultos *Biomphalaria glabrata*, cercária de *Schistosoma mansoni* e a ecotoxicidade em ambientes aquáticos.

1.1.2 Objetivos específicos

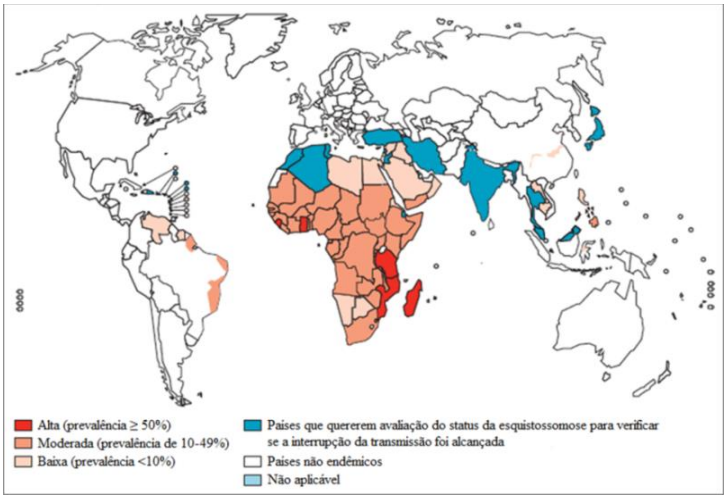
- Obter extrato salino e fração enriquecida com lectina (preparações) de sementes de *P. pendula*;
- Determinar qualitativamente os constituintes presentes nas preparações utilizando Cromatografia de Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Liquida de Alta Eficiência (HPLC);
- Quantificar por métodos físico-químicos os constituintes presentes nas preparações;
- Avaliar a toxicidade das preparações frente aos estágios embrionários (blástula, gástrula, trocófora, véliger e *Hippo stage*) de *B. glabrata*;
- Avaliar a toxicidade e os parâmetros reprodutivos (fertilidade e fecundidade) das preparações sobre *B. glabrata*;
- Avaliar a citotoxicidade e genotoxicidade das preparações em células hemocitárias de *B. glabrata*;
- Avaliar a toxicidade das preparações frente à cercárias de *S. mansoni*;
- Avaliar a ecotoxicidade em ambientes aquáticos das preparações utilizando o bioindicador *A. salina*;

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA ESQUISTOSSOMOSE

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a esquistossomose como uma doença negligenciada que ocorre em regiões tropicais e subtropicais (Figura 1). A esquistossomose é endêmica em 78 países e territórios, acometendo 236,6 milhões de pessoas, no entanto, apenas 105,4 milhões de infectados receberam tratamento, justificando assim, a expansão de casos e óbitos todos os anos (WHO, 2022). De acordo com Estudo da Carga Global de Doenças 2016 (Global Burden of Disease Study), a carga global da esquistossomose é estimada em 1,9 milhões de anos de vida ajustados por incapacidade (HAY et al., 2017).

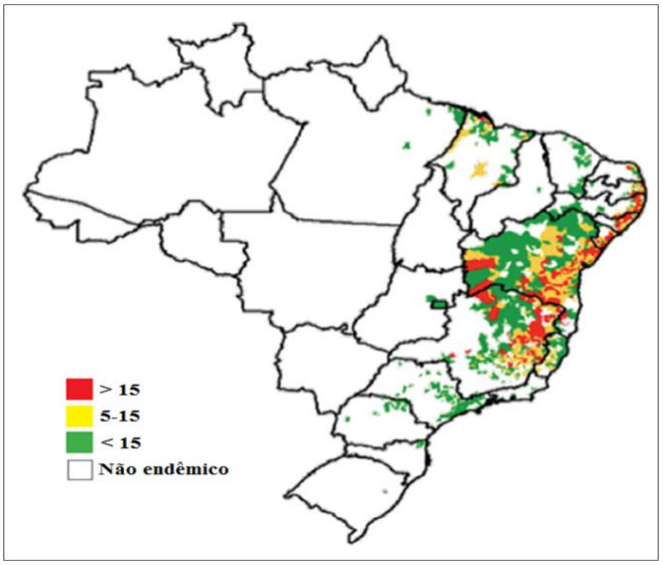
Figura 1 - Distribuição global da esquistossomose.



Fonte: Bustinduy et al. (2014).

No Brasil, a doença apresenta uma ampla distribuição (19 dos 27 estados) (Figura 2) com estimativa de pelo menos 1,5 milhões de pessoas infectadas e outras 25 milhões habitam áreas endêmicas (BRASIL, 2014; MARTINS-MELO et al., 2014; SANTOS et al., 2017; KATZ, 2018). Segundo dados do Sistema de Informação do Programa de Controle da Esquistossomose, nos últimos 10 anos (2009-2019) o percentual de positividade para *S. mansoni* apresentou variações de 5,20 e 2,90% (BRASIL, 2021). Dessa forma, a ocorrência da esquistossomose ainda apresenta prevalência significativa, e nos últimos anos, tem sido evidenciada sua expansão da região rural para regiões urbanas, litorâneas e turísticas, destacando-se como um risco eminente a saúde pública (BARBOSA et al., 2015; FAVRE et al., 2021; PALASIO et al., 2021a; GOMES et al., 2022).

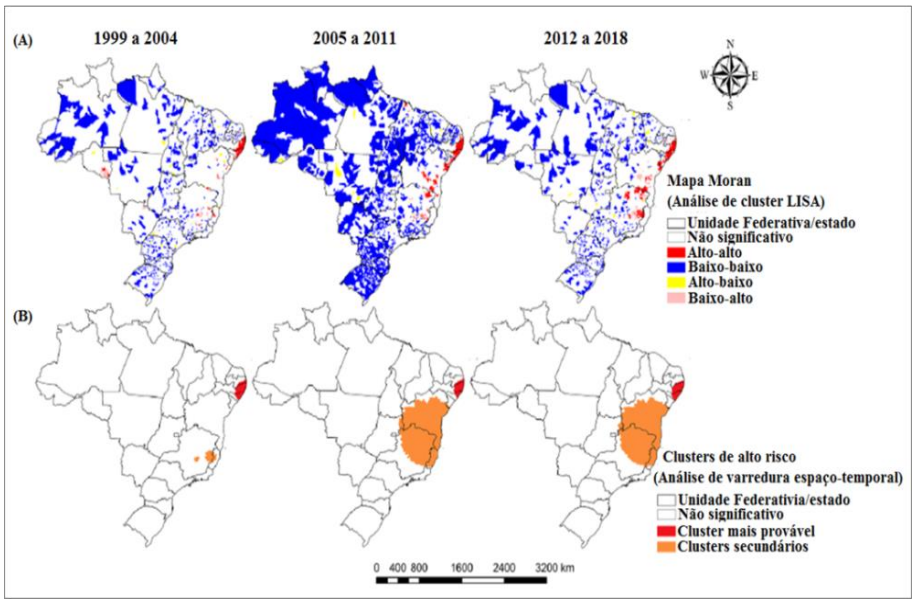
Figura 2 - Distribuição da esquistossomose no Brasil.



Fonte: Katz (2018).

Paz et al. (2021) utilizando métodos estatísticos avaliaram a dinâmica da mortalidade por esquistossomose no Brasil entre os anos de 1999 a 2018 (Figura 3) e reportam 12.251 óbitos por esquistossomose, sendo as regiões Nordeste (65,81%) e Sudeste (31,18%) as mais atingidas pela doença.

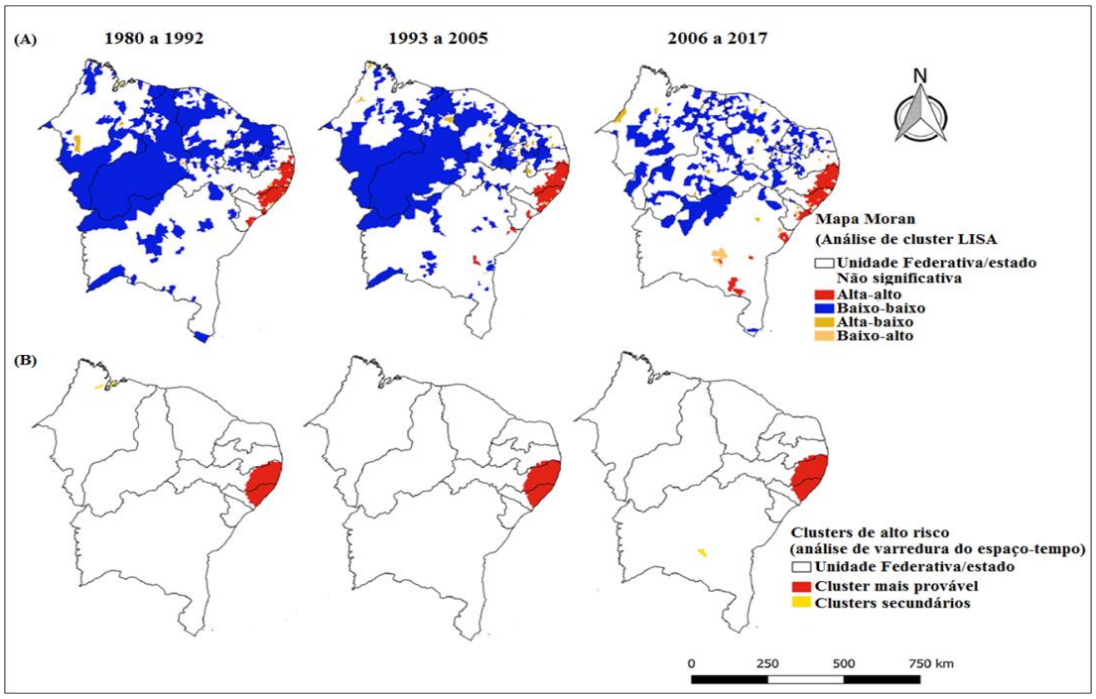
Figura 3 - Mortalidade por esquistossomose no Brasil entre 1999 a 2018. (A) Mapa Moran (B) Análise de varredura espaço-temporal.



Fonte: Paz et al. (2021).

A região Nordeste do Brasil tem apresentado os estados com maiores prevalência de mortalidade (Figura 4), com cerca de 13.779 óbitos entre os anos de 1980 a 2017, sendo predominante no gênero masculino (54,76%), raça parda (48,84%), pessoas com mais de 60 anos (49,24%) e pessoas com menos de 8 anos de estudo ou sem escolaridade (44,14%). Embora a taxa bruta de mortalidade tenha diminuindo de 1,28 (mortes por 100.000 habitantes - 1980) para 0,63 (2017) esse cenário epidemiológico reforça que essa doença é grave e um problema de saúde persistente (PAZ et al., 2020).

Figura 4 - Mortalidade por esquistossomose no Nordeste entre 1980 a 2017. (A) Análise LISA univariada; (B) Análise de varredura espaço-temporal.



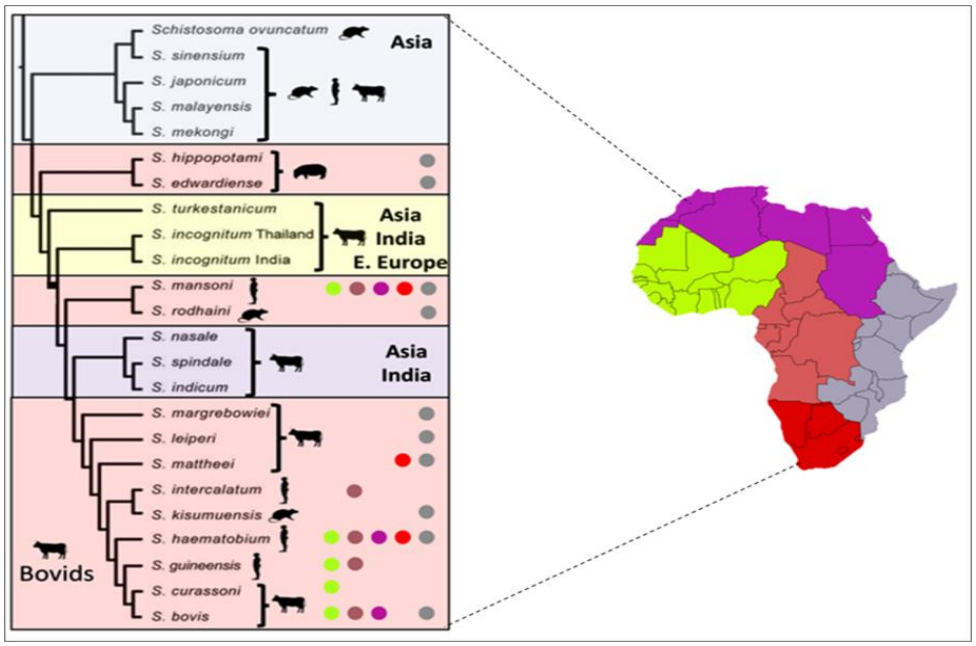
Fonte: Paz et al. (2020).

Dentre os estados do Nordeste, Pernambuco tem se destacado pelo cenário da prevalência e expansão dessa doença, sendo 101 dos seus 185 municípios endêmicos abrangendo a Mesorregião Metropolitana, Zona da Mata e parte do Agreste (BARBOSA et al., 2010; BRASIL, 2018). Entre 2008 a 2014, segundo o Sistema de Informação Hospitalar ocorreram 473 internações por esquistossomose (BARBOSA et al., 2016) e entre 2010-2017, 2,514 casos foram notificados, sendo 1,366 do gênero masculino e 1,148 feminino, com registro de 206 óbitos (BARBOSA et al., 2016; NASCIMENTO; MEIRELLES, 2020).

2.2 GÊNERO *Schistosoma* E CICLO BIOLÓGICO DE *Schistosoma mansoni*

Schistosoma é um gênero que classifica vermes trematódeos causadores da esquistossomose em mamíferos, incluindo humanos, com prevalência em áreas tropicais e subtropicais (KLOHE et al., 2021; WANG et al., 2021a). Até o presente momento, várias espécies foram descritas pertencendo a esse gênero (Figura 5), sendo *S. japonicum, S. haematobium* e *S. mansoni* as que apresentam maior impacto para a saúde humana, com características particulares na morfologia, fisiologia, hospedeiros intermediários e definitivos e distribuição geográfica (BOISSIER et al., 2019; ABOU-EL-NAGA, 2021; REY et al., 2021).

Figura 5 - Espécies de *Schistosoma*, hospedeiros definitivos e sua distribuição geográfica.



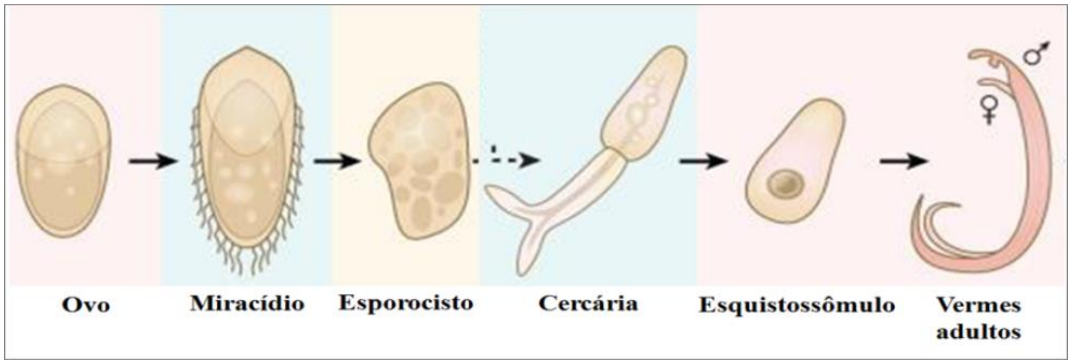
Fonte: Adaptado de Rey et al. (2021).

A espécie *S. japonicum* transmitida pelo caramujo *Oncomelania*, é um dos responsáveis pelo elevado índice de esquistossomose intestinal na Ásia, principalmente na república da China, Filipinas e Indonésia (GORDON et al., 2019; WHO, 2022). Além disso, essa espécie causa doença zoonótica infectando vários mamíferos como búfalos, cabras, cães, ratos e animais selvagens (JIAO-JIAO, 2019; ZOU et al., 2020; NAVARRO et al., 2021; WANG et al., 2021b). Por outro lado, a espécie *S. haematobium* transmitida por caramujo do gênero *Bilinus* é responsável pela esquistossomose urogenital (LOVERDE, 2019; KAYUNI et

al., 2020), com prevalência na África, Oriente Médio e na Córsega (França) (WEPNJE et al., 2019; WHO, 2022).

S. mansoni é a espécie mais prevalente no mundo, sendo transmitida por caramujos do gênero *Biomphalaria*, causando a esquistossomose intestinal (CHUAH et al., 2019; LOVERDE, 2019) e localizada na África, Oriente Médio e na América Latina (especificamente Brasil, Venezuela, Suriname e Caribe) (ABOU-EL-NAGA, 2018; WHO, 2022). Seu ciclo biológico é formado por um hospedeiro definitivo (vertebrado/homem) e um hospedeiro intermediário (invertebrado/caramujo). Apresenta seis estágios de desenvolvimento: ovo, miracídio, esporocistos (mãe e filha), cercária, esquistossômulo e vermes adultos (macho e fêmea) (Figura 6) (HAN et al., 2009; NELWAN, 2019).

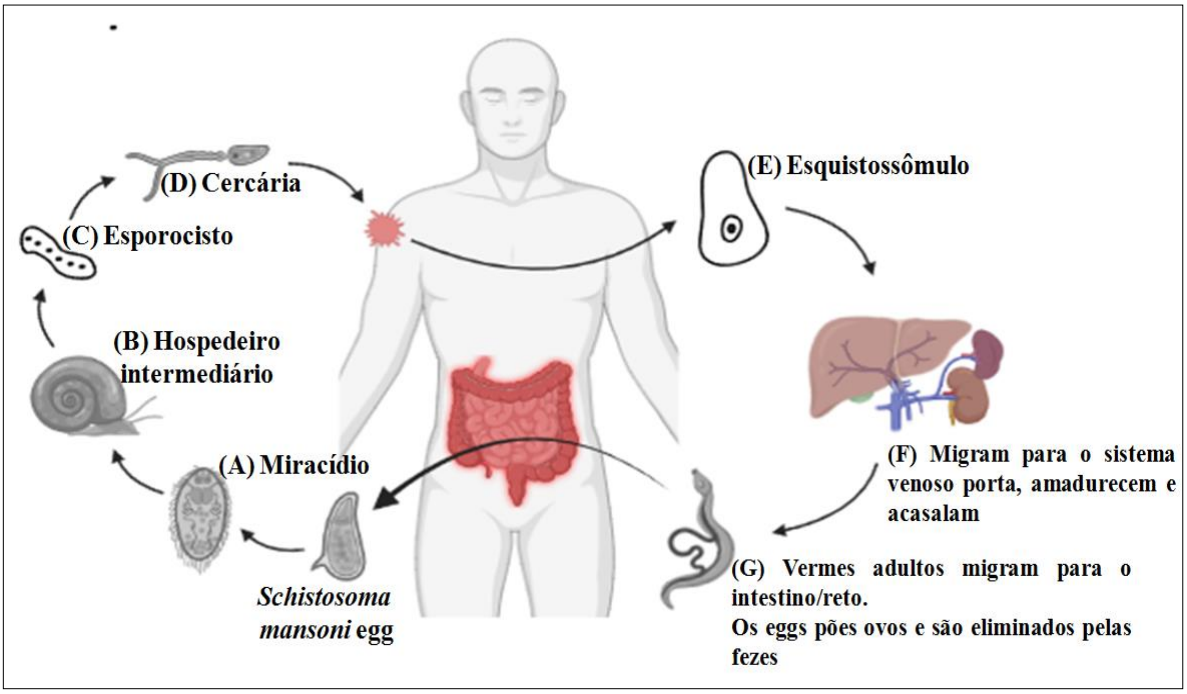
Figura 6 - Etapas do desenvolvimento de *Schistosoma mansoni*.



Fonte: Adaptado de Han et al. (2009).

O ciclo inicia-se após 45 dias de infecção, quando o hospedeiro definitivo (homem) elimina ovos junto às fezes no ambiente aquático, o qual pode permanecer viável por até sete dias (Figura 7). Uma vez em contato com á água, ocorre à dissolução das fezes, liberação, rompimento e eclosão do miracídio, forma larval de vida livre e móvel com várias fileiras de placas ciliadas (Figura 7A), que nada livremente em busca do caramujo (CASTILLO et al., 2019; WANG et al., 2019; KAMEL et al., 2021). Ao penetrar no hospedeiro intermediário (Figura 7B), o miracídio desenvolve-se em esporocisto primário/mãe e se multiplica assexuadamente dando origem ao esporocisto secundário/filho (Figura 7C), que por sua vez sofrem alterações morfofisiológicas resultando na formação de milhares de cercárias (MOUAHID et al., 2018; McMANUS et al., 2020).

Figura 7 - Ciclo biológico do *Schistosoma mansoni*.



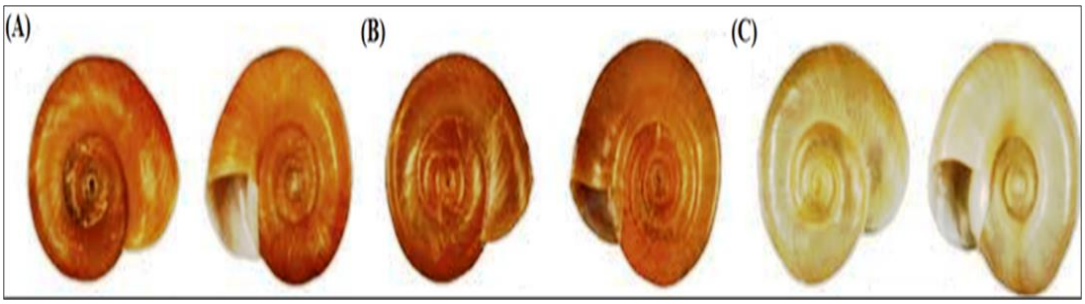
Fonte: O autor (2022).

Desde a penetração do miracídio até a formação das cercárias, aproximadamente, 4-6 semanas, os caramujos sobre os estímulos de luminosidade e temperatura eliminam cercárias no ambiente aquático (Figura 8D). No ambiente aquático as cercárias nadam ativamente até penetrarem na pele ou mucosa do hospedeiro definitivo. Após esse processo, as cercárias perdem a cauda bifurcada, transformando-se em esquistossômulo de pele (GRYSEELS et al., 2006; MAGUIRE, 2015; BOGITSH; CARTER; OELTMANN, 2019; CASTILHO et al., 2019). Posteriormente, os esquistossômulos (Figura 8-E) migram pelo tecido subcutâneo até atingirem um vaso sanguíneo ou linfático, desembocam no coração, alcançam o pulmão transformando-se em esquistossômulo pulmonar, retornam ao coração e são transportados pelo sistema vascular, até alojarem-se no sistema porta-venosa (Figura 8F), dando origem a vermes jovens (macho ou fêmea) (Figura 8-G) (COLLEY; SECOR, 2014; SCHWARTZ; FALLON, 2018; NATION et al., 2020). A partir de então, os vermes completam seu desenvolvimento em vermes adulto, acasalam-se e migram para veias mesentéricas superior, onde a fêmea realiza a oviposição (PILA et al., 2017; CASTILHO et al., 2019). Ovos acumulados no tecido intestinal levam cerca de sete dias para tornarem-se maduro (miracídio formado) e, durante este período eles alcançam a luz intestinal de onde são eliminados junto com as fezes (retomando o ciclo) (ABE et al., 2018; CHUAH et al., 2019).

2.3 CARACTERÍSTICAS DO GÊNERO *Biomphalaria*

O gênero *Biomphalaria* tem se destacado por muitos anos pelo papel epidemiológico que algumas espécies desempenham na transmissão do *S. mansoni*. Estes pertencem ao Filo Mollusca, Classe Gastropode, Subclasse Pulmonata, Ordem Basommatophara e Família Planorbidae (BRASIL, 2008; VINTHER, 2014). No Brasil, existem cerca de 11 espécies de caramujos descrita para esse gênero, sendo três, *B. glabrata*, *B. tenagophila* e *B. straminea* envolvidas na disseminação do *S. mansoni* e que atuam como hospedeiro natural (Figura 8) (SCHOLTE et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2020a; VALLADARES et al., 2021; PALASIO et al., 2021b).

Figura 8 - Conchas dos caramujos do gênero *Biomphalaria*. (A) *Biomphalaria glabrata*; (B) *Biomphalaria tenagophila*; (C) *Biomphalaria straminea*.



Fonte: Adaptado de Brasil (2008).

Algumas características facilitam o reconhecimento desse gênero, como conchas planispiral, diâmetro variando entre 7 a 40 milímetros, tentáculos longos e filiformes, olhos situados na base interna dos tentáculos, boca contornada pela mandíbula e quando vista de frente, apresenta formado de T, colo com abertura genital, sendo a masculina encontrada atrás da base do tentáculo esquerdo e a feminina sob a pseudobrânquia, pé oblongo e na porção cefálica da massa visceral, possui um manto que se dobra formando a cavidade pulmonar (BRASIL, 2008; OHLWEILER et al., 2020).

Os habitats desses caramujos costumam ser nas margens de ecossistemas aquáticos lênticos (lagos, lagoas, reservatórios e/ou pântanos) ou lóticos (rios, riachos e/ou córregos) e se alimentam principalmente de algas, bactérias, excrementos de animais, folhas e outras partes de plantas aquáticas (BAKUZA et al., 2017; LOPES et al., 2017; BEZERRA et al., 2018). Além disso, diversas características são determinantes para o aumento da dispersão desses caramujos, como temperatura variando de 20 a 30 ºC, com tolerância 18 a 32 ºC, pH

entre 7-8, água clara, rasa, lenta e com fundos lamacentos ou rochosos e vegetação nas proximidades (KALINDA; CHIMBARI; MUKARATIRW, 2017; LOPES et al., 2017; STENSGAARD et al., 2018; LEO et al., 2020; HABIB et al., 2021). Com relação à reprodução, são hermafroditos e podem realizar auto fecundação e fecundação cruzada, sendo essa última a forma preferencial (PARAENSE, 1955; VIANEY-LIAUD; DUSSART, 2002).

Dentre as espécies mencionadas, *B. glabrata* tem se destacado pela sua ampla distribuição geográfica e alto índice de infecção por *S. mansoni* (CALASANS et al., 2018). Essa espécie possui propriedades que permitem sua utilização em experimentos de ecotoxicidade de ambiente aquáticos, pois estes caramujos são de fácil manutenção e se reproduz durante o ano em condições controladas (NAKANO et al., 2003; TALLARICO; MIYASATO; NAKANO, 2016). Além disso, vários estudos têm apontado que esses caramujos podem atuar como indicador ambiental, sendo possível analisar diferentes alterações na sobrevivência dos embriões ou caramujos adultos e sua capacidade reprodutiva, bem como as modificações celulares e estruturais do DNA pode ser quantificado (ARAÚJO et al., 2018a,b,c; LIMA et al., 2019; SILVA et al., 2019; SIQUEIRA et al., 2020; ARAÚJO et al., 2021; RIBEIRO et al., 2021a,b).

2.3.1 Características do caramujo *Biomphalaria glabrata*

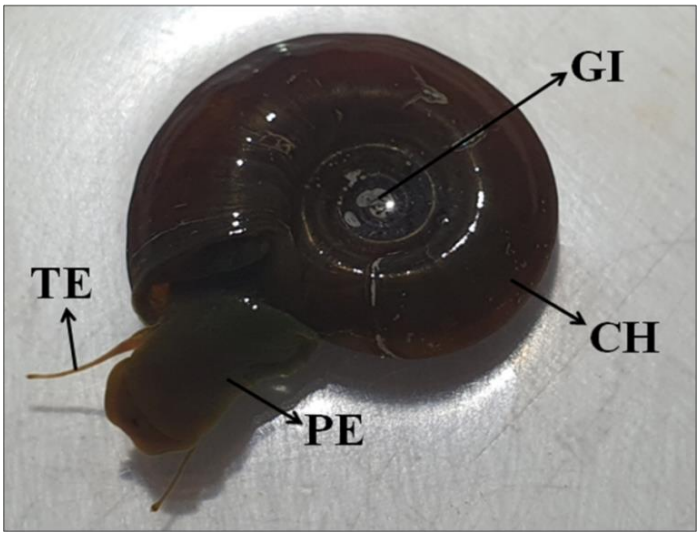
2.3.1.1 Características morfoanatômica

A espécie *B. glabrata* (Figura 9) é considerado o maior caramujo da família Planorbidae e sua concha possui variações no diâmetro (20 a 40 mm), largura (5 a 8 mm) e quantidades de giros (6 a 7 giros) sendo dividida em duas camadas (externa e interna) (BARBOSA, 1995; BRASIL, 2008). A camada externa é responsável por proteger as partes moles e delicadas contra predadores, enquanto a segunda camada é constituída de carbonato de cálcio, componente essencial para o desenvolvimento embrionário, sobrevivência, crescimento, respostas imunológicas, formação e fortalecimento da concha (BECKER et al., 2000; MARXEN et al., 2002; BRASIL, 2008; RODRIGUES et al., 2020).

O corpo do caramujo possui partes moles denominadas de massa cefalopediosa e massa visceral, sendo associada à primeira dois tentáculos longos e filiformes com olhos situados juntos á base. Na parte inferior dos tentáculos e superior da boca encontra-se a mulfla, que contém dois palpos labiais e quando vista de frente, apresenta formado de “T”, sendo protegida pela mandíbula (BARBOSA, 1995; BRASIL, 2008). Os pés são alongados

com função de locomoção e com o auxilio das glândulas podais ocorre à liberação de muco onde o caramujo move-se e prende-se ao substrato (BARBOSA, 1995; LAI et al., 2010).

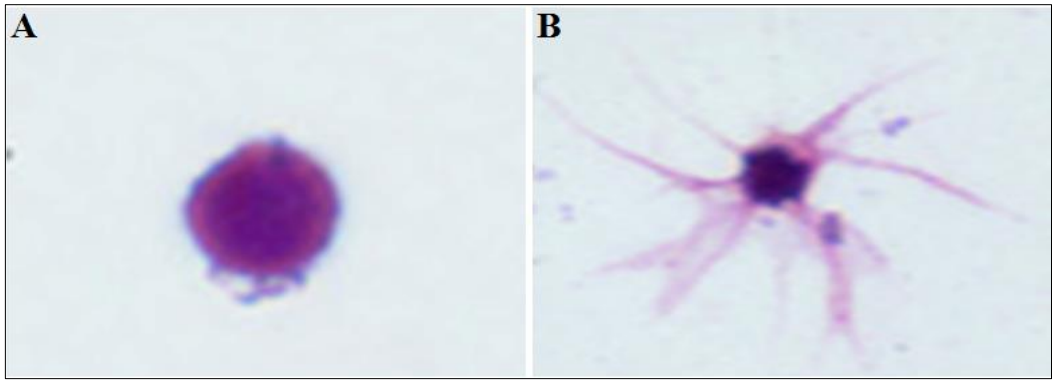
Figura 9 - Caramujo *Biomphalaria glabrata* adulto. Concha (CH); Giro Interno ou Apical (GI); Pé (PE); Tentáculo (TE).



Fonte: O autor (2022).

A hemolinfa, fluido corporal análogo ao sangue, é formada por componentes solúveis (proteínas relacionadas ao fibrinogênio) e hemócitos, o qual forma um sistema de defesa interno (LOCKYER et al., 2008; ABO-AL-ELA; FAGGIO, 2021). De acordo com estudos morfológicos, hemócitos (Figura 10) podem ser divididos em dois tipos principais: Hialinócito (Figura 10A), possuindo pouco ou nenhum grânulo e granulócito (Figura 10B), o qual possui muitos grânulos citoplasmáticos (CAVALCANTI et al., 2012; LADHAR-CHAABOUNI; HAMZA-CHAFFAAI, 2016; PILA et al., 2016; SCHULTZ; ADEMA, 2017; MACHALOWSKI; JESIONOWSKI, 2021). Os hemócitos desempenham um papel central na imunidade inata e estão envolvidos no reconhecimento de corpos estranhos, respostas de encapsulamento, fagocitose e reações citotóxicas (JOHNSTON; YOSHINO, 2001; BURGOS-ACEVES; FAGGIO, 2017; HUANG et al., 2018; MONTE et al., 2019).

Figura 10 - Diferenciação morfológica de hemócitos de *Biomphalaria glabrata*. (A) Hialinócito e (B) Granulócito.

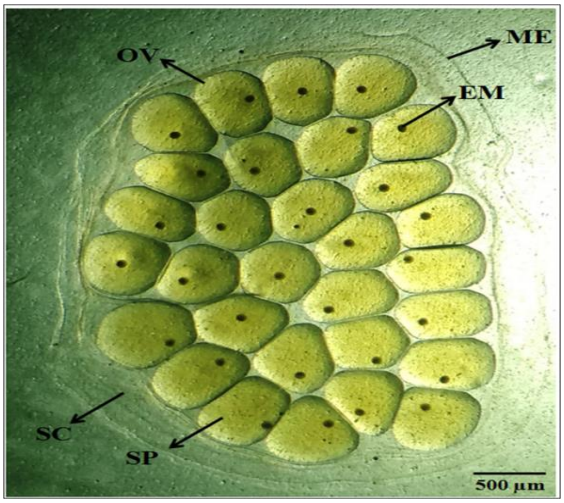


Fonte: Adaptado de Araújo et al. (2021).

O sistema digestivo é completo, sendo constituídos pela boca, cavidade bucal, estômago, intestino, reto e ânus (BRASIL, 2008). O sistema genital é formado pelo ovoteste, um órgão hermafrodito que produz as células reprodutivas e através do ovispermiduto, ocorre à maturação do espermatozóide pelas vesículas seminais e o envolvimento dos ovos pela glândula do álbumem no qual se bifurca, diferenciando-se em partes masculina e feminina (BRASIL, 2008; CARVALHO; COELHO; LENZI, 2008; PARAENSE, 2008).

Quando adulto, os caramujos põem diariamente cerca de 20–50 ovos em uma única camada, formando uma cápsula transparente rica em galactogênio, proteínas, glicogênio, polissacarídeos e lipídios liberados pela glândula do álbumem, os quais ficam agrupados envoltos por uma membrana externa protetora, formando a massa ovígera (Figura 11) (OLIVEIRA-FILHO et al., 2010; TALLARICO et al., 2014; MELO et al., 2019). A postura dos ovos ocorre normalmente à noite em superfícies como plantas, pedras, madeiras, pedaço de isopor, conchas de outros moluscos e recipientes de plástico e/ou vidro, e o desenvolvimento embrionário até a eclosão levam cerca de 7-9 dias, tornando-se consistentes e amareladas e sendo possível visualizar ao longo do desenvolvimento com seus estágios bem definidos e facilmente reconhecíveis (NAKANO et al., 2003; TALLARICO et al., 2014; SILVA et al., 2020a).

Figura 11 - Massa ovígera de *Biomphalaria glabrata* no estágio de blástula. Membrana Externa (ME); Ovo (OV); Embrião (EM); Substância Coloidal (SC); Substância Perivitelimica (SP).

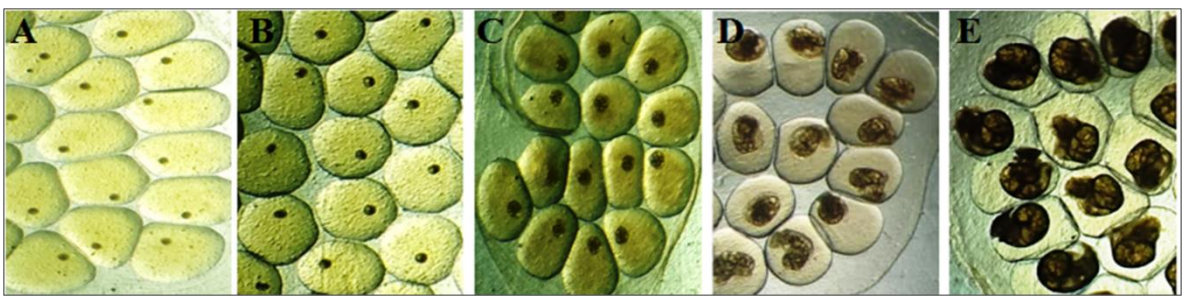


Fonte: O autor (2022).

2.3.1.2 Desenvolvimento embrionário

A diversidade celular apresentada pelo *B. glabrata* inclui diferentes transformações, seja na sua diferenciação (produção e organização de diversos tipos de células), morfogênese (organização das diferentes células em tecidos e órgãos), crescimento (aumento do tamanho e número celular) e reprodução, responsável pela geração de novos indivíduos (KAWANO; NAKANO; WATANABE, 2008). Por volta da década de 70, os estágios embrionários foram caracterizados e classificados em blástula, gástrula, trocófora, véliger e *Hippo stage* (Figura 12).

Figura 12 - Estágios embrionários de *Biomphalaria glabrata*. (A) Blástula; (B) Gástrula; (C) Trocófora; (D) Véliger; (E) *Hippo stage*. Escala = 300 µm.



Fonte: O autor (2022).

Durante o desenvolvimento, um ovo de *B. glabrata* (100 µm de diâmetro), passa por uma série de clivagens, formando várias células denominadas blastômeros, até alcançar o estágio de blástula entre 10ª a 23ª horas (Figura 12A). Dessa forma, é possível observar o corpúsculo polar e mitoses, não ocorre aumento do volume celular. Após 24ª a 39ª horas da primeira clivagem, alcança o estágio de gástrula (Figura 12B) acarretando no crescimento, diferenciação e movimentação celular, levando ao embrião modificar sua forma arredondada para achatada. Em seguida, entre 40ª e 80ª horas observa-se a formação do prototroco no estágio de trocofora (Figura 12C), sendo responsável pela divisão do embrião em pré-trocal, contendo uma placa apical (sete células), duas cefálicas (levando a formação dos olhos e tentáculos) e vesícula cerebral (12 células) e na região pós-trocal encontra-se a boca e em sentido oposto a glândula da concha. Entre 80ª e 120ª horas acontece o estágio de véliger (Figura 12D) com a formação dos olhos, aumento dos tentáculos, desenvolvimento do pé e da concha. No entanto, a pigmentação dos olhos, tentáculos e o enrolamento da concha com miniatura do caramujo adulto é observado apenas após 144ª horas no estágio *Hippo stage* (Figura 12E) (CAMEY; VERDONK, 1969; KAWANO; OKAZAKI; RÉ, 1992; KAWANO; NAKANO; WATANABE, 2008).

2.4 MOLUSCICIDAS NO CONTROLE DA ESQUISTOSSOMOSE

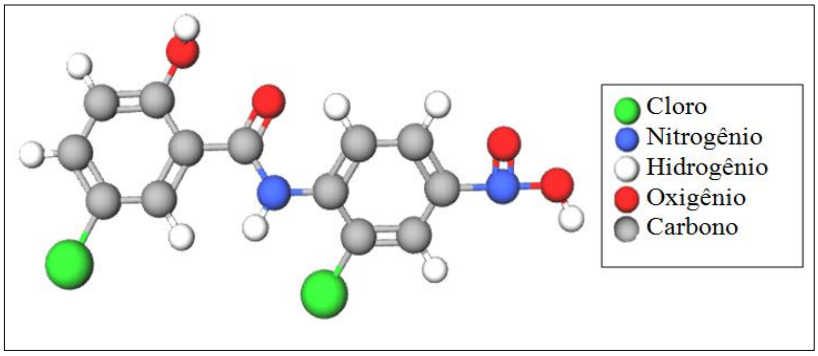
Moluscicida é uma substância utilizada com o objetivo de eliminar e/ou reduzir caramujos com importância na medicina humana e veterinária e agroindustrial (BUSTINDUY; KING, 2014; ZHENG et al., 2021). Para que um moluscicida seja considerado eficiente, uma série de características é desejada, como a eliminação de fases do ciclo de vida do caramujo, efetividade em baixas concentrações, baixo custo, facilidade de aplicação e transporte, letalidade seletiva e atóxica ao homem e ao meio ambiente (YANG et al., 2012; HUANG, 2019; YI-XIN, 2019).

Tendo em vista o aumento de casos de esquistossomose, a interrupção do ciclo de vida do agente infeccioso, através do controle de caramujos vetores, torna-se essencial para impedir a sua transmissão. Neste contexto, os moluscicidas tem se tornado uma estratégia de intervenção eficaz, rápida e conveniente para prevenir a propagação de espécies de *Schistosoma* em regiões endêmicas (COELHO; CALDEIRA, 2016; AUGUSTO et al., 2017; AUGUSTO; MELLO-SILVA, 2018).

2.4.1 Niclosamida

A niclosamida (5-cloro-N-(2-cloro-4-nitrofenil)-2-hidroxibenzamida (NCL) é um composto presente na lista de medicamentos essenciais da OMS, foi descoberta em 1953 pelos laboratórios de pesquisa de quimioterapia da Bayer e seis anos depois comercializada como Bayluscida, amplamente utilizada para o controle da esquistossomose (ANDREWS; THYSSEN; LORKE, 1983; CHEN et al., 2018). Este composto apresenta peso molecular de 327,12 g/mol, forma de cristais amarelo pálido e praticamente insolúvel em água e solúvel em etanol, clorofórmio e éter (BARBOSA et al., 2019). Além disso, NCL possui vários locais de ligação de hidrogênio (NO_2, OH e grupos carbonilo) e dois átomos de Cl que podem formar ligações de halogênio (Figura 13) (HARRISS; WILSON; EVANS, 2014; KADRI; LAMBOURNE; MEHELLOU, 2018).

Figura 13 - Estrutura molecular da niclosamida.



Fonte: O autor (2022).

NCL, baixas concentrações, tem mostrado ser efetivo contra diferentes estágios embrionários (ARAÚJO et al., 2018a; MELO et al., 2019; SIQUEIRA et al., 2020; ARAÚJO et al., 2020a; RIBEIRO et al., 2021ab) e adultos *Biomphalaria* (ARAUJO et al., 2018a; FARIA et al., 2018). Além disso, é tóxico contra cercárias de *S. mansoni*, estágio de vida infeccioso para o homem (ARAÚJO et al., 2020b; LÓPEZ-HERNÁRDEZ et al., 2019; SILVA et al., 2020b). No entanto, o mecanismo de ação da NCL ainda não foi completamente elucidado. Acredita-se que sua atividade atue na respiração e no metabolismo de carboidratos, inibindo a fosforilação anaeróbica do difosfato de adenosina pela mitocôndria do parasita, que é o processo de obtenção de energia dependente da fixação de CO_2 (ANDREWS; THYSSEN; LORKE, 1983; CHEN et al., 2018).

Embora a NCL venha sendo utilizada até os dias atuais, este composto sintético tem apresentado uma série de desvantagens. Estudo avaliando o destino ambiental da NCL demonstrou que ela é resistente à hidrólise em diferentes pHs por mais de 4 meses, enquanto sua cinética de degradação em sistemas de sedimento/água de rios e lagoas produz meia-vida de 1-9 dias (GRAEBING et al., 2004). O composto apresenta alteração no metabolismo lipídico em larvas de *D. rerio* (ZHU et al., 2020) e efeito acumulativo em diferentes peixes de água doce (LIU et al., 2015, 2018), com frequências de detecção de 70,4% no fígado, 18,8% no rim, 7,8% no baço e 3% na carne (CIRKOVIC et al., 2015). Nos vegetais, esse composto afeta o crescimento e biomassa (LEAK et al., 2020). Além disso, pode ser absorvido no solo e migrar da raiz para o caule, onde pode permanecer cerca de 43 dias (LUO et al., 2018). Nesse contexto, considerando a crescente demanda pela NCL e os efeitos adversos apresentados, sua utilização precisa ser repensada por apresentar problemas para o meio ambiente. Portanto, tornam-se necessários a busca por novos moluscicidas que atuem de forma seletiva para o hospedeiro intermediário e apresente menor ecotoxicidade.

2.4.2 Moluscicida de origem vegetal

O interesse em estudar substâncias obtidas de plantas, com atividade moluscicida tem crescido nos últimos anos. Para que essas moléculas sejam consideradas eficientes, devem-se ter suas propriedades analisadas em testes laboratoriais, material disponível em quantidade suficiente e, se necessário, capaz de fácil propagação em regiões endêmica para a esquistossomose. Além disso, essas moléculas devem ser solúveis em água e facilmente extraíveis da fonte vegetal, com atividade para todas as fases de desenvolvimento do caramujo e baixa toxicidade frente a organismos não alvos, incluindo humanos (EVANS, 2009).

O primeiro estudo a ser realizado com substância obtida de planta, com efeito, moluscicida data de 1930, quando Archibald (1933) publicou seu trabalho com *Balanites aegyptica*, nativa do deserto do Sudão. Estudos de laboratório e de campo demonstraram que os frutos dessa espécie apresentam-se como uma alternativa eficiente para o controle da esquistossomose com propriedades tóxicas frente a caramujos do gênero *Planorbis*, miracídio e cercárias de *Schistosoma* spp. No Brasil, o primeiro estudo utilizando *B. glabrata* iniciou com os extratos aquosos do caule de *Serjania* spp. e dos frutos de *Sapindus saponaria* sendo conhecidas popularmente como cipó-timbó e saboneteira, respectivamente e sua ação ~~foi~~ atribuída a presença de saponinas nestes vegetais (PINTOS; ALMEIDA, 1944).

Tendo em vista os efeitos promissores de extratos vegetais como moluscicida, foi realizada uma busca nas fontes de dados Science Direct, PUBMED e Google Scholar através do cruzamento dos descritores “plant extract”, “molluscicide activity”, “snail”, “*Biomphalaria glabrata*” e “schistosomiasis”, limitando-se a busca aos últimos 20 anos (2001-2021) para artigos publicados em inglês cuja temática abordavam avaliação em diferentes estágios evolutivos de *B. glabrata* e ao agente infeccioso da esquistossomose bem como sua ecotoxicidade ambiental. Como observado na Tabela 1, 15 artigos englobaram os critérios de seleção e neles 38 espécies vegetais foram exploradas como moluscicida. Com relação à parte botânica, as folhas (33%), partes aéreas (14%), raízes (13%) e cascas (13%) foram às partes mais utilizadas. Quanto aos tipos de extratos, o etanólico (62%), metanólico (17%) e hidroalcoólico (12%) se destacaram e os constituintes majoritários foram flavonóides (17%), alcalóide (15%), taninos condensados (9%) e esteroide (9%). Poucos estudos avaliaram o efeito embriotóxico, limitando-se apenas ao caramujo adulto. Além disso, apenas um trabalho avaliou o efeito frente à cercárias *S. mansoni*. Embora uma diversidade de espécies vegetais tenha sido reconhecida como moluscicida, observa-se que o conhecimento sobre sua toxicidade ambiental frente a organismos não alvos ainda é limitado.

Tabela 1 - Estudos realizados nos últimos 20 anos com extratos de plantas como agente moluscicida frente a caramujo *Biomphalaria glabrata*.

Nº	Referência	Ano	Espécie vegetal	Preparação do extrato			Moluscicida		Cercária	Ecotoxicidade	
	Autor			Parte utilizada	Tipo de extrato	Principais constituintes	Embriões	Caramujo adulto		*Artemia salina*	*Danio rerio*
1	Diallo et al.	2001	*Glinus oppositifolius*	PI	ED, EM	-	-	X	-	-	-
			Ostryoderris stuhlmanii		EM	-	-	X	-	-	-
2	Bezerra et al.	2002	*Stryphnodendron adstringens*	F, C	EE	TC, FL	-	X	-	-	-
			Stryphnodendron polyphyllum	F, C	EE	TC, FL	-	X	-	-	-
			Dimorphandra mollis	F, C	EE	FL, CU, TC	-	X	-	-	-
			Caryocar brasiliensis	F, C	EE	TC, TH, FL, TE	-	X	-	-	-
			Eugenia dysenterica	F, C	EE	TC, FL, CU, AC	-	X	-	-	-
			Annona crassiflora	C	EE	FL, TC	-	X	-	-	-
3	Luna et al.	2005	*Annona muricata*	F	EE	FL, XA, ES	X	X	-	X	-
			Marsdenia altissima	CM	EE	FL, XA, ES, TR	X	X	-	X	-
			Caesalpinia echinata	M	EE	AF, FL, XA, HE, TR	X	X	-	X	-
4	Silva et al.	2006	*Solanum agrarium*	F, FR, R	EE, EM	AL	-	X	-	-	-
			Solanum jabrense	R, PA,	EE, EM	AL	-	X	-	-	-
			Solanum megalonyx	PA	EE, EM	AL	-	X	-	-	-
			Solanum melissarum	R	EE	AL	-	X	-	-	-
			Solanum paludosum	PA	EE	AL	-	X	-	-	-

Continuação...

4	Silva et al.	2006	*Solanum paraibanum*	PA, F,	EE	AL	-	X	-	-	-
			Solanum stipulaceum	R	EE	AL	-	X	-	-	-
5	Santos et al.	2007	*Euphorbia conspicua*	F	EP	-	X	X	-	X	-
6	Naressi et al.	2012	*Ficus radicans*	F	EE		-	X	-	-	-
7	Santos et al.	2012	*Jatropha mollissima*	F, CC, R	EE	-	-	X	-	-	-
			Mimosa tenuiflora	F, CC, R	EE	-	-	X	-	-	-
			Croton moritibensis	F, PA	EE	-	-	X	-	-	-
			Scoparia dulcis	PA	EE	-	-	X	-	-	-
			Helicteres velutina	PA	EE	-	-	X	-	-	-
			Chenopodium ambrosioides	PA	EE	-	-	X	-	-	-
			Poincianella pyramidalis	F, CC, R	EE	-	-	X	-	-	-
			Hyptis pectinata	PA	EE	-	-	X	-	-	-
8	Rapado et al.	2013	*Piper tuberculatum*	R, F, FR	EM	-	X	X	-	-	X
9	Silva et al.	2013	*Moringa oleifera*	S	PS	-	-	X	-	-	-
10	Pereira Filho et al.	2014	*Jatropha gossypiifolia*	C, F, FR	EH	CA, SA, TR, AL, TA, ES	-	X	-	-	-
11	Rocha-Filho et al.	2015	*Moringa oleifera*	FL	EA	TA, SA, FL, XA	X	X	X	X	-
12	Sá et al.	2016	*Anadenanthera colubrina*	C	EM	TA, AC, FE	X	X	-	X	-
13	Faria et al.	2018	*Manilkara subsericea*	F	EH	MI, QE, AU	-	X	-	-	-

Continuação...

14	Mendes et al.	2018	*Avicennia schaueriana*	F, CC	EH	ES, CU	-	X	-	-	-
			Laguncularia racemosa	F, CC	EH	TA, SA, AL, ES, CU	-	X	-	-	-
			Rhizophora mangle	F, CC	EH	TA, SA, AL, TR, ES, CU	-	X	-	-	-
15	Silva et al.	2020a	*Persea americana*	CC	EE	FE, FL HÁ, CU, TA	X	X	-	-	-

Parte utilizada: F: folhas, FR: frutos, R: raiz, C: casca, CM: casca da madeira, M: madeira, CC: casca do caule, FL: flor, PA: parte aérea, S: sementes, PI: planta inteira. **Tipo de extrato:** EA: extrato aquoso, EE: extrato etanólico, EH: extrato hidroalcoólico, EM: extrato metanólico, EP: extrato polar, PS: pó das sementes, ED: extrato diclorometano. **Constituintes encontrados:** CU: cumarina, FL: flavonóides, TE: terpenóides, AF: ácido fenólico, TC: tanino condensado, TH: tanino hidrolisado, SA: saponinas, XA: xatonas, TA: tanino, TR: triterpenóides, AL: alcalóide, CA: catequina, ES: esteróide, FE: fenóis, HE: heterosídios, MI: mirecitina, QE: quercetina, AV: ácido ursólico, HÁ: heterosídeos de antraquinonas, AC: açúcares.

2.5 TESTES ECOTOXICOLÓGICOS

2.5.1 Ensaio com *Artemia salina*

O gênero *Artemia* (Crustácea, Anostraca) compreende seis espécies sexuais (*A. urmiana*, *A. tibetiana*, *A. sínica*, *A. salina*, *A. persimilis* e *A. franciscana*), no quais apresentam características comuns como adaptabilidade a amplas faixas de salinidade (5-250 g L^{-1}) e temperatura (6-35 °C), ciclo de vida curto, reprodução bissexual/partenogenética (com produção de náuplios ou cistos), tamanho corporal pequeno e recursos nutritivos variados (NUNES et al., 2006; GAJARDO; BEARDMORE, 2012).

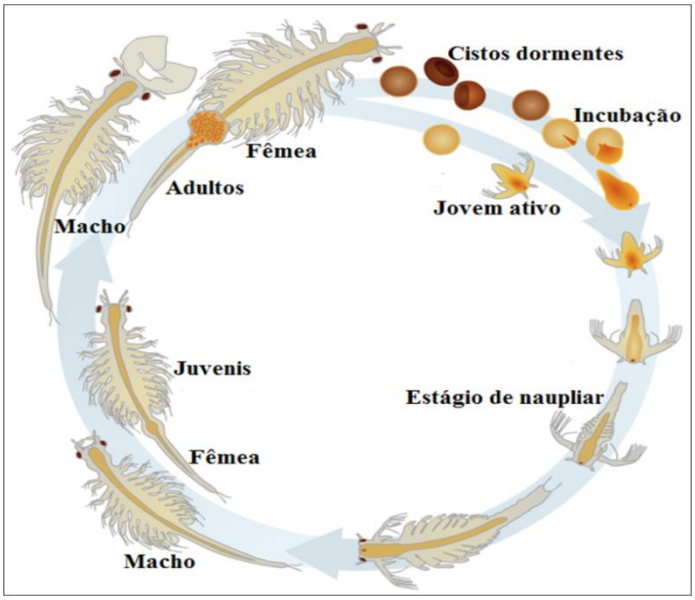
O corpo desses crustáceos é formado por cabeça, olhos compostos, lábio, antenas, mandíbulas, maxilas, tórax contendo 11 segmentos, enquanto o abdômen é composto por oito. Os dois segmentos abdominais anteriores são frequentemente referidos como segmentos genitais e destes, o primeiro carrega os gonópodes, responsável pelo útero da fêmea ou as penes emparelhadas do macho. Todo o corpo é coberto por um exoesqueleto fino e flexível de quitina, à qual os músculos são fixados internamente (CRIEL; MACRAE, 2002; DHONT et al., 2013).

O ciclo de vida (Figura 14) inicia-se quando fêmeas grávidas produzem filhotes por meio das vias ovovíparos (náuplios nadadores livres) ou ovíparos (estágio dormente) (MUNTEANU, 2011; WEN-MING et al., 2013). Os cistos dormentes estão inicialmente em diapausa, seguindo as condições ambientais e mudanças endógenas fazendo com que o embrião entre em um estado quiescente, que é então preparado para incubação em condições adequadas (MA et al., 2013; IRYANI et al., 2020; MARDEN; BROWN; BOSTEELS, 2020; SELLAMI; NACEUR; KACEM, 2021). Após a eclosão, os náuplios passam por vários estágios até atingir a fase adulta madura (MARDEN; BROWN; BOSTEELS, 2020).

Dentre as espécies mencionadas, *A. salina* tem se destacado na literatura pela sua ampla aplicação em testes ecotoxicológicos frete a moléculas obtidas de fontes vegetais (LUNA et al., 2005; ROCHA-FILHO et al., 2015; SÁ et al., 2016) ou outros compostos (nanomateriais, microplásticos e/ou metais iônicos) (MADHAV et al., 2017; WANG et al., 2017; DANABAS et al., 2020). Dessa forma, os estudos laboratoriais consistem na exposição dos náuplios por cerca de 24-48 horas (fases II ou III) em diferentes concentrações da amostra analisada para a observação do número de organismos mortos ao final do período de exposição (PACHECO et al., 2021). Com isso, a utilização dessa espécie torna-se vantajosa, tendo em vista que o ensaio é prático, apresenta baixo custo e os resultados são capazes de ser

produzidos rapidamente (RUEBHART; COCK; SHAW, 2008; FREIRES et al., 2017). Além disso, os cistos são encontrados comercialmente e não precisam de aprovação ética, tendo em vista que são invertebrados (KHABIB et al., 2022).

Figura 14 - Ciclo de vida da *Artemia*.



Fonte: https://learn.genetics.utah.edu/content/gsl/artemia/

2.6 GÊNERO *Parkia*

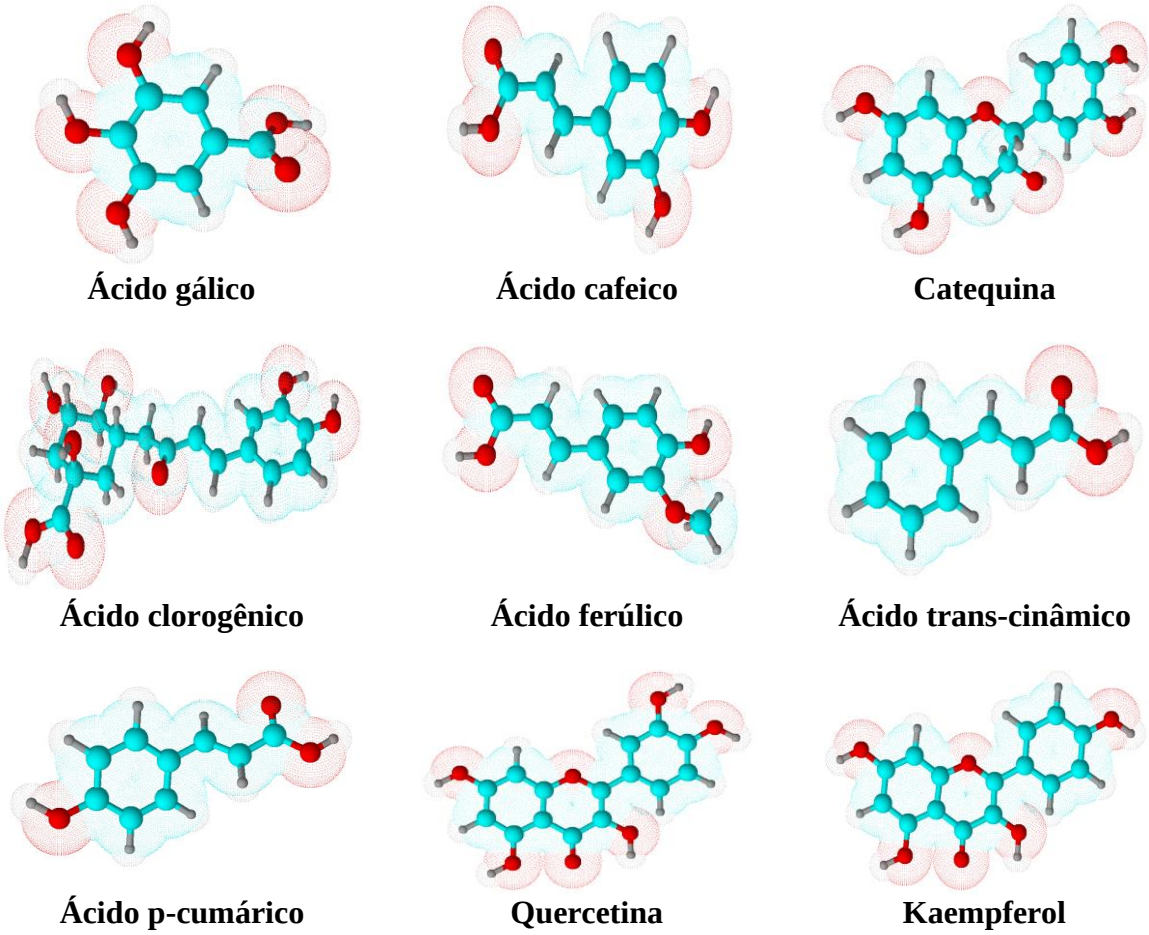
Parkia pertence a um gênero botânico com aproximadamente 35 espécies reconhecidas em três seções taxonômicas (*Parkia*, *Platyparkia* e *Sphaeroparkia*), sendo amplamente distribuídas em florestas tropicais e savanas na América do Sul e Central, África-Madagascar e região Indo-Pacífico (LUCKOW; HOPKINS, 1995; LUCKOW, 2005; OLIVEIRA et al., 2021). No Brasil, a bacia amazônica é a região com maior riqueza de espécies e diversidade morfológica para esse gênero, contendo 54% das espécies conhecidas, sendo representada por árvores ou arbustos de grande porte (3 a 45 m) (HOPKINS, 1983, 1986; OLIVEIRA et al., 2021).

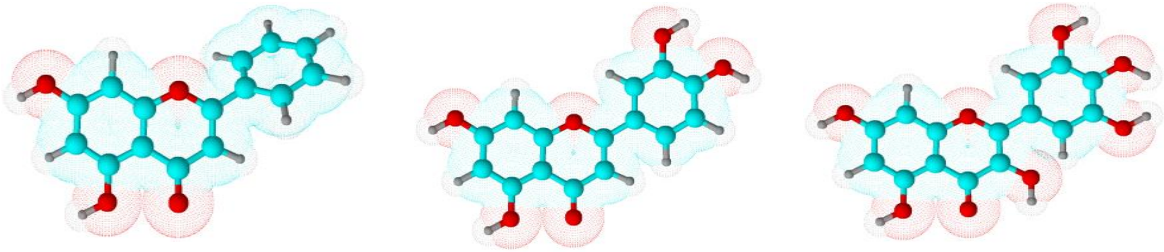
Na medicina popular, diferentes partes de *Parkia* são utilizadas na forma de pasta ou decocção para o tratamento de diabetes (MONDAL et al., 2013), doenças relacionadas à pele, como eczema, úlceras, sarampo, lepra, ferida, dermatite, varicela, sarna e micose (SRISAWAT; SUVARNASINGH; MANEENOON, 2016; SINGH, 2019), na tosse e bronquite grave (KOUADIO et al., 2000; FOTIE et al., 2004; ONG; ZUKI; MILOW, 2011). Quanto a composição química, maior atenção tem sido atribuída as espécies *P. biglobosa*, *P.*

speciosa, *P. timoriana*, *P. bicolor*, *P. clappertoniana*, *P. discolor*, *P. roxburghii*, *P. filicoidea*, *P. pendula*, *P. platycephala* e *P. javanica* das quais é possível isolar fenóis, flavonóides, açúcares, proteínas, ácidos graxos, taninos, terpenóides, esteróides, saponinas, alcalóides, glicosídeos e antraquinonas (Figura 15) (CAVADA et al., 2020; SALEH et al., 2021).

Com relação aos efeitos biológicos, esses metabólitos foram reconhecidos por apresentarem atividades antioxidade (BUATHONGJAN et al., 2020; DUBEY et al., 2020), antimicrobiana (RAVICHANDRAN et al., 2019; AGUDA; LATEEF, 2021), antibacteriano (AKPOR et al., 2021; DABIRÉ et al., 2021), antidiabético (EKPERIKPE; OWOLABI; OLAPEJU, 2019), antiinflamatório (IBRAHEEM et al., 2022) e moluscicida (LEMIICH et al., 1996).

Figura 15 - Constituintes químicos identificados em espécies do gênero *Parkia*.





Crisina **Luteolina** **Miricetina**

Fonte: O autor (2022).

2.7 *Parkia pendula*

Parkia pendula é conhecida popularmente como “visgueiro”, pertencendo a Família Fabaceae e Subfamília Mimosoideae com distribuição na região Norte (Acre, Amazonas, Amapá, Pará, Rondônia, Roraima, Tocantins), Nordeste (Alagoas, Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Sergipe), Centro-Oeste (Mato Grosso) e Sudeste (Espírito Santo) (Figura 16A) (LORENZI, 2002; OLIVEIRA; HOPKINS, 2020b). Caracteriza-se por ser uma árvore de grande porte (Figura 16B), copa larga e plana, casca avermelhada, folhas grandes e folíolos finos (Figura 16C), flores férteis na porção média e basal (Figura 16D) e os frutos vagens glabros e não lenhosa (10-25 sementes/vagem) (Figura 16E) envolta por uma substância viscosa chamada de goma ou resina (Figura 16F) e suas sementes viáveis anualmente (Figura 16G) (SALMAN et al., 2008; SAMBUICHI et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2021).

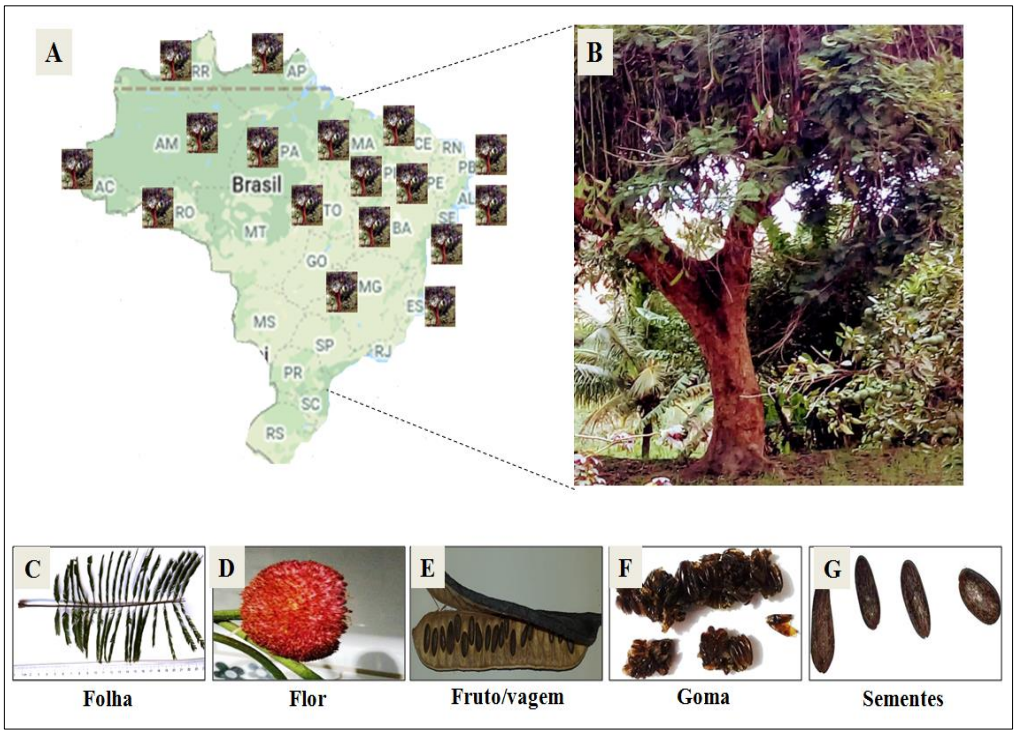
Estudos têm comprovado a presença de compostos e algumas propriedades biológicas das diferentes partes de *P. pendula*, tais como:

a) Folhas - O extrato apresenta três aleloquímicos denominados ácido 3,4,5-trimetoxibenzóico, ácido 3,4-dimetoxibenzóico e Blumenol A com baixo efeito inibitório na germinação de sementes e efeito alelopático dependente da concentração (SOUZA-FILHO; FONSECA; ARRUDA, 2005).

b) Goma - O polissacarídeo encontrado apresenta alto peso molecular e viscosidade, com proteínas e percentuais de carboidrato elevado contendo galactose, arabinose, ácido glucurônico e ácido 4-O-metilglucurônico na sua composição (ANDERSON; PINTO, 1985). A capacidade adesiva desse carboidrato e sua utilização como fonte alimentícia para diferentes espécies de vertebrados têm sido relatadas (PERES, 2000; PIECHOWSKI; GOTTSBERGER, 2009). Além disso, demonstrou ser uma matriz polissacarídica magnética promissora para a imobilização da lectina Concanavalina A e sua aplicação permite fácil recuperação no campo magnético (RÊGO et al., 2014).

c) Sementes - A partir do extrato salino (NaCl 0,15 M), fracionamento com sulfato de amônio e cromatografia de afinidade foi possível obter uma lectina denominada PpeL (CORIOLANO et al., 2010). Esta foi utilizada na cristalização por método de difração de raio-X (LOMBARDI et al., 1998), marcador histoquímico na diferenciação de tumores meningotelial e diagnóstico clínico-patológico (BELTRÃO et al., 2003), infectividade por citomegalovírus humano, demonstrando ser uma alternativa para o desenvolvimento de droga antiviral (FAVACHO et al., 2007), caracterização morfológica de células animais normais e transformadas, principalmente tumor venéreo transmissível, auxiliando na formação do diagnóstico clínico (RODRIGUES et al., 2008) e efeitos significativos no processo de reparo de feridas cutâneas em camundongos saudáveis e imunossuprimidos (CORIOLANO et al., 2014). Recentemente, Carneiro et al. (2020) sequenciou os aminoácidos e a estrutura tridimensional da PpeL demonstrando que o extrato salino e a lectina pura apresentam massa molecular de 47 kDa, atividade hemaglutinante a vários açúcares, incluindo manose, α-metil-D-manopiranosídeo, glicose e N-acetil-D-glucosamina, com sua estrutura primaria contendo 447 resíduos de aminoácidos e três locais de glicosilação na sequência. Além disso, as preparações estudadas apresentaram efeito inibitório no desenvolvimento de *Leismania infantum*.

Figura 16 - Distribuição geográfica no Brasil e as principais partes de *Parkia pendula*.



Fonte: O autor (2022).

2.8 LECTINAS DE PLANTAS

As plantas são constituídas de metabólitos primários e secundários, sendo o primeiro desempenhando funções essenciais como crescimento e/ou desenvolvimento, enquanto o segundo está direcionado com as relações interespecíficas e no mecanismo de ação (HARTMANN, 2007; FERNIE; PICHERSKY, 2015; ERB; KLIEBENSTEIN, 2020). Dentre os componentes primários, destacam-se as lectinas, caracterizadas como uma classe de proteínas com alto grau de especificidade para reconhecer várias estruturas de carboidratos e formar ligações reversíveis após interação com complexos de glicoconjugados (LAM; BUN NG, 2011; MISHRA et al., 2019; TSANEVA; VAN DAMME, 2020; CONINCK; DAMME, 2021).

Tendo em vista a sua diversidade, as lectinas são consideradas de grande importância na interação patógeno-hospedeiro, desenvolvimento, sinalização celular e comunicação célula-célula, além de fornecer proteção às plantas contra microorganismos fitopatogênicos, insetos e animais predadores (BOHLOOL; SCHIMIDT, 1974; SHARON; LIS, 2004; LANNOO; VAN DAMME, 2014). Além disso, são classificadas em merolectinas (um único domínio de ligação a carboidratos), hololectinas (pelo menos dois domínios de ligação a carboidratos idênticos e semelhantes), quimerolectinas (combinação de um domínio de lectina ligado a pelo menos outro domínio de proteína) e superlectinas (possui dois domínios de ligação a carboidratos não idênticos que reconhecem açúcares estruturalmente diferentes) (PEUMANS; VAN DAMME, 1995; MISHRA et al., 2019; KATOCH; TRIPATHI, 2021).

Uma variedade de lectinas podem ser extraídas das mais diversas partes dos vegetais, destacando as sementes (NUBI et al., 2021; SANTOS et al., 2021; VÉRAS et al., 2022), raízes (WANG; NG, 2006; SOUZA et al., 2011; KABIR et al., 2021), folhas (GOMES et al., 2013; RAMOS et al., 2020; DAS et al., 2021) e frutos (SINGHA; ADHYA; CHATTERJEE, 2007; ZUBCEVIC; FOCAK; SUIJEVIC, 2018). Na literatura, atividades biológicas como antiviral (MAKHOLOUF et al., 2013; GORDIM et al., 2019; CAMARGO et al., 2020), antibacteriana (KRISNAVEI; KAVIPRIYA; KAYASUDHA, 2020; MURUGESAN; GUNASAGARAN, 2021; TAMILARASAN et al., 2021), antifúngica (CHARUNGCHITRAK et al., 2011; SINGH; SINGH; KAMBOJ, 2017; SILVA et al., 2018), inflamatória (OLADOKUN et al., 2019; PIRES et al., 2019; SANTOS et al., 2020) e moluscicida (SANTOS et al., 2010; ALBUQUERQUE et al., 2014; SANTANA et al., 2020) têm sido encontradas.

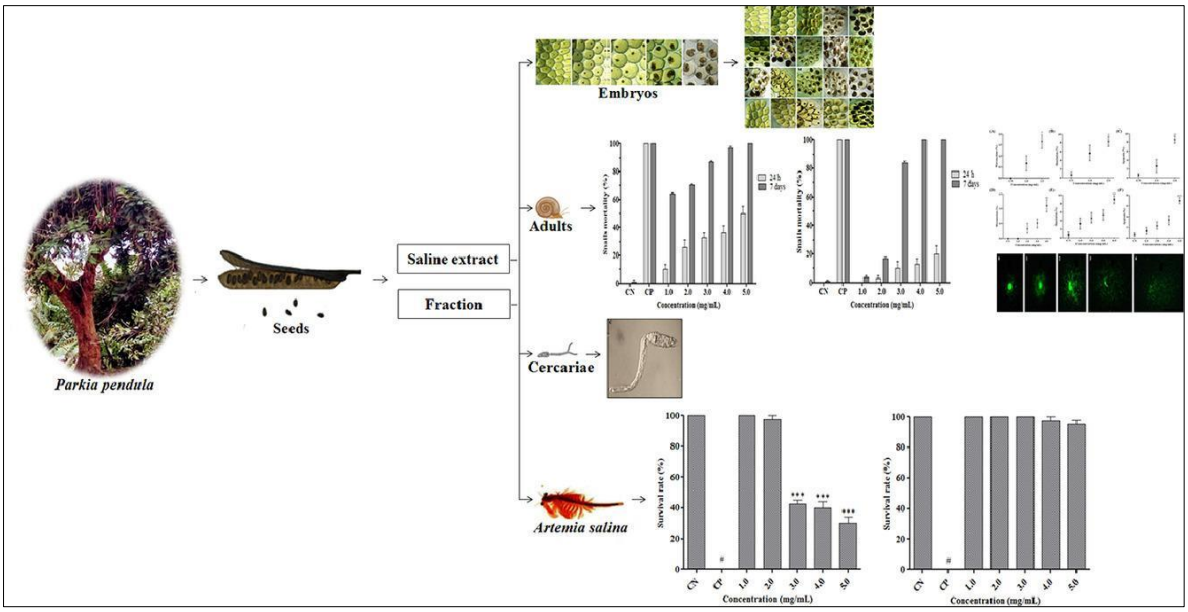
A contribuição das lectinas de origem vegetal com atividade moluscicida foi relatada pela primeira vez em 2010, em que as espécies *Canavalia brasiliensis*, *Cratylia floribunda*, *Dioclea guianensis*, *Dioclea grandiflora* e *Dioclea virgata* apresentaram toxicidade frente a caramujos adultos *B. glabrata* (SANTOS et al., 2010). Desde então, outras pesquisas reportaram a toxicidade sobre diferentes estágios de desenvolvimento desse caramujo, destacando que preparações e/ou lectina isolada podem ser uma alternativa para a pesquisa por novos candidatos moluscicida e consequentemente no controle da esquistossomose (VAZ et al., 2010; SILVA; VARGAS; BAPTISTA, 2013; ALBUQUERQUE et al., 2014; SANTANA et al., 2020).

Uma vez que, as aplicações biológicas reportadas para as sementes de *P. pendula* foram direcionadas apenas para a lectina isolada, e sabendo que extrato e frações enriquecidas podem apresentar resposta ao alvo biológico e da vantagem do ponto de vista de custos no processo de purificação e isolamento de lectinas, o presente estudo tem como objetivo avaliar a toxicidade das preparações (extrato salino e fração enriquecida) das sementes de *P. pendula* sobre diferentes estágios de desenvolvimento de *B. glabrata* (embriões e caramujos adultos), parâmetros reprodutivos (fecundidade e fertilidade) e sobrevivência, citotoxicidade e genotoxicidade, além de analisar atividade cercarecida de *S. mansoni* e sua ecotoxicidade ambiental utilizando o bioindicador *Artemia salina*.

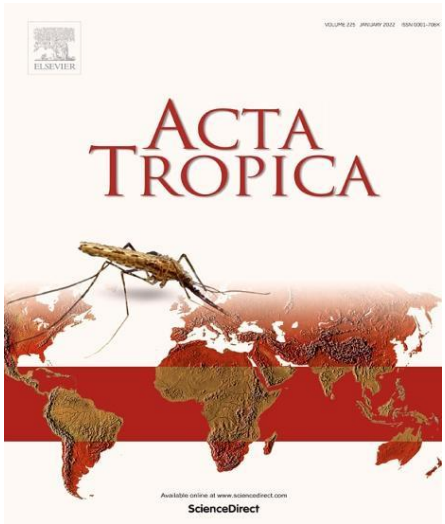
3 RESULTADOS

3.1 ARTIGO 1- TOXIC, CYTOTOXIC AND GENOTOXIC EFFECT OF SALINE EXTRACT AND FRACTION OF *Parkia pendula* SEEDS IN THE DEVELOPMENTAL STAGES OF *Biomphalaria glabrata* (SAY 1818 – INTERMEDIATE HOST) AND CERCARICIDE ACTIVITY AGAINST THE INFECTIOUS AGENT OF SCHISTOSOMIASIS

RESUMO GRÁFICO



Fonte: Batista et al. (2022).



Artigo publicado na revista Acta Tropica

Qualis CBII: A1

Acta Tropica 228 (2022) 106312

Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica

Toxic, cytotoxic and genotoxic effect of saline extract and fraction of *Parkia pendula* seeds in the developmental stages of *Biomphalaria glabrata* (Say 1818 – intermediate host) and cercaricide activity against the infectious agent of schistosomiasis

José Josenildo Batista [a], Hallysson Douglas Andrade de Araújo [a], Thierry Wesley de Albuquerque Aguiar [a], Sílvio Assis de Oliveira Ferreira [a], Maíra de Vasconcelos Lima [b], Dewson Rocha Pereira [b], Magda Rhayanny Assunção Ferreira [c], Luiz Alberto Lira Soares [c], Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo [b], Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque [d,e], André de Lima Aires [d,e], Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho [a,*]

[a] Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, CB, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE,Avenida Prof. Moraes Rego,Cidade Universitária, n° 1235, Recife-PE 50670-420, Brazil
[b] Departamento de Biofísica e Radiobiologia, CB, UFPE,Avenida Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, n° 1235, Recife-PE 50670-901, Brazil
[c] Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde, CCS, UFPE, Avenida Prof. Arthur de Sá, Cidade Universitária, n° 1235, Recife-PE 50.740-520, Brazil
[d] Departamento de Medicina Tropical, CCS, UFPE, Avenida Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, n° 1235, Recife-PE 50670-901, Brazil
[e] Laboratório de ImunopatologiaKeizoAsami, LIKA, UFPE, Avenida Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, n° 1235, Recife-PE 50670-901, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:
Parkia pendula preparations
Molluscicide
Embryotoxicity
Fecundity
Fertility
Hemocytes

ABSTRACT

This study describes for the first time the effect of saline extract and *Parkia pendula* seed fraction on *Biomphalaria glabrata* adult embryos and molluscs well as the reproductive parameters (fecundity and fertility) and survival, in addition to cytotoxicity and genotoxicity through the profile of blood cells after exposure to sublethal concentrations. Furthermore, we analyzed the action of both preparations against the cercariae of *Schistosoma mansoni* and their environmental safety using the bioindicator *Artemia salina*. The saline extract and fraction showed toxic effects for embryos (CL_{90} of 464.25, 479.62, 731.28, 643.28, 408.43 and 250.94, 318.03, 406.12, 635.64, 1.145 mg/mL, for blastula, gastrula, trocophore, veliger and hippo stage respectively), adult snails after 24 h of exposure (CL_{90} of 9.50 and 10.92 mg/mL, respectively) with increased mortality after 7 days of observation and significant decrease ($p < 0.05$; $p < 0.01$ and $p < 0.001$) in egg mass deposition. At sublethal concentrations, an increase in quantitative and morphological changes in hemocytes was observed, and in the genotoxicity/comet assay analysis, varying degrees of nuclear damage were detected. In addition, the saline extract showed changes in the motility of the cercariae, while the fraction howed toxicity from a concentration of 1.0 mg/mL. The saline extract showed toxicity to A. salina at the highest concentrations (3.0, 4.0 and 5.0 mg/mL), while the fraction did not show ecotoxicity. Thus, the saline extract and fraction was promising in combating schistosomiasis by eliminating the intermediate host and causing alterations and/or mortality to the infectious agent.

1. Introduction

Schistosomiasis, a neglected infectious-parasitic disease caused by flukes of the genus *Schitosoma* spp. affects an estimated 236 million people worldwide, of which only 105.4 have been treated (World Health Organization, 2021). In Brazil, the disease is caused by the species *Schistosoma mansoni*, with endemicity in 19 of the 27 Brazilian states; it is estimated that 1.5 million people are infected with *S. mansoni* and

* Corresponding author.
E-mail address: lcbbcoelho@gmail.com (L.C.B.B. Coelho).

https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106312
Received 5 September 2021; Received in revised form 7 January 2022; Accepted 12 January 2022
Available online 14 January 2022
0001-706X/© 2022 Published by Elsevier B.V.

another 25 million live at risk of infection with a higher concentration in the Northeast Region of the country (Brazil, 2014; Martins-Melo et al., 2014; Paz et al., 2021).

Molluscs of the genus *Biomphalaria* spp. are intermediate hosts in the transmission of *S. mansoni* and one of the main strategies in interrupting the transmission of infectious agents is their population control (Rollinson et al., 2013). *Biomphalaria glabrata* has a wide distribution on the Brazilian coast, and is susceptible to infection with all strains of *S. mansoni*, which causes thousands of cercariae daily released into the aquatic environment (Carvalho et al., 2018; McManus et al., 2018). In addition, *B. glabrata* has been used as an experimental model due to its wide geographic distribution and properties that allow its use in the laboratory, as an environmental indicator, where it is possible to analyze different changes, whether in its reproductive capacity and survival of adult snails and/or embryos, in addition to cellular and structural DNA modifications that can be quantified (Coustau et al., 2015; Siqueira et al., 2020; Araújo et al., 2021).

Currently, the use of the molluscicide niclosamide (Bayluscide®) has been recommended by the World Health Organization as a strategy to combat schistosomiasis (World Health Organization, 2017). However, although this synthetic compound is efficient in eliminating the snail, it has a high production value, secondary effects such as bioaccumulation and high toxicity to non-target animals such as fish, amphibians and plants (King and Bertsch, 2015; Wilkie et al., 2019; Leak et al., 2020). In this context, the search for new molluscicides, which act more selectively for intermediate hosts and eco-friendly, becomes necessary.

Parkia pendula (Subfamily Mimosoideae) is a plant found in Brazilian regions and commonly used in the recovery of degraded areas, for its rapid growth, nitrogen fixation in the soil and for attracting wild animals (Flora do Brasil, 2019). Seeds of *P. pendula* contain a lectin called PpeL, obtained from the extract with saline solution (NaCl 0.15 M), fractionation with ammonium sulfate (0–60%) and affinity chromatography (Sephadex G-75) (Coriolano et al., 2010). PpeL has biological applications such as tumor cell marker (Beltrão et al., 2003; Rodrigues et al., 2008), viral infection reduction (Favacho et al., 2007), skin wounds (Coriolano et al., 2014) and leishmanicide (Carneiro et al., 2020).

The use of molluscicide candidates or agents may present different responses to molluscs, leading to alterations in their homeostasis in which they need to be evaluated (Araújo et al., 2021). Thus, adverse effects and homeostatic alterations in *B. glabrata* exposed to saline extract and fraction have never been investigated. Therefore, the present study aimed to evaluate the saline extract and fraction of *P. pendula* seeds on different developmental stages of *B. glabrata* (adult embryos and molluscs), reproductive parameters (fecundity and fertility) and survival, in addition to cytotoxicity and genotoxicity through the profile of blood cells/immune aspects after exposure to sublethal concentrations. Finally, to evaluate both *P. pendula* preparations on *S. mansoni* cercariae and their environmental safety using the bioindicator/non-target organism *Artemia salina*.

2. Materials and methods

2.1. Plant

Seeds of *P. pendula* were collected in Novo Lino (8°5834.9S, 35º, 4029.2W), Alagoas, Brazil. An exsiccate of the species (nº 92516) is deposited in the Herbarium Dárdano de Andrade Lima (IPA), of the Instituto Agronômico de Pernambuco, Brazil.

2.2. Animals

The specimens of *B. glabrata* snails used in this study were descendants of specimens collected in the São Lourenço da Mata River (Pernambuco, Brazil) and kept in the mollusk of the Departamento de Biofísica e Radiobiologia of the Centro de Biociências of the Universidade Federal de Pernambuco. The snails were kept in aquariums with dechlorinated filtered water (temperature: 25 ± 3 °C; pH: 7.0) on a light/dark cycle (12:12 h), separated with shell diameter ranging from 8 to 14 mm and fed ad libitum daily with lettuce leaves (*Lactuca sativa*).

2.3. Preparation of saline extract and fraction

The saline extract and fraction were obtained as previously described by Coriolano et al. (2014), with modifications. Seeds collected from *P. pendula* were washed with running water and then with distilled water, dried in an oven (37 °C) with air circulation and crushed in a mill. The powder (15 g) was suspended in 0.15 M NaCl for 12 h at 4 °C under magnetic stirring. Subsequently, the suspension was filtered, centrifuged (12,000 rpm, 15 min, 28 °C) and the supernatant dialyzed (molecules smaller than 10.000 Da, 48 h), re-centrifuged and lyophilized to obtain the extract. The proteins present in the extract were precipitated with 0–60% ammonium sulfate (4 h) and after centrifugation (12,000 rpm, 15 min, 28 °C) the precipitate collected, dialyzed (membrane 10.000 Da, 5 h) against distilled water and then with 0.15 M NaCl and lyophilized to obtain the fraction.

2.4. Evaluation of compounds in saline extract and fraction

Qualitative analysis for the recognition of secondary metabolites present in the saline extract and fraction were Performed by thin layer chromatography (TLC) and the phytochemical screening developed according to Wanger and Bladt (1996) for the presence of cinnamic derivatives, flavonoids, hydrolyzable and condensed tannins, coumarins, terpenes/steroids, saponins, anthracenes, sugars and alkaloids. Analysis by high performance liquid chromatography (HPLC) was performed according to the protocol described by Oliveira et al. (2018).

Protein concentration was determined according to the method described by Lowry et al. (1951) using bovine serum albumin as a standard (0.05–05 μg/ml). The presence of lectin in the saline extract and fraction was determined by analyzing the hemagglutinating activity (HA) according to the method described by Paiva and Coelho (1992). Sample aliquots (50 μL) were serially diluted in 0.15 M NaCl in microtiter plates. Then, a suspension (50 μL; 2.5% v/v) of glutaraldehyde-treated rabbit erythrocytes in 0.15 M NaCl was added to each well and the plate incubated (27 °C; 45 min). A hemagglutination unit was defined as the reciprocal value of the highest sample dilution that promoted total agglutination of erythrocytes. Specific HA (SHA) was defined as the ratio between HA and protein concentration (mg/mL). The concentration of total sugars was determined according to the method described by Dubois et al. (1956) using D-galactose as a standard.

2.5. Bioassay in embryonic stages of B. glabrata

The evaluation of embryotoxicity was performed according to the method described by Araújo et al. (2018a). Briefly, in aquariums containing B. glabrata snails, colorless polyethylene plastics (10×10 cm) were added in which the mollusks ovipositioned. Afterwards, eggs were collected, selected and analyzed under a stereoscopic microscope (Wild M3B, Heerbrugg, Switzerland) according to the criteria established by Kawano et al. (1992). In a petri dish, groups (100 embryos) were separated for the blastula (0 - 15th h), gastrula (24th - 39th h), trocophore (48th - 87th h), veliger (96th - 111th h) and hippo stage (144th to 168th h) and exposed to saline extract solution and fraction at different concentrations (0.0125, 0.025, 0.5, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 and 1.0 mg/mL), dechlorinated filtered water (negative control) and niclosamide (1.0 μg/mL; positive control). After 24 h of exposure, the embryos were washed and replaced in plates containing dechlorinated filtered water and observed for seven days until hatching. At the end of the bioassay, the embryos were classified as viable (normal) and non-viable (malformed and dead). Two experiments were carried out independently and in triplicate, totaling 600 embryos per concentration and

embryo stage.

2.6. Toxicity bioassay in adult B. glabrata snails and effect on fertility and fecundity

The molluscicide trial was carried out in accordance with the guidelines of the World Health Organization, 1965. Snails ($n = 10$) were selected (diameter: 10–14 cm), analyzed for sexual maturity and placed in containers (60 mL) with different concentrations of saline extract and fraction (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg/mL), dechlorinated filtered water (negative control) and niclosamide (1.0 μl/mL; positive control) for 24 h (25 ± 3 °C). Then, the snails were washed, transferred to containers with dechlorinated filtered water, fed with lettuce leaves and observed daily for seven consecutive days for mortality. The mollusks were classified as dead when they presented absence of movement, hemolymph release, retraction and discoloration of the shell. Two independent experiments were carried out in triplicate, using 210 snails per treatment.

The effect of saline extract and fraction on fertility and fecundity of *B. glabrata* were performed using eggs deposited by snails that survived after exposure to different concentrations (1.0–5.0 mg/mL) of the preparations. Embryos were recorded for seven consecutive days, started after 24 h of exposure, and analyzed until complete hatching in the negative control group (dechlorined filtered water). After hatching, the embryos were counted and classified as viable (normal) and unviable (malformed and dead) (Araújo et al., 2021).

2.7. Evaluation of cytotoxicity in B. glabrata hemocytes

Snails ($n = 10$) were exposed to different sublethal concentrations of the saline extract (1.0 and 2.0 mg/mL) and fraction (1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mg/mL) for 24 h. After exposure, the snails were placed in containers with dechlorinated filtered water for another 24 h. As a negative control, dechlorinated filtered water was used. Of the surviving molluscs (three per concentration), they were randomly selected for hemolymph collection and analyzed for hemocyte morphology and quantification.

Morphological analysis was performed according to the method described by Pavlica et al. (2000) and Siqueira et al. (2020). Hemolymph (100 μl) were collected and deposited on microscopic slides and then added ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in Ringer's solution (10 mM) and stored in a humid chamber (40 min). Cells were fixed with glutaraldehyde (200 μl; 10 min) in 1% Ringer's solution (v/v) and then washed with Ringer's solution and stained with 5% Giemsa (5 min). Hemocytes ($n = 1000$ cells/group) were analyzed under an optical microscope (Leica DM1000), with a 100x objective and in triplicate.

2.8. Genotoxicity assessment by comet assay

The alkaline comet assay was performed as described by Singh et al. (1988), with modifications. *B. glabrata* snails exposed to saline extract (1.0 and 2.0 mg/mL), fraction (1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mg/mL) or dechlorinated filtered water had his hemolymph collected (100 μL) and homogenized in low melting point agarose (1:1). Immediately, this homogenate was placed on a microscope blades, previously covered with a layer of normal melting point agarose (1.5%) dissolved in PBS (pH 7.4), covered with a cover slip and kept at 4 °C (10 min). After solidification, the coverslips were removed and the blades incubated in lysis solution (2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, 1% Triton-X 100 and 10% DMSO, pH 10.0) for 12 h (4 °C). After lysis, the blades were placed in a horizontal electrophoresis vat containing an alkaline buffer solution, pH 13.0 (1 mM EDTA and 300 mM NaOH), for 20 min. Subsequently, electrophoresis was started for 20 min (4 °C) at 0.74 V/cm and 300 mA. At the end, the blades were neutralized with 0.4 M Tris-HCl buffer (pH 7.5; 15 min) fixed in absolute alcohol (10 min), dried at room temperature and stored at 4 °C for further analysis.

2.9. Fluorescence microscopy analysis

The blades were analyzed using a fluorescence microscope (Nikon H550L) with the following parameters: 400x magnification, excitation filter: 450–490 nm, emission filter: 500–550 nm and barrier filter: 495 nm. To stain the blades, a SYBR safe solution (Invitrogen) (50 μL; 1:500) was used and the DNA damage of the hemocytes was visually assessed according to the parameters established by Collins et al. (2008). A hundred nucleoids were counted for each replicate, totaling 400 nucleoids, which were classified into 5 categories of DNA damage (0, 1, 2, 3 and 4), depending on the extent of damage. Category 0 indicates that no damage occurred, while categories 1 to 4 indicate increasing levels of damage to the genetic material. To assess the degree of DNA damage, the Damage Index (ID) and the Damage Frequency (FD%) were used as parameters. The ID was calculated according to the formula: ID = 0 (number of comets category 0) + 1 (number of comets category 1) + 2 (number of comets category 2) + 3 (number of comets category 3) + 4 (number of comets category 4). The FD% was calculated as the percentage value of all comets with DNA damage (category 1 – 4) in relation to the total number of comets (categories 0 – 4), according to the formula:

$$FD\% = \frac{[(Total\ number\ of\ comets\ -\ N^{\circ}\ of\ category\ 0\ comets)100]}{Total\ number\ of\ comets}$$

2.10. Activity on cercariae of S. mansoni

The evaluation of toxicity in cercariae of *S. mansoni* was carried out according to the method described by Silva et al. (2019). Adult *B. glabrata* snails infected with *S. mansoni* (strain Belo Horizonte, Brazil) were placed in Becker (400 mL), submerged in distilled water (100 mL) and exposed to artificial light (60 W; 2 h) to eliminate cercariae. A suspension of approximately 100 cercariae were kept in a watch glass and exposed to saline extract and fraction at different concentrations (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg/mL). For negative and positive controls, dechlorinated filtered water and niclosamide (1.0 μg/mL), respectively, were used. The test was carried out in triplicate and the lethality of the cercariae was observed at intervals of 15, 30, 60 and 120 min after exposure to saline extract and fraction with the aid of a stereomicroscope (Lumen, Model 5289). During the intervals, the cercariae were evaluated for the following parameters: complete elimination of cercariae (+++), elimination of more than 50% of cercariae (++), elimination of less than 50% of cercariae (+) and absence of lethality (-).

2.11. Ecotoxicity assessment using the Artemia salina bioindicator

A. salina cysts were placed in a beaker (500 mL) containing filtered natural seawater (pH 8.0) under constant aeration (25 °C ± 3) for 48 h for the cysts to hatch and release the larvae. Afterwards, the larvae ($n = 10$) were placed in test tubes (5 mL) with saline extract solutions and fraction at different concentrations (1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg/mL). For the negative and positive controls, filtered natural seawater and niclosamide (1.0 μg/mL), respectively, were used. Exposure was carried out for 24 h, and later, the mortality rate was recorded using a stereomicroscope (Araújo et al., 2018b).

2.12. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using GraphPad Prism software version 8.0 for Windows (San Diego, California, USA). All data were tested for normal distribution using the Shapiro-Wilk test. Analysis of variance (ANOVA), Student and Bonferroni test, where results with significance at $p<0.05$ were considered significant. The lethal concentrations (CL) required to kill 10%, 50% and 90% of B. glabrata embryos and adult snails were calculated by Probit analysis with 95% confidence interval using StatPlus® 2009 software (Soft Analyst, Vancouver, BC,

Canada).

3. Results and discussion

3.1. Chemical constituents present in the saline extract and fraction

The recognition of secondary metabolites in the saline extract showed only the presence of reducing sugars, while the fraction did not reveal any metabolite in TLC. The calculated sugar content was 0.86 mg/mL. Both preparations were subjected to HPLC analysis, but no peaks were found in the chromatogram. The saline extract had a protein concentration of 5.1 mg/mL, HA of 64 and SHA of 12.54. On the other hand, the fraction contained 0.91 mg/mL of protein, 128 HA and 140.65 SHA, revealing that both preparations had lectin. Corroborating our results, the studies by Gan and Latiff (2011), Oliveira et al. (2018) and Buathongjan et al. (2020) found carbohydrates and proteins as the main bioactive molecules in the extract.

3.2. Toxicity to embryonic stages of B. glabrata

The saline extract and the fraction demonstrated a dose-dependent effect on sensitivity according to the developmental of *B. glabrata* embryos. Table 1 details the embryotoxic activity of both preparations in the embryonic stages, correlating the different concentrations applied to their respective stages. It is observed that the unfeasibility rate for the stages after exposure at concentrations of 0.0125 to 0.5 mg/mL ranged from 11.67% to 79.57% and 17.33% to 63% for the saline extract and fraction, respectively. Furthermore, similar to the positive control (niclosamide), 100% of unfeasibility was shown for the saline extract at a concentration of 0.8 mg/mL in the blastula and gastrula stages and 1.0 mg/mL for the trocophore, veliger stages and hippo stage. The fraction proved to be more active and reached 100% infeasibility for the first two initial stages at a concentration of 0.4 mg/mL, while for the last three at a concentration of 0.8 mg/mL. The values found for CL_{10}, CL_{50} and CL_{90} in the different stages exposed to the saline extract and fraction are presented in Table 2. Thus, these results demonstrate the high bioavailability and toxicity shown by the saline extract and fraction in penetrating the membrane and the capsule/gelatinous mass of embryos composed of perivitelline fluids rich in lipids, branched polysaccharides and proteins (Oliveira-Filho et al., 2010; Tallarico et al., 2014; Melo et al., 2019). Although the mechanism of action is not yet clear, these interactions of the preparations caused morphological changes in the different embryonic stages of *B. glabrata* (Fig. 1). The negative control is shown in Fig. 1A–E, while the niclosamide (positive control) is shown in Fig. 1F–J. Among the changes observed after exposure to the preparations, stand out; dead embryos, developmental delay, exogastrulation, hydropic embryos, shell malformation, mulfla malformation, and nonspecific changes (Fig. 1K–T). Albuquerque et al. (2014) analyzing the rhizome lectin of *Microgramma vacciniifolia*, which bind to mannose and chitin, resulted in death, developmental delay and exogastrulation of the embryos. Macedo et al. (2005), evaluating different plant lectins in *Lytechinus variegatus* (sea urchin) embryos, highlighted that such proteins caused cell disaggregation and rupture, and that this fact may have occurred due to the recognition of oligosaccharides that are present on the surface of embryonic cells. Khurrum et al. (2004) suggested that the *L. variegatus* lectin binds to mannose- or glucose-containing ligands present in oligosaccharides or glycoconjugates of embryos, which prevents the fixation of the archenteron to the roof of the blastocele, which results in exogastrulation. Thus, Nakano et al. (2003) highlights that embryos with exogastrulation do not develop, leading to death within a few days. In turn, embryos with nonspecific malformations can be classified as teratomorphic or hydropic embryos. In the studies by Oliveira-Filho et al. (2010) and Araújo et al. (2021) it was highlight that malformed embryos rarely hatch or most often die after hatching. Carneiro et al. (2020) demonstrated that PpeL lectin was able to inhibit a variety of sugars, such as mannose, α-methyl-D-mannopyranoside, glucose and N-acetyl-D-glucosamine. Thus, the presence of embryos with different alterations after exposure to saline extract and fraction, combined with the ability of this lectin to recognize mannose and glucose, may suggest that the mechanism of embryotoxicity presented by the preparations could involve damage to gastrulation processes, which can lead to inhibition of hatching and death of these embryos.

Table 1
Mortality of different embryonic stages of *Biomphalaria glabrata* after exposure to saline extract and fraction of *P. pendula* seeds.

	Unviable embryonic stages (%)				
Experimental group (mg/mL)	Blastula	Gastrula	Trocophore	Veliger	Hippo stage
CN	1.33 ± 0.57	1.66 ± 0.57	0.66 ± 1.15	2.0 ± 1.73	2.0 ± 1.0
CP	100	100	100	100	100
Saline extract					
0.0125	11.67 ± 6.50	32.0^{b} ± 2.64	34.67^{b} ± 2.51	33.67^{b} ± 3.78	60.0^{b} ± 2.64
0.025	18.33 ± 11.06	40.33^{b} ± 9.71	42.0^{b} ± 2.64	40.0^{b} ± 2.64	73.67^{b} ± 2.08
0.05	24.33^{a} ± 9.71	40.67^{b} ± 7.63	49.0^{b} ± 5.29	48.67^{b} ± 5.77	79.57^{b} ± 4.72
0.1	38.67^{b} ± 8.14	41.67^{b} ± 5.68	63.67^{b} ± 8.50	50.33^{b} ± 3.78	83.33^{b} ± 5.03
0.2	68.33^{b} ± 10.26	48.33^{b} ± 6.80	67.33^{b} ± 5.68	53.0^{b} ± 2.64	86.60^{b} ± 5.03
0.4	72.67^{b} ± 3.78	71.67^{b} ± 9.86	68.0^{b} ± 6.24	66.33^{b} ± 8.08	91.0^{b} ± 5.19
0.6	95.33^{b} ± 6.42	96.67^{b} ± 4.93	70.33^{b} ± 3.51	76.67^{b} ± 2.08	94.67^{b} ± 6.11
0.8	100^{b}	100^{b}	86.03^{b} ± 5.03	83.28 ± 1.24	98.67^{b} ± 1.52
1.0	–	–	100^{b}	100^{b}	100^{b}
Experimental group (mg/mL)	Blastula	Gastrula	Trocophore	Veliger	Hippo stage
CN	2.0 ± 1.73	1.66 ± 1.52	0.66 ± 0.57	1.66 ± 0.57	2.66 ± 1.52
CP	100	100	100	100	100
Fraction					
0.0125	17.33^{a} ± 2.51	50.0^{b} ± 6.24	32.67^{b} ± 3.05	27.33^{b} ± 6.50	22.67^{b} ± 2.51
0.025	19.0^{a} ± 2.64	59.67^{b} ± 5.03	42.67^{b} ± 4.50	31.67^{b} ± 4.02	38.67^{b} ± 4.04
0.05	34.00^{b} ± 4.58	63.0^{b} ± 7.00	54.0^{b} ± 5.19	43.0^{b} ± 4.58	46.33^{b} ± 2.51
0.1	58.33^{b} ± 3.78	76.33^{b} ± 7.23	58.0^{b} ± 5.56	44.67^{b} ± 4.50	48.33^{b} ± 3.21
0.2	72.33^{b} ± 6.80	84.33^{b} ± 6.02	65.33^{b} ± 5.68	59.33^{b} ± 6.65	63.0^{b} ± 3.0
0.4	100^{b}	100^{b}	71.67^{b} ± 2.30	67.67^{b} ± 5.13	70.33^{b} ± 8.96
0.6	–	–	89.0^{b} ± 4.35	86.33^{b} ± 7.09	81.33^{b} ± 5.03
0.8	–	–	100^{b}	100^{b}	100^{b}

Values were expressed as mean ± standard deviation. CN = negative control (chlorinated filtered water); NP = positive control (niclosamide: 1.0 μg/mL) and different concentrations of saline extract and fraction of *P. pendula* seeds (mg/mL). Significant results were compared with CN and significance levels expressed by $^{a}P < 0.05$ or $^{b}P < 0.0001$.

3.3. Toxicity to adult B. glabrata snails

The molluscicidal activity against adult *B. glabrata* snails exposed to saline extract and fraction were recorded in Fig. 2. The results showed that the 24 h exposure had a concentration-dependent effect for the saline extract (Fig. 2A) and fraction (Fig. 2B) with a mortality rate of 10.0%, 26.0%, 33.0%, 36.0%, 50.0% and 0%, 3.0%, 10.0%, 13.0%, 20.0%, respectively, at concentrations of 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 and 5.0 mg/mL.sHowever, 1.0 μg/mL niclosamide presented 100% mortality, as previously reported by Araújo et al. (2018b, c). Surviving snails were analyzed for 7 days after treatment with saline extract (Fig. 2C) and

Table 2
Lethal concentration for embryonic stages and adult snails of *B. glabrata* after exposure to saline extract and fraction of *P. pendula* seeds.

Saline extract	Lethal concentrations (mg/mL)		
	LC_{10}	LC_{50}	LC_{90}
Blastula	10.12 (4.21 – 16.02)	237.19 (231.28 – 243.09)	464.25 (458.35 – 470.16)
Gastrula	10.63 (3.18 – 18.03)	244.62 (237.16 – 252.07)	479.62 (471.16 – 486.07)
Trocophore	31.74 (18.8 – 44.68)	387.76 (374.82 –400.7)	731.77 (718.83 – 744.75)
Veliger	23.34 (13.15 – 33.53)	323.31 (315.12 – 335.5)	643.28 (633.09 – 653.47)
Hippo stage	14.00 (6.51 – 21.49)	204.71 (197.22 – 212.2)	408.43 (400.93 – 415.92)
Adult snails 24 h*	0.47 (0.07 – 0.088)	4.99 (4.58 – 5.39)	9.50 (9.10 – 9.91)
Fraction	LC_{10}	LC_{50}	LC_{90}
Blastula	5.60 (2.11 – 9.10)	128.27 (124.77 – 131.76)	250.94 (247.44 – 254.43)
Gastrula	5.00 (0.74 – 10.76)	161.52 (155.76 – 167.27)	318.03 (312.27 – 323.78)
Trocophore	15.51 (8.33 – 22.70)	210.82 (203.64 – 218.00)	406.12 (398.94 – 413.31)
Veliger	10.10 (2.35 – 22.55)	318.50 (306.05 – 330.95)	635.64 (623.18 – 648.09)
Hippo stage	31.84 (15.98 – 47.7)	588.76 (572.9 – 604.6)	1.145 (1.129 – 1.161)
Adult snails 24 h**	3.53 (0.75 – 7.82)	7.22 (2.93 – 11.51)	10.92 (6.63 – 15.21)

* Adult snails exposed for 24 h to saline extract of *P. pendula* seeds. ** adult snails exposed for 24 h to the fraction of *P. pendula* seeds.

fraction (Fig. 2D), and an increase in mortality could be observed in a concentration-dependent pattern. Furthermore, it was possible to observe the toxic effect of the preparations causing stretching and swelling of the cephalopodal mass, mucus production and hemolymph release. The values of LC_{10}, LC_{50} and LC_{90} for adult snails exposed for 24 h to saline extract and fraction are shown in Table 2.

According to studies by McCullough et al. (1980) and Pierre and Juberg (1981), molecules with a potential molluscicide effect act by interrupting the osmotic balance of the snail, which causes hemolymph release, retraction and/or projection of the cephalopodal mass out of the shell. Thus, our results showed this response mechanism, causing tissue damage and loss of biological functions to snails exposed to saline extract and fraction. As for the fecundity of *B. glabrata*, the data showed a decrease in egg mass deposition after 7 days of observation with a reduction of 55%, 62%, 79%, 91% for the saline extract at concentrations of 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 mg/mL (Fig. 2E) and 35%, 44% and 96% for the fraction at concentrations of 1.0, 2.0 and 3.0 mg/mL (Fig. 2F).

In agreement with the present study, Ansaldo et al. (2009) and Araújo et al. (2021), applied different molluscicide materials against *B. glabrata* snails and recorded a decrease in egg deposition. Hasheesh and Mohamed (2011) attributed this reduction to the histological damage presented in cells of the hermaphrodite glands of the snails. Rizk et al. (2012) suggested that the *Haplophyllum tuberculatum* plant had compounds that inhibited the testosterone biosynthetic pathways in snails and correlated with the low fertility rate. Ibrahim and Ghoname (2018) demonstrated decreased levels of testosterone and 17-β estradiol in snail gonad tissue after exposure to aqueous extract of Anagallis arvensis leaves, which they associated with decreased fertility rate.

3.4. Cytotoxicity assay on *B. glabrata* hemocytes

The negative control group showed the presence of hyalinocytes and granulocytes. On the other hand, exposure to saline extract and fraction showed an increase in morphological changes of hemocytes, such as micronucleus (MN), binuclear cells (CB) and morphological characteristics indicative of apoptotic cells (AP) with multiple vacuoles, reduced cytoplasm with irregular contour, intense chromatin condensation and nuclear fragmentation. The saline extract showed a significant effect for

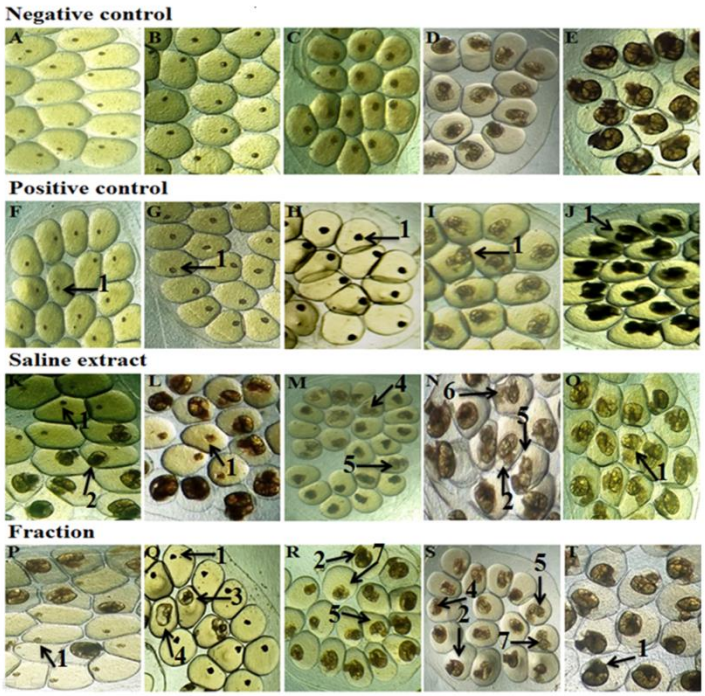


Fig. 1. Embryonic stages of *Biomphalaria glabrata* and exposure to saline extract and fraction for 24 h. Negative control in (A) blastula stages; (B) gastrula; (C) trochophore; (D) veliger; (E) hippo stage; (F–J) embryos exposed to the positive control niclosamide (1.0 μg/mL); (K–O) embryos exposed to saline extract at different concentrations; (P–T) embryos exposed to the fraction at different concentrations. 1: dead embryo; 2: embryo with developmental delay; 3: embryo with exogastrulation; 4: hydropic embryo; 5: malformation of the shell; 6: malformation in the muffle; 7 embryo with nonspecific alteration. All images with 40x magnification.

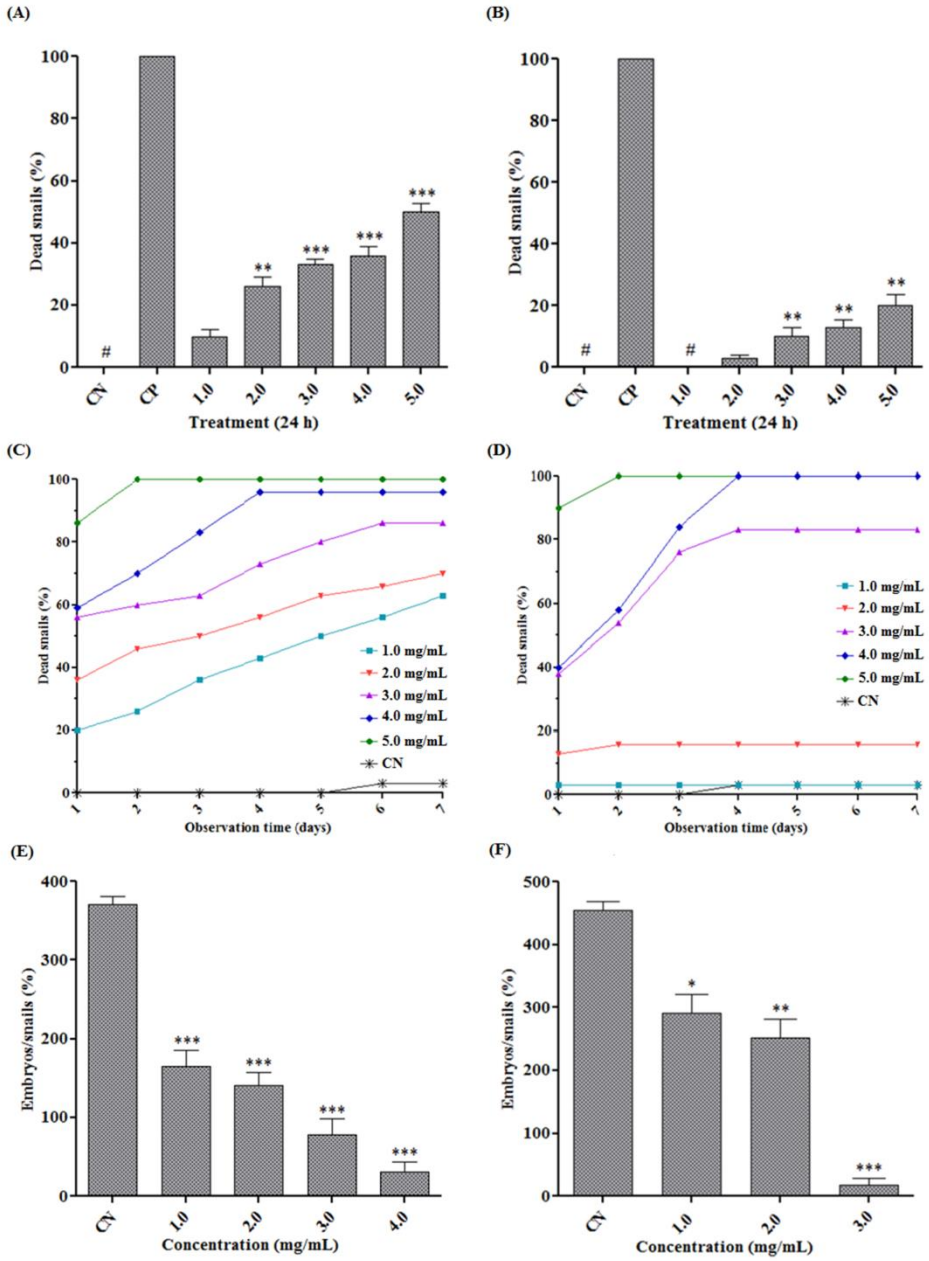


Fig. 2. Molluscicidal activity against adult *Biomphalaria glabrata* snails. (A) snails exposed to saline extract (B) and fraction for 24 h; (C) snails exposed to saline extract (D) and fraction after 7 days of observation; (E) fecundity of snails exposed to saline extract (F) and fraction after 7 days of observation. The hashtag (#) indicates zero values. CN = negative control (chlorinated filtered water); CP = positive control (niclosamide: 1.0 μg/ml). * indicates p greater < 0.05; ** indicates greater $p < 0.01$ and *** indicates greater p value <0.001.

MN (Fig. 3A), CB (Fig. 3B) and AP (Fig. 3C) only at the concentration of 2.0 mg/mL when compared to the negative control group, with mean ± standard deviation of 1.66 ± 0.57, 8.33 ± 2.08 and 9.00 ± 2.0, respectively. The fraction also showed cellular alterations, with significant values of MN (Fig. 3D), CB (Fig. 3E) and AP (Fig. 3F) at the concentration of 4.0 mg/mL with mean ± standard deviation of 1.10 ± 0.36, 9.00 ± 1.73 and 7.00 ± 1.0, respectively, compared to the negative control group.

Hemocytes play a significant role in the physiological and cellular responses of molluscs to stress and environmental changes, as well as in

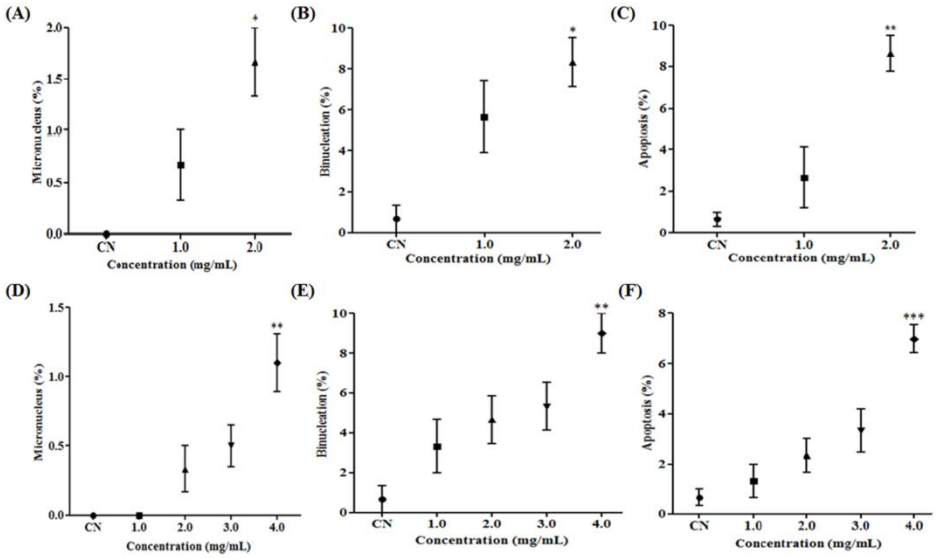


Fig. 3. Morphological changes after exposure to different concentrations of saline extract and fraction. (A) Micronucleus alterations, (B) binuclear cells (C) and apoptosis after exposure to saline extract, (D) micronucleus alterations, (E) binuclear cells (F) and apoptosis after exposure to the fraction. CN: negative control (chlorine-free filtered water). * indicates p greater than 0.05; ** indicates greater p <0.01 and *** indicates greater p value <0.001.

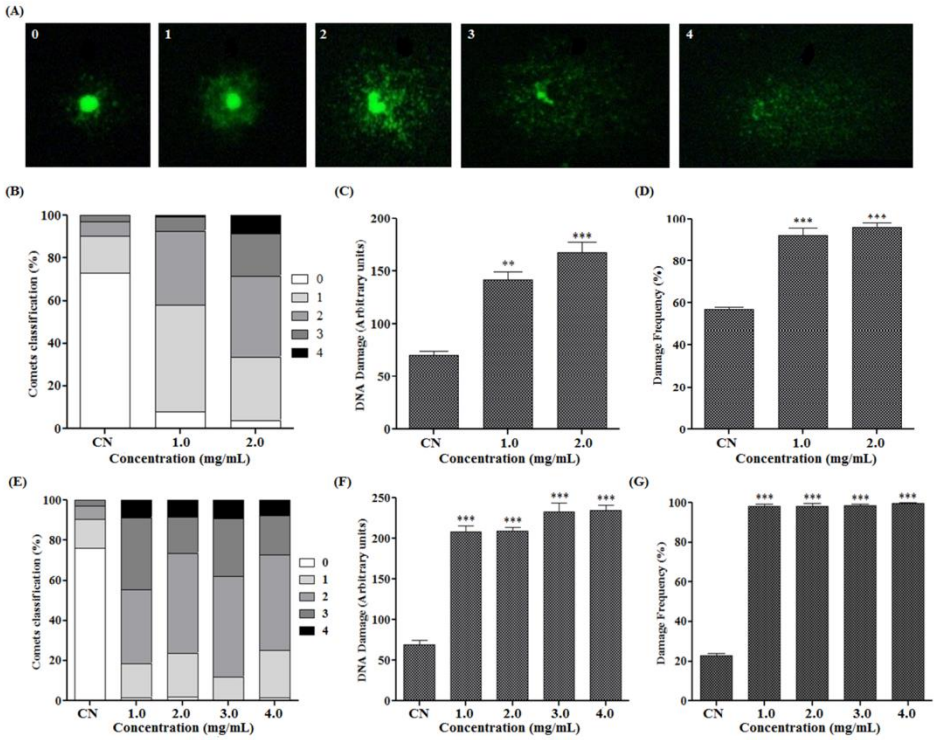


Fig. 4. Comet assay images obtained from *Biomphalaria glabrata* hemocytes, stained with Sybrsafe™ and DNA damage after exposure to different concentrations of saline extract and fraction. (A) Different degrees of damage, where 0 indicates absence and 1 to 4 indicates increasing DNA damage, (B) levels of damage (C) index (D) and frequency of damage after exposure to saline extract, (E) damage levels (F) index (G) and damage frequency after exposure to fraction. CN: negative control (dechlorined filtered water). ** indicates greater p < 0.01 and *** indicates greater p value <0.001.

defense and detoxification systems (Beuerlein et al., 2002; Cavalcanti et al., 2012; Burgos-Aceves et al., 2021). Thus, our results demonstrate that the saline extract and fraction has a cytotoxic effect only at the highest concentration. However, the presence of cells with morphological alterations (MN, CB and AP) is observed at all concentrations analyzed, which highlights the cytotoxic effect of the preparations on *B. glabrata* hemocytes. MN originate from chromatid fragmentation and derive from chromosomal disruption caused by unrepaired or poorly repaired DNA damage (Hintzsche et al., 2012; Minhas et al., 2016). According to the study by Rodilla (1993), BC originated by a process of incomplete cell division or from the mitotic division of a pre-existing BC. Furthermore, Hayashi and Karlseder (2013) highlight that cells that fail to complete mitotic division or cytokinesis activate cell death (apoptosis). According to the morphological characteristics of nuclear fragmentation and condensation and the extensive vacuolization observed in *B. glabrata* hemocytes, they coincide with the descriptions observed by Singh (2000), Lima et al. (2019), Silva et al. (2019), Siqueira et al. (2020), Araújo et al. (2021) for the indication of apoptotic cells. However, assays with biochemical markers (for example, DNA tunnel or ladder assays or Annexin V staining) are essential to elucidate the mechanisms of action of the preparations. The studies by Lima et al. (2018) and Araújo et al. (2021) analyzing oxyfluorfen and potassium usnate, corroborated the results of this study by observing BC and AP cells as the main cytotoxic effects against B. glabrata hemocytes. However, Silva et al. (2019) when evaluating the ether extract of Ramalina aspera (lichen), observed a greater diversity of morphological changes in *B. glabrata* hemocytes such as BC, micronucleations, trinucleations, kidney-shaped nuclei and AP.

3.5. Genotoxicity evaluation by comet assay

DNA alterations were quantified by visually classifying cells into five categories based on the length of the comet's tail, where 0 indicates absence, while categories 1, 2, 3 and 4 indicate low, medium, high and complete damage, respectively (Fig 4A). The *B. glabrata* hemocytes exposed to the saline extract presented different levels of categories (Fig. 4B), with the negative control being level 0 (73%) and the groups exposed at concentrations of 1.0 and 2.0 mg/mL, levels 1 (50%) and 2 (38%), respectively. As for the index (Fig. 4C) and frequency of damage (Fig. 4D) significant differences were observed at the concentrations of 1.0 and 2.0 mg/mL with values of 142 and 168% and percentages of 92 and 96%, respectively in relation to the control group. The fraction showed an increase in DNA alterations (Fig. 4E), with the negative control being level 0 (76%) and the group exposed at a concentration of 1.0 mg/mL levels 2 (36.67%) and 3 (36%) and at 2.0, 3.0 and 4.0 mg/mL at level 2 with 49.83, 50 and 47.67% respectively. The index (Fig. 4F) and frequency of damage (Fig. 4G) showed significant differences in the concentrations of 1.0, 2.0, 3.0 and 4.0 mg/mL, the values being 208, 209, 233 and 234 and 98.1, 98.3, 98.5 and 99.6%, respectively. The results obtained in this study affirm that the saline extract and fraction induce genotoxic action on the DNA of *B. glabrata* hemocytes. However, the mechanisms by which both preparations interact in DNA are not fully elucidated. However, the literature highlights that Oxygen Reactive Species (ROS), such as superoxide radicals ($O2^{+-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radical (^{-}OH) produced as a result of cell metabolism can cause serious damage to cell macromolecules, especially to DNA, if not properly controlled (Barzilai and Yamamoto, 2004). Meanwhile, many extracellular stimuli can influence the redox cycle pathway, causing the formation of ROS and eventually leading to DNA damage (Nesnow et al., 2002; Penning, 2004). Thus, it is possible to suggest that the frequencies of damage (grade 1, 2 and 3) and the repair process of damage to the DNA structure observed in both preparations is due to base oxidation or covalent bonding that results in strand breakage DNA (Ibrahim et al., 2019; Mohamed et al., 2012; Yousef et al., 2006). Furthermore, our results are in agreement with the studies by Ye et al. (2012) and Ibrahim and Ghoname (2018) when reporting a greater amount of DNA damage in the groups exposed to chemicals compared to the control group.

3.6. Toxicity to cercariae of S. mansoni

About 50% of the fences showed a decrease in their locomotion at concentrations above 3.0 mg/mL, after 120 min of incubation with the saline extract. However, this preparation showed a low mortality rate at all concentrations analyzed. On the other hand, the fraction induced a high mortality rate, as seen in Table 3. At a concentration of 1.0 mg/mL for 30 min (+) it was possible to observe the cercaricide effect, with more than 50% of lethality (++) at a concentration of 3.0 mg/mL for 15 min. Complete elimination of cercariae (+++) was observed after exposure to 5.0 mg/mL for 15 min. Thus, the time for complete elimination decreased with increasing concentration, 30 min at a concentration of 3.0 mg/mL and 15 min at a concentration of 5.0 mg/mL. After 120 min of exposure, no mortality was presented in the negative control cercariae, while 100% of them died during exposure to niclosamide in the first observation interval (15 min) at 1.0 μg/mL. Furthermore, changes in the behavior of the fences, such as atypical movement of rotation and vibration, slow movement with repeated contractions in short periods, and the sinking of the cercariae to the bottom of the container were observed. Fig. 5 highlights the different exposures of the enclosure: (A) exposure to dechlorinated filtered water with preservation of the body and tail, rotation and normal motility, (B) exposure to niclosamide with death of the cercariae (C) separation of body and tail of the cercariae after exposure to the fraction.

The studies by Dalton et al. (1987), Nanduri et al. (1991), Xu et al. (1994), Schmidt (1995) and Klabunde et al. (2000) demonstrated that plant lectins revealed that cercariae glycocalysis contain several different types of carbohydrates, such as mannose, fucose, glucose, N-acetyl-D-glucosamine and N-acetyl-D-galactosamine. PpeL has a wide range of carbohydrate binders, and is therefore able to adhere to most of these sugars (Carneiro et al., 2020). Thus, we suggest that the action surrounded by the fraction may be related to the binding of lectin to carbohydrates on the surface of cercariae.

3.7. Ecotoxicity using the Artemia salina bioindicator

The results of ecotoxicity using the bioindicator *A. salina* exposed to different concentrations of the saline extract and fraction are shown in Fig. 6. The survival rate ranged from 100% to 30% and 100% to 95% for the saline extract (Fig. 6A) and fraction (Fig. 6B), respectively. When compared to niclosamide, there is high toxicity, with 100% mortality of *A. salina* being observed at a concentration of 1 μg/mL, corroborating the studies by Araújo et al. (2018b, c) and Ribeiro et al. (2021). Thus, the use of saline extract as a molluscicide must be restricted, focused and controlled in the environment. On the other hand, the absence of toxicity at all concentrations analyzed for the fraction is an indication that this compound can be well tolerated against the biological system.

Table 3
Mortality of cercariae exposed to the fraction in relation to exposure time.

Concentrations (mg/mL)	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
CN	–	–	–	–	–
CP	+++	+++	+++	+++	+++
Fraction					
1.0	+	+	++	+++	+++
2.0	+	+	++	+++	+++
3.0	+	++	+++	+++	+++
4.0	+	++	+++	+++	+++
5.0	++	+++	+++	+++	+++

Absence of lethality (-), elimination of less than 50% of cercariae (+), elimination of more than 50% of cercariae (++), lethality equal to or greater than 90% (+++). CN = Negative control (chlorinated filtered water); CP = Positive Control (Niclosamide: 1.0 μg/mL).

Fig. 5. *Schistosoma mansoni* cercariae exposed to the fraction. (A) exposure to dechlorinated filtered water with preservation of the body and tail, rotation and normal motility, (B) exposure to niclosamide with death of the cercariae (C) separation of body and tail from the cercariae after exposure to the fraction.

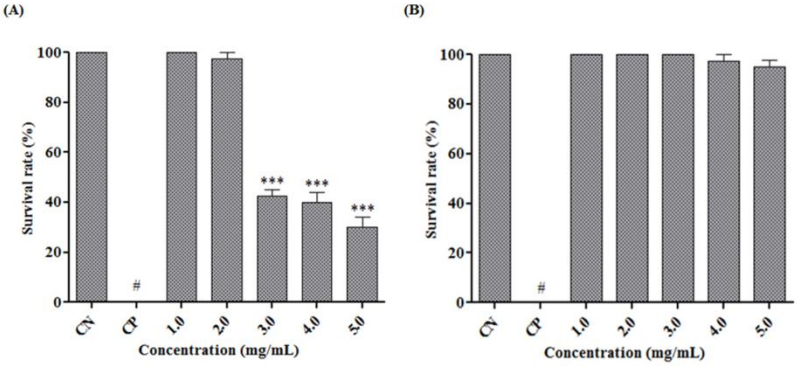


Fig. 6. Toxicity of saline extract and fraction in the bioindicator *Artemia salina* after 24 h of exposure. (A) Mortality rate after exposure to saline extract (B) and fraction. CN: negative control (dechlorinated filtered water), CP: positive control (niclosamide: 1.0 μg/mL). The hashtag (#) indicates zero values. *** indicates greater *p*-value < 0.001.

Considering the high water solubility of the preparations and the molluscicidal effect on different developmental of *B. glabrata* snails, these results showed promise for the control of schistosomiasis. Thus, future field studies and/or simulations evaluating the toxic effects of these preparations against snails and other non-target organisms and on human health, for example, cytotoxicity assays in healthy cells and acute and chronic toxicity in an experimental model make if necessary.

4. Conclusions

The results obtained in this work indicated that the saline extract and fraction of *P. pendula* seeds can be considered a promising molluscicide against different embryonic stages and adult of *B. glabrata* snails leading to decrease and changes in the deposition of eggs and defense cells, which leads to changes in the physiology of these animals. However, the use of saline extract must be restricted, focused and controlled in the environment due to the toxicity presented in some concentrations. The fraction was efficient in eliminating the etiologic agent of schistosomiasis and showed low toxicity against the bioindicator *A. salina*.

Authors' statement

Dear Dr. Brattig

I herewith state in my function as corresponding author that all of my co-authors – by José J. Batista, Hallysson D. A. Araújo, Thierry W. A. Aguiar, Silvio A. O. Ferreira, Maíra V. Lima, Dewson R. Pereira, Magda R. A. Ferreira, Luiz A. L. Soares, Ana M. M. A. Melo, Mônica C. P. A. Albuquerque, André L. Aires and Luana C. B. B. Coelho – support the submission of our manuscript in its present form for publication in Acta Tropica.

All co-authors read and approved the manuscript publication, and if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language.

Also, they have met the criteria for authorship and participated sufficiently in the intellectual content, the analysis of data, and the writing of the Work, and also that they have no competing interests, including no personal financial or non-financial conflicts.

Upon acceptance, the Author assigns to the Acta Tropica the right to publish and distribute the manuscript in part or in its entirety.

CRediT authorship contribution statement

José Josenildo Batista: Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing. **Hallysson Douglas Andrade de Araújo:** Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Supervision. **Thierry Wesley de Albuquerque Aguiar:** Methodology, Investigation, Validation. **Sílvio Assis de Oliveira Ferreira:** Methodology, Investigation, Validation. **Maíra de Vasconcelos Lima:** Methodology, Investigation, Validation. **Dewson Rocha Pereira:** Methodology, Investigation, Validation. **Magda Rhayanny Assunção Ferreira:** Methodology, Investigation, Validation. **Luiz Alberto Lira Soares:** Methodology, Investigation, Validation. **Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo:** Formal analysis, Investigation, Methodology, Validation. **Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque:** Formal analysis, Investigation, Methodology, Validation. **André de Lima Aires:** Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing, Supervision. **Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho:** Data curation, Formal analysis, Investigation, Methodology, Writing –

original draft, Writing – review & editing, Supervision.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that there is no conflict of interest that could influence the work reported in this article.

Acknowledgments

The author sthank the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) for grantand L.C.B.B. Coelho Fellowship (309923/2019-0); also, the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and the Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE). J.J. Batista and H.A.D. Araújo would like to thank FACEPE for the Graduate Scholarship (PBPG-1012-2.08/20) and Researcher Fixation Scholarship (BFP-0080-2.08/20), respectively.

References

Albuquerque, L.P., Pontual, E.V., Santana, M.S., Silva, L.R.S., Aguiar, J.S., Coelho, L.C.B. B., Rêgo, M.J.B.M., Pitta, M.G.R., Silva, T.G., Melo, A.M.M.A., Napoleão, T.H., Paiva, P.M.G., 2014. Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. Acta Trop. 138, 23–27. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2014.06.005.

Ansaldo, M., Nahabedian, D.E., Di Fonzo, C., Wider, E.A., 2009. Effect of cadmium, lead and arsenic on oviposition, hatching and embryonic areas of *Biomphalaria glabrata*. Sci. Total Environ. 407, 1923–1928. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.12.001.

Araújo, H.D.A., Silva, H.A.M.F., Siqueira, W.N., Santos, V.H.B., Lima, M.V., Silva Júnior, J.G.S., Silva, N.H., Albuquerque, M.C.P.A., Melo, A.M.M.A., Aires, A.L., Coelho, L.C.B.B., 2021. Sublethal concentrations of usnic acid potassium salt impairs physiological parameters of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Pulmonata: Planorbidae) infected and not infected with *Schistosoma mansoni*. Acta Trop. 222, 106067 https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.106067.

Araújo, H.D.A., Melo, A.M.M.A., Siqueira, W.N., Martins, M.C.B., Aires, A.L., Albuquerque, M.C.PA., Silva, N.H., Lima, V.L.M., 2018a. Potassium usnate toxicity against embryonic stages of the snail *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. Acta Trop. 188, 132–137. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.08.006.

Araújo, H.D.A., Silva, L.R.S., Siqueira, W.N., Fonseca, C.S.M., Silva, N.H., Melo, A.M.M. A., Martins, M.C.B., Lima, V.L.M., 2018b. Toxicity of usnic acid from *Cladonia substellata* (Lichen) to embryos and adults of *Biomphalaria glabrata*. Acta Trop. 179, 39–43. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.11.007.

Araújo, H.D.A., Silva, L.R.S., Siqueira, W.N., Fonseca, C.S.M., Silva, N.H., Melo, A.M.M. A., Martins, M.C.B., Lima, V.LM., 2018c. Dataset on usnic acid from *Cladonia substellata* Vainio (Lichen) *Schistosomiasis mansoni* vector control and environmental toxicity. Data Brief 17, 228–291. https://doi.org/10.1016/j.dib.2017.12.068.

Beltrão, E.I., Medeiros, P.L., Rodrigues, O.G., Figueredo-Silva, J., Valenca, M.M., Coelho, L.C.B.B., Carvalho, L.B., 2003. *Parkia pendula* lectin as histochemistry marker for meningothelial tumour. Eur. J. Histochem 47, 139–142. https://doi.org/10.4081/819.

Beuerlein, K., Löhr, S., Westermann, B., Ruth, P., Schipp, R., 2002. Components of the cellular defense and detoxification system of the common cuttlefish *Sepia officinalis* (Mollusca, Cephalopoda). Tissue Cell 34, 390–396. https://doi.org/10.1016/S0040816602000708.

Brasil, 2014. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral De Doenças em Eliminação. Vigilância da Esquistossomose mansoni: Diretrizes Técnicas (4. Ed),. Ministério da Saúde, Brasília, 2014.

Buathongjan, C., Israkarn, K., Sangwan, W., Outrequin, T., Gamonpilas, C., Methacanon, P., 2020. Studies on chemical composition, rheological and antioxidant properties of pectin isolated from Riang (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) pod. Int. J. Biol. Macromol. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.09.079.

Burgos-Aceves, M.A., Abo-Al-Ela, H.G., Faggio, C., 2021. Impact of phthalates and bisphenols plasticizers on haemocyte immune function of aquatic invertebrates: a review on physiological, biochemical, and genomic aspects. J. Hazard. Mater. 419, 126426 https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126426.

Cavalcanti, M.G.S., Filho, F.C., Mendonça, A.M.B., Duarte, G.R., Barbosa, C.C.G.S., Castro, C.M.M.B., Alves, L.C., Brayner, F.A., 2012. Morphological characterization of hemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. Micron 43, 285–291. https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.09.002.

Carneiro, R.F., Aguiar, E.S., Santos, V.F., Santos, A.LE., Santos, M.H.C., Roma, R.R., Silva, R.R.S., Leal, M.L.M.B., Silva, L.T., Rocha, B.A.M., Silva, C.G.L., Negano, C.S., Sampaio, A.H., Souza, R.O.S., Teixeira, C.S., 2020. Elucidation of the primary structure and molecular modeling of *Parkia pendula* lectin and in vitro evaluation of the leishmanicidal activity. Process Biochem 101, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.11.004.

Carvalho, O.S., Mendonça, C.L.F., Marcelino, J.M.R., Passos, L.K.J., Fernandez, M.A., Leal, R.S., Caldeira, R.L., Scholte, R.G.C., Carmo, E.H., Mesquista, S.G., Thiengo, S. C., 2018. Distribución geográfica de los huéspedes intermedios de *Schistosoma mansoni* em los estados de Paraná, Minas Gerais, Bahia, Pernambuco y Rio Grande do Norte, Brasil, 2012-2014. Epidemiol. Serv. Saúde 27, 1–9. DOI:10.5123/s1679-49742018000300016.

Collins, A.R., Oscoz, A.A., Gaivão, I., Brunborg, G., Giovannelli, L., Kruszewski, M., Smith, C.C., Štetina, R., 2008. The Cometassay: topical issues. Mutagenesis 23, 143–151. https://doi.org/10.1093/mutage/gem051.

Coriolano, M., Saturnino, A., Cintra, E., Beltrão, E., Coelho, L.C.B.B., 2010. Purification in milligram quantities and partial characterization of *Parkia pendula* seed lectin. J. Biotechnol. 150 https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2010.09.664, 454-454.

Coriolano, M.C., de Melo, C.M.L., Silva, F.O., Schirato, G.V., Porto, C.S., Santos, P.J.P., Correia, M.T.S., Porto, A.L.F., Carneiro-Leão, A.M.A., Coelho, L.C.B.B., 2014. *Parkia pendula* seed lectin: potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. Appl. Biochem. Biotechnol. 172, 2682–2693. https://doi.org/10.1007/s12010-013-0692-2.

Coustau, C., Gourbal, B., Duval, D., Yoshino, T.P., Adema, C.M., Mitta, G., 2015. Advances in gastropod immunity from the study of the interaction between the snail *Biomphalaria glabrata* and its parasites: a review of research progress over the last decade Fish. Shellfish Immunol., 46, 5–16. https://doi.org/10.1016/j.fsi.2015.01.036.

Dalton, J.P., Lewis, S.A., Arostein, W.S., Strand, M., 1987. Schistosoma mansoni: immunogenic glycoproteins of the cercarial glycocalyx. Exp. Parasitol. 63, 215–226.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem. 28, 350–356.

Favacho, A.R., Cintra, E.A., Coelho, L.C.B.B., Linhares, M.I., 2007. In vitro activity evaluation of *Parkia pendula* seed lectin against human cytomegalovirus and herpes virus 6. Biologicals 35, 189–194. https://doi.org/10.1016/j.biologicals.2006.09.005.

Flora do Brasil, 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2019. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>, Acesso em: 01 agosto 2021.

Gan, C.-Y., Latiff, A.A., 2011. Antioxidant *Parkia speciosa* pod powder as potential functional flour in food application: physicochemical properties characterization. Food Hydrocoll. 25, 1174–1180. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2010.11.004.

Hasheesh, W.S, Mohamed, R.T., 2011. Bioassay of two pesticides on *Bulinus truncatus* snails with emphasis on some biological and histological parameters. Pestic. Biochem Phys. 100, 1–6. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.01.008.

Hayashi, M.T., Karlseder, J., 2013. DNA damage associated with mitosis and cytokinesis failure. Oncogene 32, 4593–4601. https://doi.org/10.1038/onc.2012.615.

Hintzsche, H., Polat, B., Schewe, V., Djuzenova, C.S., Pfeundner, L., Flentje, M., Stopper, H., 2012. Micronucleus formation kinetics in buccal mucosa cells of head and neck cancer patients undergoing radiotherapy. Toxicol. Lett. 7, 33–37. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2012.04.020.

Ibrahim, A.M., Ghoname, S.I., 2018. Molluscicida limpacts of Anagallis arvensis aqueous extract on biological, hormonal, histological and molecular aspects of *Biomphalaria alexandrina* snails. Exp. Parasitol. 192, 36–41. https://doi.org/10.1016/j.exppara.2018.07.014.

Kawano, T., Okazaki, K., Ré, L., 1992. Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a practical guide to the main stages. Malacologia 34, 25–32.

King, C.H., Berstsch, D., 2015. Historical perspective: snail control to prevent schistosomiasis. PLoS Negl. Trop. Dis. 9, 1–6. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003657.

Khurrum, M., Hernandez, A., Eskalaei, M., Badali, O., Coyle-Trompson, C., Oppenheimer, S.B., 2004. Carbohydrate involvement in cellular interactions in sea urchin gastrulation. Acta Histochem. 106, 97–106. https://doi.org/10.1016/j.acthis.2004.01.001.

Klabunde, J., Berger, J., Jensenius, J.C., Klinkert, M.Q., Zelck, U.E., Kremsner, P.G., Kun, J.F.J., 2000. Schistosoma mansoni: adhesion of mannan-binging lectin to surface glycoproteins of cercariae and adult worms. Exp. Parasitol. 95, 231–239. https://doi.org/10.1006/expr.2000.4539.

Leak, T., Aufderheide, J., Bergfield, A., Hubert, T.D., 2020. Acute toxicity of the lampricides TFM and niclosamide: effects on a vascular plant and a chironomid species. J. Great Lakes Res. 46, 180–187. https://doi.org/10.1016/j.jglr.2019.11.007.

Lima, M.V., Siqueira, W.N., Silva, H.A.M.F., Filho, J.M.L., França, E.J., Melo, A.M.M.A., 2018. Cytotoxic and genotic effect of oxyfluorfen on hemocytes of *Biomphalaria glabrata*. Enriron. Sci. Pollut. Res. 26, 3350–3356. https://doi.org/10.1007/s11356-018-3848-3.

Lima, M.V., Pereira, M.I.A., Cabral Filho, P.E., Siqueira, W.N., Silva, H.A.M.F., França, E. J., Santos, B.S., Melo, A.M.M.A., Fontes, A., 2019. Studies on toxicity of suspensions of CdTe quantum dots to *Biomphalaria glabrata* Mollusks. Environ. Toxicol. Chem. 38, 2128–2136. https://doi.org/10.1002/etc.4525.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193, 265–275.

Macedo, N.M.R., Costa-Lotufo, L.V., Wilke, D.V., Bomfim, L.R., Pessoa, C., Moraes, M.O., Ramos, M.V., 2005. Embryotoxic activity and diferential binding of plat-derived carbohydrate-recognizing proteins towards the sea urchin embryo cells. Int. J. Biol. Macromol. 36, 90–97. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.03.014.

Martins-Melo, F.R., Pinheiro, M.C.C., Ramos, A.N., Alencar, C.H., Bezerra, F.S.M., Heukelbach, J., 2014. Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000–2011. Int. J. Parasitol. 44, 1055–1062. https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.07.009.

McCullough, F.S., Gayral, P.H., Duncan, J., Christie, J.D., 1980. Molluscicides in schistosomiasis control. Bull. World Health Organ. 58, 681–689.

McManus, D.P., Dunne, D.W., Sacko, M., Utzinger, J., Vennervald, B.J., Zhou, X.N., 2018. Schistosomiasis. Nat. Rev. Dis. Primers. 4, 1–19. https://doi.org/10.1038/s41572-018-0013-8.

Melo, A.O., Santos, D.B., Silva, L.D., Rocha, T.L., Bezerra, J.C.B., 2019. Molluscicidal activity of polyhexamethylene biguanide hydrochloride on the early-life stages and adults of the *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Chemosphere 216, 365–371. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.035.

Minhas, S., Kashif, M., Nagi, A.H., 2016. Evaluation of various nuclear cytological changes in normal buccal mucosa and peritumoural area in patients with oral squamous cell carcinoma receiving concomitant chemoradiotherapy. Patholog. Res. Int. 2–8. https://doi.org/10.1155/2016/6293795, 2016.

Nakano, E., Watanabe, L.C., Ohlweiler, F.P., Pereira, C.A.B., Kawano, T., 2003. Establishment of the dominant lethal test in the freshwater mollush *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). Mutat. Res. 536, 145–154. https://doi.org/10.1016/S1383-5718(03)00042-1.

Nanduri, J., Dennis, J.E., Rosenberry, T.L., Mahmoud, A.A.F., Tartakoff, A.M., 1991. Glicocalyx of bodies versus tails of *Schistosoma mansoni* cercariae. J. Biol. Chem. 266, 1341–1347.

Oliveira, A.M., de Luna Freire, M.O., da Silva, W.A.V., Ferreira, M.R.A., Paiva, P.M.G., Soares, L.A.L., Napoleão, T.H., 2018. Saline extract of *Pilosocereus gounellei* stem has antinociceptive effect in mice without showing acute toxicity and altering motor coordination. Regul. Toxicol. Pharmacol. 95, 289–297. https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.04.004.

Oliveira-Filho, E.C., Geraldino, B.R., Coelho, D.R., De-Carvalho, R.R., Paumgartten, F.J. R., 2010. Comparative toxicity of *Euphorbia milii* latex and synthetic molluscicides to *Biomphalaria glabrata* embryos. Chemosphere 81, 218–227. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.038.

Paiva, P.M.G., Coelho, L.C.B.B., 1992. Purification and partial characterization of two lectin isoforms from *Cratylia mollis* Mart. (camaratu bean). Appl. Biochem. Biotechnol. 36, 113–118. https://doi.org/10.1007/bf02929691.

Pavlica, M., Klobučar, G.I., Vetma, N., Erben, R., Papeš, D., 2000. Detection of micronuclei in haemocytes of zebra mussel and great ramshorn snail exposed to pentachlorophenol. Mutat. Res-Gen. Tox. En. 465, 145–150. https://doi.org/10.1016/S1383-5718(99)00222-3.

Paz, W.S., Duthie, M.S., Jesus, A.R., Araújo, K.C.G.M., Santos, A.D., Bezerra-Santos, M., 2021. Population-based, spatiotemporal modeling of social risk factors and mortality from schistosomiasis in Brazil between 1999 and 2018. Acta Trop. 218, 105897 https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.105897.

Pierre, O.S., Juberg, P., 1981. Ethologic aspects of survival of schistosomiasis vector snails to treatment with molluscicides. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 76, 47–55. https://doi.org/10.1590/S0074-02761981000100005.

Ribeiro, I.A.T.A., Sá, J.L.F., Lima, M.V., Veras, S.T.S., Aguiar, J.C.R.O.F., Aires, A.L., Albuquerque, M.C.P.A., Silva, M.V., Melo, A.M.M.A., Navarro, D.M.A.F., Correia, M. T.S., 2021. Toxic effect of *Croton rudolphianus* leaf essential oil against *Biomphalaria glabrata, Schistosoma mansoni* cercariae and *Artemia salina*. Acta Trop. 223, 106102 https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2021.10.

Rizk, M.Z., Metwally, N.S., Hamed, M.A., Mohamed, A.M., 2012. Correlation between steroid sex hormones, egg laying capacity and cercarial shedding in *Biomphalaria alexandrina* snails after treatment with Haplophyllum tuberculatum. Exp. Parasitol. 132, 171–179. https://doi.org/10.1016/J.EXPPARA.2012.06.011.

Rodilla, V., 1993. Origin and evolution of binucleated cells and binucleated cells with micronuclei in cisplatin-treated CHO cultures. Mutat. Res. 300, 281–291. https://doi.org/10.1016/0165-1218(93)90062-l.

Rodrigues, O.G., Silva, W.W., Athayde, A.C.R., Nascimento, S.C., Beltrão, E.I.C., Coelho, L.C.B.B., Medeiros, P.L., Figueiredo-Silva, J.R., 2008. Evaluation of *Parkia pendula* (Willd.) Benth. exWalp. lectins link to transmissible venereal tumor. Rev. Bras. Planta Med. 10, 11–15.

Rollinson, D., Knopp, S., Levitz, S., Stothard, J.R., TchuemTchuenté, L.-A., Garba, A., Mohammed, K.A., Schur, N., Person, B., Colley, D.G., Utzinger, J., 2013. Time to set the agenda for schistosomiasis elimination. Acta Trop. 128, 423–440. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2012.04.013.

Schmidt, J., 1995. Glycans with N-acetyllactosamine type 2-like residues covering adult Schistosoma mansoni, and glycomimesis as a putative mechanism of immune evasion. Parasitology 111, 325–336.

Silva, H.A.M.F., Sá, J.L.F., Siqueira, W.N.de, Lima, M.V., Martins, M.C.B., Aires, A.L., Silva, N.H., 2019. Toxicological effects of *Ramalina aspera* (lichen) on Biomphalaria glabrata snails and Schistosoma mansoni cercariae. Acta Trop. 196, 172–179. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.05.010.

Singh, N.P., Mccoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L., 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. Expe. Cell. Res. 175, 184–191. https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0.

Singh, N.P., 2000. A simple method for accurate estimation of apoptotic cells. Exp. Cell Res. 256, 328–337. https://doi.org/10.1006/excr.2000.4810.

Siqueira, W.N., França, E.J., Pereira, D.R., Vasconcelos Lima, M., Silva, H.A.M.F., Araújo, H.D.A., Sá, J.LF., Albuquerque Melo, A.M.M., 2020. Study of genotoxic and cytotoxic effects after acute and chronic exposures to industrial sewage sludge on *Biomphalaria glabrata* hemocytes. Chemosphere 249, 2–8. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126218.

Tallarico, L.F., Borrely, S.I., Hamada, N., Grazeffe, V.S., Ohlweiler, F.P., Okazaki, K., Granatelli, A.T., Pereira, I.W., Pereira, C.A.B., Nakano, E., 2014. Developmental toxicity, acute toxicity and mutagenicity testing in freshwater snails *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) exposed to chromium and water samples. Ecotoxicol. Environ. Saf. 110, 208–215. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2014.09.005.

Wagner, B., Ladt, W.R, H.;Bladt, S., 1996. Plant Drug Analysis, second ed. Springer Verlag, New York.

Wilkie, M.P., Hubert, T.D., Boogaard, M.A., Birceanu, O., 2019. Control of invasive sea lampreys using the piscicides TFM and niclosamida: toxicology, successes & future prospects. Aquatic Toxicol. 211, 235–252. https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.12.012.

World Health Organization, 2021. Schistosomiasis. Available in: < https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis>, Acess on: August 5th2021.

World Health Organization, 2017. Field use of molluscicides in schistosomiasis control programmes: an operational manual for programme managers. World Health Organization. https://apps.who.int/iris/handle/10665/254641. Licença: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

World Health Organization, 1965. Memoranda: Molluscicide screening and evaluation bull. World Health Organization 33, 567–581.

Xu, X., Stack, R.J., Rao, N., Caulfield, J.P., 1994. Schistosoma mansoni: fractionation and characterization of the glycocalyx and glycogen-like material from cercariae. Exp. Parasitol. 79, 399–409.

Further readings

Barzilai, A., Yamamoto, K., 2004. DNA damage responses to oxidative stress. DNA Repair 3, 1109–1115. https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2004.03.002.

Ibrahim, A.M., Ahmed, A.K., Bakry, F.A., Rabei, I., Abdel-Ghaffar, F., 2019. Toxicological impact of butralin, glyphosateisopropylammonium and pendimethalin herbicides on physiological parameters of *Biomphalaria alexandrina* snails. Molluscan Res. 39, 1–10. https://doi.org/10.1080/13235818.2019.1592296.

Mohamed, A.M., El-Emam, M.A., Osman, G.Y., Abdel-Hamid, H., Ali, R.E.M., 2012. Effect of Basudin, Selecron and the phytoalkaloid Colchicine (pesticides) on biological and molecular parameters of *Biomphalaria alexandrina* snails. Pestic Biochemistry and Physiology 102, 68–78. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2011.10.013.

Nesnow, S., Davis, C., Nelson, G.B., Lambert, G., Padgett, W., Pimentel, M., Tennant, A. H., Kligerman, A.D., Ross, J.A., 2002. Comparison of the genotoxic activities of the K-region dihydrodiol of benzo[a]pyrene with benzo[a]pyrene in mammalian cells: morphological cell transformation; DNA damage; and stable covalent DNA adducts. Mutat. Res. 521, 91–102. https://doi.org/10.1016/S1383-5718(02)00218-8.

Penning,, T.M., 2004. Aldo-keto reductases and formation of polycyclic aromatic hydrocarbon o-quinones. Methods Enzymol 378, 31–67. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(04)78003-9.

Ye, J., Wu, H., WU, Y., Wang, C., Zhang, H., Shi, X., Yang, J., 2012. High molecular weight hyaluronan decreases oxidative DNA damage induced by EDTA in human corneal epithelial cells. Eye (Lond) 26, 1012–1020. https://doi.org/10.1038/eye.2012.89.

Yousef, M.I., Awad, T.I., Mohamed, E.H., 2006. Deltamethrininduced oxidative damage and biochemical alterations in rat and its attenuation by vitamin E. Toxicology 227, 240–247. https://doi.org/10.1016/j.tox.2006.08.008.

4 CONCLUSÕES

• O extrato salino apresentou carboidratos e proteínas/lectina nas análises, enquanto a fração apenas lectina.

• As preparações apresentaram efeito embriotóxico em todos os estágios (blástula, gástrula, trocófora, véliger e *Hippo stage*), além de alterações teratogênicas como atraso no desenvolvimento, exogastrulação, embriões hidrópicos, malformação de concha, malformação de mulfla e alterações inespecíficas.

• As preparações apresentaram toxicidade em caramujos adultos *B. glabrata* causando estiramento e inchaço da massa cefalópode, produção de muco e liberação de hemolinfa e alteração na fecundidade, diminuição na deposição da massa de ovos, e da fertilidade, retardo no desenvolvimento embrionário.

• As preparações causaram alterações celulares hemocitárias caracterizadas por micronúcleo, células binucleares e indicativo de células apoptóticas e efeito genotóxico causando danos ao DNA em células hemocitárias em adultos *B. glabrata.*

• O extrato salino não apresentou efeito cercarecida, mas causou alteração na locomoção de cercárias *S. mansoni*, enquanto a fração causou alterações de rotação e vibração, movimento lento com contrações repetidas em curtos períodos, seguido de mortalidade.

• O extrato salino apresentou toxicidade e a fração foi atóxica frente a *A. salina.*

REFERÊNCIAS

ABE, E.M.; GUAN, W.; GUO, Y.H.; KASSEGNE, K.; QIN, Z.Q.; XU, J.; CHEN, J.H.; EKPO, U.F.; LI, S.Z.; ZHOU, X.N. Differentiating snail intermediate hosts of *Schistosom*a spp. using molecular approaches: fundamental to successful integrated control mechanism in Africa. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 26, p. 7-26, 2018. Doi:10.1186/s40249-018-0401-z.

ABDEL-HALEEM, A.A. Molluscicidal impacts of some Egyptian plant extracts on protein and DNA-contents of two snail-vectors of schistosomiasis, using electrophoresis. **The Journal of Basic & Applied Zoology**, v. 66, p. 34-40, 2013. Doi:10.1016/j.jobaz.2013.01.002.

ABO-AL-ELA, H.G.; FAGGIO, C. MicroRNA-mediated stress response in bivalve species. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 208, p. 11442, 2021. Doi:10.1016/j.ecoenv.2020.111442.

ABOU-EL-NAGA, I.F. Review: *Schistosoma mansoni* phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/Akt/mechanistic target of rapamycin (mTOR) signaling pathway. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology**, v. 256, p. 110632, 2021. Doi:10.1016/j.cbpb.2021.110632.

ABOU-EL-NAGA, I. Towards elimination of schistosomiasis after 5000 years of endemicity in Egypt. **Acta Tropica**, v. 181, p. 112-121, 2018. Doi:10.1016/j.actatropica.2018.02.005.

AGUDA, O.N.; LATEEF, A. Novel biosynthesis of silver nanoparticles through valorization of *Parkia biglobosa* fermented-seed wastewater: Antimicrobial properties and nanotextile application. **Environmental Technology & Innovation**, v. 24, p. 102077, 2021. Doi:10.1016/j.eti.2021.102077.

AHMED, M.N.; JAHAN, R.; NISSAPATORN, V.; WILAIRATANA, P.; RAHMATULLAH, M. Plant lectins as prospective antiviral biomolecules in the search for COVID-19 eradication strategies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 146, p. 112507, 2022. Doi:10.1016/j.biopha.2021.112507.

AKPOR, O.B.; NDAKOTSU, J.; EVBUOMWAN, I.O.; OLAOLU, T.D.; OSEMWEGIE, O.O. Bacterial growth inhibition and antioxidant potentials of leaf infusions of (*Moringa oleifera*), locust beans (*Parkia biglobosa*) and bitter leaf (*Vernonia amygladina*). **Scientific African**, v. 14, p. e01001, 2021. Doi:10.1016/j.sciaf.2021.e01001.

ALBUQUERQUE, L.P.; PONTUAL E.V.; SANTANA, G.M.S.; SILVA, L.R.S.; AGUIAR, J.S.; COELHO, L.C.B.B.; RÊGO, M.J.B.M.; PITTA, M.G.R.; SILVA, T.G.; MELO, A.M.M.A.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M.G. Toxic effects of *Microgramma vacciniifolia* rhizome lectin on *Artemia salina*, human cells, and the schistosomiasis vector *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 138, p. 23-27, 2014. Doi:10.1016/j.actatropica.2014.06.005.

ALLAN, F.; AME, S.M.; TIAN-BI, Y.N.T.; HOFKIN, B.V.; WEBSTER, B.L.; DIAKITÉ, N.R.; N´GORAN, E.K.; KABOLE, F.; KHAMIS, I.S.; GOUVRAS, A.N.; EMERY, A.M.; PENNANCE, T.; RABONE, M.; KINUNG´HI, S.; HAMIDOU, A.A.; MKOJI, G.M.; McLAUGHIIN, J.P.; KURIS, A.M.; LOKER, E.S.; KNOPP, S.; ROLLINSON, D. Snail-Related contributions from the schistosomiasis consortium for operational research and evaluation program including xenomonitoring, focal molluscicide, biological control, and modeling. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 103, p. 66-79, 2020. Doi:10.4269/ajtmh.19-0831.

ANDERSON, D.M.W.; PINTO, G.L. Gum polysaccharides from three *Parkia* species. **Phytochemistry**, v. 24, n. 1, p. 77-79, 1985.

ANDREWS, P.; THYSSEN, J.; LORKE, D. The biology and toxicology of molluscicides, Bayluscide. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 19, n. 2, p. 245-295, 1983. Doi:10.1016/0163-7258(82)90064-x.

ARAÚJO, H.D.A.; SILVA, H.A.M.F.; SIQUEIRA, W.N.; SANTOS, V.H.B.; LIMA, M.V.; SILVA JÚNIOR, J.G.S.; SILVA, N.H.; ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; MELO, A.M.M.A.; AIRES, A.L.; COELHO, L.C.B.B. Sublethal concentrations of usnic acid potassium salt impairs physiological parameters of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Pulmonata: Planorbidae) in-fected and not infected with *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 222, p. 106067, 2021. Doi:10.1016/j.actatropica.2021.106067.

ARAÚJO, P.S.; CAIXETA, M.B.; BRITO, R.S.; GONÇALVES, B.B.; SILVA, S.M.; LIMA, E.C.O.; SILVA, L.D.; BEZERRA, J.C.B.; ROCHA, T.L. Molluscicidal activity of polyvinylpyrrolidone (PVP)-functionalized silver nanoparticles to *Biomphalaria glabrata*: Implications for control of intermediate host snail of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 211, p. 2-8, 2020a. Doi:10.1016/j.actatropica.2020.105644.

ARAÚJO, H.D.A.; SANTOS, V.H.B.; BRAYNER, F.A.; ALVES, L.C.; SILVA, N.H.; ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; AIRES, A.L.; LIMA, V.L.M. *In vitro* activity of usnic acid potassium salt against different developmental stages of *Schistosoma mansoni*: An ultrastructural study. **Acta Tropica**, v. 201, p. 2-11, 2020b. Doi:10.1016/j.actatropica.2019.105159.

ARAÚJO, H.D.A.; SILVA, L.R.S.; SIQUEIRA, W.N.; FONSECA, C.S.M.; SILVA, N.H.; MELO, A.M.M.A.; MARTINS, M.C.B.; LIMA, V.L.M. Toxicity of usnic acid from *Cladonia substellata* (Lichen) to embryos and adults of *Biomphalaria glabrata*. **Acta Tropica**, v. 179, p. 39-43, 2018a. Doi:10.1016/j.actatropica.2017.11.007.

ARAÚJO, H.D.A.; SILVA, L.R.S.; SIQUEIRA, W.N.; FONSECA, C.S.M.; SILVA, N.H.; MELO, A.M.M.A.; MARTINS, M.C.B.; LIMA, V.LM. Dataset on usnic acid from *Cladonia substellata* Vainio (Lichen) *Schistosomiasis mansoni* vector control and environmental toxicity. **Data Brief**, v. 17, p. 228-291, 2018b. Doi:10.1016/j.dib.2017.12.068.

ARAÚJO, H.D.A.; MELO, A.M.M.A.; SIQUEIRA, W.N.; MARTINS, M.C.B.; AIRES, A.L.; ALBUQUER-QUE, M.C.PA.; SILVA, N.H.; LIMA, V.L.M. Potassium usnate toxicity against embryonic stages of the snail *Biomphalaria glabrata* and *Schistosoma mansoni* cercariae. **Acta Tropica**, v. 188, p. 132-137, 2018c. Doi:10.1016/j.actatropica.2018.08.006.

ARCHIBALD, R. The use of the fruit of the tree *Balanites ægyptiaca* in the control of schistosomiasis in the sudan. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 27, p. 207–210, 1933. Doi:10.1016/s0035-9203(33)90011-5.

AUGUSTO, R.C.; MELLO-SILVA, C.C.C. Phytochemical molluscicides and schistosomiasis: What we know and what we still need to learn. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 4, p. 2-9, 2018. Doi:10.3390/vetsci5040094.

AUGUSTO, R.C.; TETREAU, G.; CHAN, P.; WALET-BALIEU, M.L.; MELLO-SILVA, C.C.; SANTOS, C.P.; GRUNAU, C. Double impact: natural molluscicide for schistosomiasis vector control also impedes development of *Schistosoma mansoni* cercariae into adult parasites. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1-19, 2017. Doi:10.1371/journal.pntd.0005789.

AKSOY, Y.A.; NGUYEN, D.T.; CHOW, S.; CHUNG, R.S.; GUILLEMIN, G.J.; COLE, N.J.; HESSELSON, D. Chemical reprogramming enhances homology-directed genome editing in zebrafish embryos. **Communications Biology**, v. 2, p. 1-9, 2019. Doi:10.1038/s42003-019-0444-0.

AVDESH, A.; CHEN, M.; MARTIN-IVERSON, M.T.; MONDAL, A.; ONG, D.; SMITH, S.R.; TADDEI, K.; LARDELLI, M.; GROTH, D.M.; VERDILE, G.; MARTINS, R. Regular Care and Maintenance of a Zebrafish (*Danio rerio*) Laboratory: An Introduction. **Journal of Visualized Experiments**, v. 69, p. 1-8, 2012. Doi:10.3791/4196.

BAKUZA, J.S.; GILLESPIE, R.; NKWENGULILA, G.; ADAM, A.; KILBRIDE, E.; MABLE, B.K. Assessing *S. mansoni* prevalence in *Biomphalaria* snails in the Gombe ecosystem of western Tanzania: the importance of DNA sequence data for clarifying species identification. **Parasites & Vectors**, v. 10, p. 2-11, 2017. Doi:10.1186/s13071-017-2525-6.

BARBOSA, E.J.; LOBENBERG, R.; ARAUJO, G.L.B.; CHACRA, N.A. Niclosamide repositioning for treating cancer: Challenges and nano-based drug delivery opportunities. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 141, p. 58-69, 2019. Doi:10.1016/j.ejpb.2019.05.004.

BARBOSA, C.S.; GOMES, E.C.S.; LOYO, R.M.; CAVALCANTI, M.I.S.B.M.; SILVA, I.E.P.; ALMEIDA, A.S. Insalubrious touristic environments and schistosomiasis transmission in Pernambuco, Brazil. **Revista Ambiente e Água**, v. 13, p. 2-10, 2018. Doi:10.4136/ambi-agua.2151.

BARBOSA, C.S.; GOMES, E.C.S.; CAMPOS, J.V.; OLIVEIRA, F.J.M.; MESQUISTA, M.C.S.; OLIVEIRA, E.C.A.; DOMINGUES, A.L.C. Morbidity of mansoni schistosomiasis in

Pernambuco—Brazil: Analysis on the temporal evolution of deaths, hospital admissions and severe clinical forms (1999–2014). **Acta Tropica**, v. 164, p. 10-16, 2016. Doi:10.1016/j.actatropica.2016.06.024.

BARBOSA, V.S.; GUIMARÃES, R.J.P.S.; LOYO, R.M.; MARCELINO, S.; BARBOSA, C.S. First report of schistosomiasis on Serrambi beach, Ipojuca, State of Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v. 48, n. 6, p. 780-782, 2015. Doi:10.1590/0037-8682-0079-2015.

BARBOSA, C.S.; ARAUJO, K.C.; SEVILHA, M.A.; MELO F.; GOMES, E.C.S.; SOUZA-SANTOS, R. Current epidemiological status of schistosomiasis in the state of Pernambuco, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 105, n. 4, p. 549-554, 2010. Doi:10.1590/S0074-02762010000400034.

BARBOSA, F.S. Tópicos em malacologia médica. Rio de Janeiro: FIOCRUZ. 1995. 314.

BECKER, W.; MARXEN, J.; EPPLE, M.; REELSEN, O. Influence of microgravity on crystal formation in biomineralization. **Journal of applied physiologu**, v. 89, p. 1601-1607, 2000. Doi:10.1152/jappl.2000.89.4.1601.

BELTRÃO, E.I.C.; MEDEIROS, P.L.; RODRIGUES, O.G.; FIGUEREDO-SILVA, J.; VALENÇA, M.M.; COELHO, L.C.B.B.; CARVALHO JR, L.B. *Parkia pendula* lectin as histochemistry marker for meningothelial tumour. **European Journal of Histochemistry**, v. 139, n. 2, p. 139-142, 2003. Doi:10.4081/819.

BEZERRA, F.S.M.; PINHEIRO, M.C.C.; SILVA FILHO, J.D.; CASTRO, I.M.N.; CALDEIRA, R.L.; SOUSA, M.S.; CAVALCANTE, A.B.; RAMOS JÚNIOR, A.N. Identification of *Biomphalaria* sp. and other freshwater snails in the large-scale water transposition project in the Northeast of Brazil. **Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 60, p. 1-10, 2018. Doi:10.1590/s1678-9946201860041.

BEZERRA, J.C.B.; SILVA, I.A.; FERREIRA, H.D.; FERRI, P.H.; SANTOS, S.C. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of brazilian cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 73, p, 428-430, 2002. Doi:10.1016/s0367-326x(02)00121-1.

BOGITSH, B.J.; CARTER, C.E.; OELTMANN, T.N. General characteristics of the trematoda. **Human Parasitology**, v. 9, p. 149–174, 2019. Doi:10.1016/b978-0-12-813712-3.00009-6.

BOISSIER, J.; MOUAHID, G.; MONÉ, H. *Schistosoma* spp.. **Global Water Pathogen Project, Michigan State University**, v. 1, p. 3-35, 2019. Doi:10.14321/waterpathogens.45.

BOHLOOL, B.; SCHMIDT, E. Lectins: a possible basis for specificity in the Rhizobium--legume root nodule symbiosis. **Science**, v. 19, n. 185, p. 269-271, 1974. Doi:10.1126/science.185.4147.269.

BRASIL 2021. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico. Número especial, **Ministério da Saúde**, Brasília (2021).

BRASIL. Vigilância em saúde. Esquistossomose. **Secretaria do Estado de Pernambuco**. 2018. Disponivel em: http://portal.saude.pe.gov.br/sites/portal.saude.pe.gov.br/files/boletim_esquistossomose_2017_pdf.pdf.

BRASIL 2014. Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Coordenação Geral de Doenças em Eliminação. Vigilância da esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas (4. Ed), **Ministério da Saúde**, Brasília (2014).

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância e controle de moluscos de importância epidemiológica. 2° edição. **Brasília: Ministério da Saúde**. 2008.

BUATHONGJAN, C.; ISRAKARN, K.; SANGWAN, W.; OUTREQUIN, T.; GAMONPILAS, C.; METHACANON, P. Studies on chemical composition, rheological and antioxidant properties of pectin isolated from Riang (*Parkia timoriana* (DC.) Merr.) pod. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 164, p. 4575-4582, 2020. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.09.079.

BURGOS-ACEVES, M.A.; FAGGIO, C. An approach to the study of the immunity functions of bivalve haemocytes: physiology and molecular aspects. **Fish Shellfish Immunol,** v. 67, p. 513–517, 2017. Doi:10.1016/j.fsi.2017.06.042.

BUSTINDUY, A.L.; KING, C.H. Schistosomiasis. **Manson's Tropical Infectious Diseases**, v. 52, p. 698-725, 2014. Doi:10.1016/B978-0-7020-5101-2.00053-4.

CALASANS, T.A.S.; SOUZA, G.T.R.; MELO, C.M.; MADI, R.R. Socioenvironmental factors associated with *Schistosoma mansoni* infection and intermediate hosts in an urban area of northeastern Brazil. **PLOS ONE**, v. 2, p. 1-14, 2018. Doi:10.1371/journal.pone.0195519.

CAMARGO, L.J.; PICOLI, T.; FISCHER, G.; FREITAS, A.C.O.; ALMEIDA, R.B.; PINTO, L.S. Antiviral activity of native banana lectin against bovine viral diarrhea virus and bovine alphaherpesvirus type 1. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 157, p. 569-576, 2020. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.04.125.

CAMEY, T; VERDONK, N.H. The early development of the snail *Biomphalaria glabrata* (Say) and the origin of the head organs. **Netherlands Journal of Zoology**, v. 20, n. 1, p. 93-121, 1969.

CARNEIRO, R.F.; AGUIAR, E.S.; SANTOS, V.F.; SANTOS, A.L.E.; SANTOS, M.H.C.; ROMA, R.R.; SILVA, R.R.S.; LEAL, M.L.M.B.; SILVA, L.T.; ROCHA, B.A.M.; SILVA, C.G.L.; NAGANO, C.S.; SAMPAIO, A.H.; SOUZA, R.O.S.; TEIXEIRA, C.S. Elucidation of the primary structure and molecular modeling of *Parkia pendula* lectin and in vitro evaluation of the leishmanicidal activity. **Process Biochemistry**, v. 101, p. 1-10, 2020. Doi:10.1016/j.procbio.2020.11.004.

CARVALHO, OS.; COELHO, PMZ.; LENZI, HL. orgs. Schitosoma mansoni e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. **Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ**, 2008. 1124 p. ISBN 978-85- 7541-370-8.

CASTILLO, M.G.; HUMPHRIES, J.E.; MOURÃO, M.M.; MARQUEZ, J.; GONZALEZ, A.; MONTELONGO, C.E. *Biomphalaria glabrata* immunity: Post-genome advances.

Developmental & Comparative Immunology, v. 104, p. 103557, 2019. Doi:10.1016/j.dci.2019.103557.

CAVADA, B.S.; OSTERNE, V.J.S.; OLIVEIRA, M.T.; PINTO-JÚNIOR, V.R.; SILVA, M.T.L.; BARI, A.U.; LIMA, L.D.; LOSSIO, C.F.; NASCIMENTO, K.S. Reviewing Mimosoideae lectins: A group of under explored legume lectins. **International Journal of Biological Macromolecules,** v. 154, p. 159-165, 2020. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.03.113.

CAVALCANTI, M.G.S.; FILHO, F.C.; MENDONÇA, A.M.B.; DUARTE, G.R.; BARBOSA, C.C.G.S.; CASTRO, C.M.M.B.; ALVES, L.C.; BRAYNER, F.A. Morphological characterization of hemocytes from *Biomphalaria glabrata* and *Biomphalaria straminea*. **Micron**, v. 43, p. 285-291, 2012. Doi:10.1016/j.micron.2011.09.002.

CHANG, Y.; LEE, W.Y.; LIN, Y.J.; HSU, T. Mercury (II) impairs nucleotide excision repair (NER) in zebrafish (*Danio rerio*) embryos by targeting primarily at the stage of DNA incision. **Aquatic Toxicology**, v. 192, p. 97–104, 2017. Doi:10.1016/j.aquatox.2017.09.001.

CHARUNGCHITRAL, S.; PETSOM, A.; SANGVANICH, P.; KARNCHANATAT, A. Antifungal and antibacterial activities of lectin from the seeds of *Archidendron jiringa* Nielsen. **Food Chemistry**, v. 126, p. 1025-1032, 2011. Doi:10.1016/j.foodchem.2010.11.114.

CHEN, W.; MOOK, R.; PREMONT, R.T.; WANG, J. Niclosamide: Beyond an antihelminthic drug. **Cellular Signalling**, v. 41, p. 89-96, 2018. Doi:10.1016/j.cellsig.2017.04.001.

CHUAH, C.; GOBERT, G.N.; LATIF, B.; HEO, C.C.; LEOW, C.Y. Schistosomiasis in Malaysia: A review. **Acta Tropica**, v. 190, p. 137-143, 2019. Doi:10.1016/j.actatropica.2018.11.012.

CIRKOVIC, M.; KARTALOVIC, B.; NOVAKOV, N.; PELIC, M.; DJORDJEVIC, V.; RADOSAVLJEVIC, V.; ALEKSIC, N. Distribution of niclosamide residues in meat and internal organs of common carp. **Procedia Food Science**, v, 5, 54-56, 2015. Doi:10.1016/j.profoo.2015.09.014.

COELHO, P.M.Z.; CALDEIRA, R.L. Critical analysis of molluscicide application in schistosomiasis control programs in Brazil. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 5, n. 57, p. 2-6, 2016. Doi:10.1186/s40249-016-0153-6.

COLLEY, D.G.; SECOR, W.E. Immunology of human schistosomiasis. **Parasite Immunology**, v. 36, n. 8, p. 347–357, 2014. Doi:10.1111/pim.12087.

CONINCK, T.; DAMME, E.J.V. Review: The multiple roles of plant lectins. **Plant Science**, v. 313, p. 111096, 2021. Doi:10.1016/j.plantsci.2021.111096.

CORIOLANO, M.C.; MELO, C.M.L.; SILVA, F.O.; SCHIRATO, G.V.; PORTO, C.S.; SANTOS, P.J.P.; CORREIA, M.T.S.; PORTO, A.L.F.; CARNEIRO-LEÃO, A.M.J.; COELHO, L.C.B.B. *Parkia pendula* seed lectin: Potential use to treat cutaneous wounds in healthy and immunocompromised mice. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 172, n. 5, p. 2682-2693, 2014. Doi:10.1007/s12010-013-0692-2.

CORIOLANO, M.C.; SATURNINO, A.C.R.D.; CINTRA, E.A.; BELTÃO, E.I.C.; COLEHO L.C.B.B. Purification in milligram quantities and partial characterization of *Parkia pendula* seed lectin. **Journal of Biotechnology**, v. 150, p. 454-454, 2010. Doi:10.1016/j.jbiotec.2010.09.665.

COSTA, S.R.; VELASQUES, R.R.; HOFF, M.; SOUZA, M.M.; SANDRINI, J.Z. Characterization of different DNA repair pathways in hepatic cells of Zebrafish (*Danio rerio*). **DNA repair**, v. 83, p. 102695, 2019. Doi:10.1016/j.dnarep.2019.102695.

COURA-FILHO, P.; MENDES, N.M.; SOUZA, C.P.; PEREIRA, J.P. The prolonged use of niclosamide as a molluscicide for the control of *Schistosoma mansoni*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical,** v. 34, n. 5, p. 427-431, 1992. Doi:10.1590/S0036-46651992000500009.

CRIEL, G.R.J.; MACRAE, T.H. (2002) *Artemia* morphology and structure. ***Artemia*: Basic and Applied Biology**, v. 1, p. 1-37, 2002. Doi:10.1007/978-94-017-0791-6.

DABIRÉ, Y.; SOMDA, N.S.; COMPAORÉ, C.S.; MOGMENGA, I.; SOMDA, M.K.; OUATTARA, A.S.; DICKO, M.H.; UGWUANYI, J.O.; EZEOGU, L.I.; TRAORÉ, A.S. Molecular screening of bacteriocin-producing *Bacillus* spp. isolated from *Soumbala*, a fermented food condiment from *Parkia biglobosa* seeds. **Scientific African,** v. 12, p. e00836, 2021. Doi:10.1016/j.sciaf.2021.e00836.

DAI, Y.J.; JIA, Y.F.; CHEN, N.; BIAN, W.P.; LI, Q.K.; MA, Y.B.; CHEN, Y.L.; PEI, D.S. Zebrafish as a model system to study toxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, p. 11-17, 2014. Doi:10.1002/etc.2406.

DANABAS, D.; ATES, M.; TASTAN, B.E.; CIMEN, I.C.C.; UNAL, I.; AKSU, O.; KUTLU, B. Effects of Zn and ZnO nanoparticles on *Artemia salina* and *Daphnia magna* Organisms: Toxicity, accumulation and elimination. **Science of the Total Environment**, v. 711, p. 134869, 2020. Doi:10.1016/j.scitotenv.2019.134869.

DAS, A.; ROY, A.; MANDAL, A.; MONDAL, H.A.; HESS, D.; KUNDU, P.; DAS, S. Inhibition of *Bemisia tabaci* vectored, GroEL mediated transmission of tomato leaf curl New Delhi virus by garlic leaf lectin (*Allium sativum* leaf agglutinin). **Virus Research**, v. 300, p. 198443, 2021. Doi:10.1016/j.virusres.2021.198443.

DIALLO, D.; MARSTON, A.; TERREAUX, C.; TOURÉ, Y.; SMESTAD PAULSEN, B.; HOSTETTMANN, K. Screening of Malian medicinal plants for antifungal, larvicidal, molluscicidal, antioxidant and radical scavenging activities. **Phytotherapy research**, v. 15, p. 401-406, 2001. Doi:10.1002/ptr.738.

DHONT, J.; DIERCKENS, K.; STOTTRUP, J.; VAN STAPPEN, G.; WILLE, M.; SORGELOOS, P. Rotifers, *Artemia* and copepods as live feeds for fi sh larvae in aquaculture. **Advances in Aquaculture Hatchery Technology**, v. 5, p. 157-202, 2013. Doi:10.1533/9780857097460.1.157.

DUBEY, R.K.; UPADHYAY,G.; SINGH, V.; PANDEY, S. Antioxidant potential and free radical scavenging activity of *Parkia roxburghii*, G. Don, a lesser known leguminous tree from North East India. **South African Journal of Botany**, v. 131, p. 454-461, 2020. Doi:10.1016/j.sajb.2020.03.013.

D´COSTA, A.; SHEPHERD, I. Zebrafish development and genetics: Introducing undergraduates to developmental biology and genetics in a large introductory laboratory class. **Zebrafish in Education**, v. 6, n. 2, p. 169-177, 2009. Doi:10.1089=zeb.2008.0562.

EKPERIKPE, U.S.; OWOLABI, O.J.; OLAPEJU, B.I. Effects of *Parkia biglobosa* aqueous seed extract on some biochemical, haematological and histopathological parameters in streptozotocin induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 228, p. 1-10, 2019. Doi:10.1016/j.jep.2018.09.016.

ERB, M.; KLIEBENSTEIN, D.J. Plant secondary metabolites as defenses, regulators, and primary metabolites: The blurred functional trichotomy. **Plant Physiology**, v. 184, n. 1, p. 39-52, 2020. Doi:10.1104/pp.20.00433.

EVANS, W.C. Pesticides of natural origin. **Trease and Evans' Pharmacognosy**, v. 40, p. 533-536, 2009. Doi:10.1016/B978-0-7020-2933-2.00040-X.

FARIA, R.X.; ROCHA, L.M.; SOUZA, E.P.B.S.S.; ALMEIDA, F.B.; FERNANDES, C.P.; SANTOS, J.A.A. Molluscicidal activity of *Manilkara subsericea* (Mart.) dubard on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Acta Tropica**, v. 178, p. 163-168, 2018. Doi:10.1016/j.actatropica.2017.11.012.

FAVACHO, A.R.M.; CINTRA, E.A.; COELHO, L.C.B.B.; LINHARES, M.I.S. *In vitro* activity evaluation of *Parkia pendula* seed lectin against human cytomegalovirus and herpes virus 6. **Biologicals**, v. 35, p. 189-194, 2007. Doi:10.1016/j.biologicals.2006.09.005.

FAVRE, T.C.; MASSARA, C.L.; BECK, L.C.N.H.; CABELLO, R.K.S.A.; PIERI, O.S. Adherence to diagnosis followed by selective treatment of schistosomiasis mansoni and related knowledge among schoolchildren in an endemic area of Minas Gerais, Brazil, prior to and after the implementation of educational actions. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 13, p. 2-12, 2021. Doi:10.1016/j.parepi.2021.e00208.

FERNIE, A.R.; PICHERSKY, E. Focus Issue on metabolism: Metabolites, metabolites everywhere. **Plant physiology**, v. 169, n. 3, p. 1421-1423, 2015. Doi:10.1104/pp.15.01499.

FOTIE, J.; NKENGFACK, A.E.; PETER, M.G.; HEYDENREICH, M.; FOMUM, Z.T. Chemical constituents of the ethyl acetate extracts of the stem bark and fruits of *Dichrostachys cinerea* and the roots of *Parkia bicolor*. **Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia**, v. 18, n. 1, p. 111-115, 2004. Doi:10.4314/bcse.v18i1.61646.

FREIRES, I.A.; SARDI, J.C.O.; CASTRO, R.D.; ROSALEM, P.L. Alternative animal and non-animal models for drug discovery and development: Bonus or burden?. **Pharmceutical Research**, v. 34, n. 4, p. 681-686, 2017. Doi:10.1007/s11095-016-2069-z.

GAJARDO, G.M.; BEARDMORE, J.A. The brine shrimp Artemia: adapted to critical life conditions. **Frontiers in Physiology**, v. 3, p. 1-8, 2012. Doi:10.3389/fphys.2012.00185.

GIANNACCINI, M.; CUSCHIERI, A.; DENTE, L.; RAFA, V. Non-mammalian vertebrate embryos as models in nanomedicine. **Nanomedicine**, v. 10, p. 703-709, 2014. Doi:10.1016/j.nano.2013.09.010.

GOMES, E.C.S.; SILVA, I.D.P.; NASCIMENTO, W.R.C.; LOYO, R.M.; DOMINGUES, A.L.C.; BARBOSA, C.S. Urban schistosomiasis: An ecological study describing a new challenge to the control of this neglected tropical disease. **The Lancet Regional Health – Americas**, v. 8, p. 100144, 2022. Doi:10.1016/j.lana.2021.100144.

GOMES, F.S.; PROCÓPIO, T.F.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M.G. Antimicrobial lectin from *Schinus terebinthifolius* leaf. **Journal of Applied Microbiology**, v. 114, n. 3, p. 672-679, 2013. Doi:10.1111/jam.12086.

GORDIM, A.C.S.; SILVA, S.R.; MATHYS, L.; NOPPEN, S.; LIEKENS, S.; SAMPAIO, A.H.; NAGANO, C.S.; ROCHA, C.R.C.; NASCIMENTO, K.S.; CAVADA, B.S.; SADLER, P.T. Potent antiviral activity of carbohydrate-specific algal and leguminous lectins from the Brazilian biodiversity. **Med Chem Comm**, v. 10, n. 3, p. 390-398, 2019. Doi:10.1039/C8MD00508G.

GORDON, C.A.; KURSCHEID, J.; WILLIAMS, G.M.; CLEMENTS, A.C.A.; LI, Y.; ZHOU, X.N.; UTZINGER, J.; MCMANUS, D.P.; GRAY, D.J. Asian schistosomiasis:

Current status and prospects for control leading to elimination. **Tropical Medicine and Infectious Disease**, v. 4, n. 1, p. 2-29, 2019. Doi:10.3390/tropicalmed4010040.

GORE, A.V.; MONZO, K.; CHA, Y.R.; PAN, W.; WEINSTEIN, B.M. Vascular development in the zebrafish. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v. 2, n. 5, p. 1-21, 2012. Doi:10.1101/cshperspect.a006684.

GUYON, J.R.; STEFFEN, L.S.; HOWELL, M.H.; PUSACK, T.J.; LAWRENCE, C.; KUNKEL, L.M. Modeling human muscle disease in zebrafish. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1772, n. 2, p. 205-215, 2007. Doi:10.1016/j.bbadis.2006.07.003.

GRAEBING, P.W.; CHIB, J.S.; HUBERT, T.D.; GINGERICH, W.H. Gingerich Metabolism of niclosamide in sediment and water systems. **Journal of Agricultural and. Food Chemistry**, v. 52, n. 19, p. 5924-5932, 2004. Doi:10.1021 / jf0401524.

GRYSEELS, B.; POLMAN, K.; CLERINX, J.; KESTENS, L. Human schistosomiasis. **The Lancet**, v. 368, p. 1106–1118, 2006. Doi:10.1016/s0140-6736(06)69440-3.

HABIB, M.R.; SHAN, L.V.; ROLLINSON, D.; ZHOU, X. Invasion and dispersal of *Biomphalaria* species: Increased vigilance needed to prevent the introduction and spread of schistosomiasis. **Frontiers in Medicine**, v. 10, p. 1-16, 2021. Doi:10.3389/fmed.2021.614797.

HAMILTON, F. An Account of the fishes found in the river ganges and its branches. Constable & Robinson Ltd.; Edinburgh, UK: 1822.

HAN, Z.G.; BRINDLEY, P.J.; WANG, S.Y.; CHEN, Z. Schistosoma genomics: New perspectives on schistosome biology and host-parasite interaction. **Annual Review of Genomics and Human Genetics**, v. 10, p. 211-240, 2009. Doi:10.1146/annurev-genom-082908-150036.

HARRIS, B.I.; WILSON, C.; EVANS, I.R. Niclosamide methanol solvate and niclosamide hydrate: structure, solvent inclusion mode and implications for properties. **Acta**

Crystallographica C Structural Chemistry, v. 8, p. 758-763, 2014. Doi:10.1107/S2053229614015496.

HARTMANN, T. From waste products to ecochemicals: Fifty years research of plant secondary metabolism. **Phytochemistry**, v. 68, p. 2831-2846, 2007. Doi:10.1016/j.phytochem.2007.09.017.

HAY, S.I.; ABAJOBIR, A.A.; ABATE, K.H.; ABBAFATI, C.; ABBAS, K.M.; ABD-ALLAH, F.; ABERA, S.F. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 333 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the global burden of disease study 2016. **The Lancet**, v. 390, p. 1260–1344, 2017. Doi:10.1016/s0140-6736(17)32130-x.

HUANG, Y.X. Research and field application of molluscicides in China. **Chinese Journal of Schistosomiasis Control**, v. 31 v. 6, p. 679-684, 2019. Doi:10.16250/j.32.1374.2019080.

HUANG, Q.; YU, M.; CHEN, H.; ZENG, M.; SUN, Y.; SAHA, T.T.; CHEN, D. LRFN (leucine-rich repeat and fibronectin type-III domain–containing protein) recognizes bacteria and promotes hemocytic phagocytosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. **Fish Shellfish Immunol,** v. 72, p. 622–628, 2018. Doi:10.1016/j.fsi.2017.11.049.

IBRAHEEM, S.A.; ABDULAMEED, H.T.; JAAFAR, M.; TANIMU, F.B.; ANCHAU, H.G.; MICAH, M.M.; BASHIR, S.O.; BARMINAS, J.T.; SABIU, S. Functional characterization and biological properties of pectin from *Parkia biglobosa* pulp. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 27, p. 100300, 2022. Doi:10.1016/j.bcdf.2021.100300.

IRYANI, M.T.M.; SORGELOOS, P.; DANIEL, M.D.; TAN, M.P.; WONG, L.L.; MOK, W.J.; SATYANTINI, W.H.; MAHASRI, G.; SUNG, Y.Y. Cyst viability and stress tolerance upon heat shock protein 70 knockdown in the brine shrimp *Artemia franciscana*. **Cell Stress and Chaperones**, v. 25, n. 6, p. 1099-1103, 2020. Doi:10.1007/s12192-020-01113-0.

JIÃO-JIÃO, L. Endemic status and control of animal schistosomiasis in China. **Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi**, v. 31, n. 1, p. 40-46, 2019. Doi:10.16250/j.32.1374.2018313.

JOHNSTON, L.A.; YOSHINO, T.P. Larval *Schistosoma mansoni* excretory-secretory glycoproteins (ESPs) bind to hemocytes of *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda) via surface carbohydrate binding receptors. **Journal of Parasitology**, v. 84, n. 4, p. 786-793, 2001. Doi:10.1645/0022-3395(2001)087[0786:LSMESG]2.0.CO;2.

KABIR, S.R.; ISLAM, J.; AHAMED, S.; ALAM, M.T. *Asparagus racemosus* and *Geodorum densiflorum* lectins induce apoptosis in cancer cells by altering proteins and genes expression. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 191, p. 646-656, 2021. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2021.09.101.

KADRI, H.; LAMBOURNE, O.A.; MEHELLOU, Y. Niclosamide, a drug with many (Re)purposes. **ChemMedChem**, v. 13, n. 11, p. 1088-1091, 2018. Doi:10.1002/cmdc.201800100.

KALINDA, C.; CHIMBARI, M.; MUKARATIRWA, S. Implications of changing temperatures on the growth, fecundity and survival of intermediate host snails of schistosomiasis: A systematic review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 14, n. 1, p. 2-18, 2017. Doi:10.3390/ijerph14010080.

KALUEFF, A.V.; STEWART, A.M.; GERLAI, R. Zebrafish as an emerging model for studying complex brain disorders. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 35, n. 2, p. 63-75, 2014. Doi:10.1016/j.tips.2013.12.002.

KAMEL, B.; LAIDEMITT, M.R.; LU, L.; BABBITT, C.; WEINBAUM, O.L.; MKOJI, G.M.; LOKER, E.S. Detecting and identifying *Schistosoma* infections in snails and aquatic habitats: A systematic review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, p. e0009175, 2021. Doi:10.1371/journal.pntd.0009175.

KANUNGO, J.; CUEVAS, E.; ALI, S.F.; PAULE, M.G. Zebrafish model in drug safety assessment. **Current Pharmaceutical Design**, v. 20, n. 34, p. 5416-5429, 2014. Doi: 10.2174/1381612820666140205145658.

KATOCH, R.; TRIPATHI, A. Research advances and prospects of legume lectins. **Journal of Biosciences**, v. 46, n. 4, p. 2-30, 2021. Doi:10.1007/s12038-021-00225-8.

KATZ, N., 2018. Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose mansoni e Geohelmintoses. Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, CPqRR.

KAWANO, T.; NAKANO, E.; WATANABE, L. C. Estudo do desenvolvimento embrionário de *Biomphalaria glabrata* (Mollusca, Planorbidae) e suas aplicações. In: CARVALHO, O. S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose uma visão multidisciplinar. **Ed. FIOCRUZ. Rio de Janeiro**, p. 347-391, 2008.

KAWANO, T.; OKAZAKI, K.; RÉ, L. Embryonic development of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Mollusca, Gastropoda, Planorbidae): a practical guide to the main stages. **Malacologia**, n. 34, p. 25-32, 1992.

KAYUNI, S.A.; O'FERRALL, A.M.; BAXTER, H.; HESKETH, J.; MAINGA, B.; LALLY, D.; AL-HARBI, M.H.; LACOURSE, E.J.; JUZIWELO, L.; MUSAYA, J.; MAKAULA, P.; STOTHARD, J.R. An outbreak of intestinal schistosomiasis, alongside increasing urogenital schistosomiasis prevalence, in primary school children on the shoreline of Lake Malawi, Mangochi District, Malawi. **Infectious Diseases of Poverty**, v. 9, p. 2-10, 2020. Doi:10.1186/s40249-020-00736-w.

KHABIB, M.N.H.; SIVASANKU, Y.; LEE, H.B.; KUMAR, S.; KUE, C.S. Alternative animal models in predictive toxicology. **Toxicology**, v. 465, p. 153053, 2022. Doi:10.1016/j.tox.2021.153053.

KRISNAVEI, M.; KAVIPRIYA, M.; KAYASUDHA, J.B. Extraction and characterization of lectin from *Cicerarietinum black* and *Prunusdulcis nut* raw, its anti-inflammatory, antibacterial activity against oral pathogens. **Materials Today: Proceedings**, v. 1, p. 1-8, 2020. Doi:10.1016/j.matpr.2020.10.567.

KLOHE, K.; KOUDOU, B.G.; FENWICK, A.; FLEMING, F.; GARBA, A.; GOUVRAS, A.; HARDING-ESCH, E.M.; KNOPP, S.; MOLYNEUX, D.; D´SOUZA, S.; UTZINGER, J.; VOUNATSOU, P.; WALTZ, J.; ZHANG, Y.; ROLLINSON, D. A systematic literature review of schistosomiasis in urban and peri-urban settings. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, p. e0008995, 2021. Doi:10.1371/journal.pntd.0008995.

HOPKINS, H.C. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **New York: New York Botanical Garden**, v. 43, p. 1-123, 1986.

HOPKINS, M.J.G. Unusual diversities of seed beetles (Coleoptera: Bruchinae) on *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) in Brazil. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 19, n. 4, 329–338, 1983.

KOUADIO, F.; KANKO, C.; JUGE, M.; GRIMAUD, N.; JEAN, A.; N'GUESSAN, Y.T.; PETIT, J.Y. Analgesic and antiinflammatory activities of an extract from *Parkia biglobosa* used in traditional medicine in the ivory coast. **Phytotherapy Research**, v. 14, n. 8, p. 635-637, 2000. Doi:10.1002/1099-1573(200012)14:8<635::aid-ptr427>3.0.co;2-t.

LADHAR-CHAFFAAI, R.; HAMZA-CHAFFAAI, A. The cell cultures and the use of haemocytes from marine molluscs for ecotoxicology assessment. **Cytotechnology**, v. 68, n. 5, p. 1669-1685, 2016. Doi:10.1007/s10616-015-9932-3.

LAI, J.H.; ALAMO, J.C.; RODRIGUEZ, J.; LASHERAS, J.C. The mechanics of the adhesive locomotion of terrestrial gastropods. **Journal of Experimental Biology**, v. 15, p. 3920-3933, 2010. Doi:10.1242/jeb.046706.

LAGARDA-DIAZ, I.; GUZMAN-PARTIDA, A.M.; VAZQUEZ-MORENO, L. Legume Lectins: Proteins with diverse applications. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 6, p. 2-18, 2017. Doi:10.3390/ijms18061242.

LAM, S.K; BUN NG, T. Lectins: production and practical applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 89, n. 1, p. 45-55, 2011. Doi:10.1007/s00253-010-2892-9.

LANNOO, N.; VAN DAMME, E.J. Lectin domains at the frontiers of plant defense. **Frontiers in Plant Science**, v. 5, p. 1-16, 2014. Doi:10.3389/fpls.2014.00397.

LAWRENCE, C. The husbandry of zebrafish (*Danio rerio*): A review. **Aquaculture**, v. 269, p. 1-20, 2007. Doi:10.1016/j.aquaculture.2007.04.077.

LEAK, T.; AUFDERHEIDE, J.; BERGFIELD, A.; HUBERT, T.D. Acute toxicity of the lampricides TFM and niclosamide: Effects on a vascular plant and a chironomid species. **Journal of Great Lakes Research**, v. 46, n. 1, p. 180-187, 2020. Doi:10.1016/j.jglr.2019.11.0.

LEMMICH, E.; ADEWUNMI, C.O.; FURU, P.; KRISTENSEN, A.; LARSEN, L.; OLSEN, C.E. 5-deoxyflavones from *Parkia clappertoniana*. **Phytochemistry**, v. 42, p. 1011-1013, 1996. Doi:10.1016/0031-9422(96)00101-X.

LEO, G.A.; STENSGAARD, A.S.; SOKOLOW, S.H.; N'GORAN, E.K.; CHAMBERLIN, A.J.; YANG, G.J.; UTZINGER, J. Schistosomiasis and climate change. **BMJ**, v. 37, p. 1-8, 2020. Doi:10.1136/bmj.m4324.

LIESCHKE, G.J.; OATES, A.C.; CROWHURST, M.O.; WARD, A.C.; LAYTON, J.E. Morphologic and functional characterization of granulocytes and macrophages in embryonic and adult zebrafish. **Blood**, v. 98, n. 10, p. 3087-3096, 2001. Doi:10.1182/blood.v98.10.3087.

LIMA, M.V.; PEREIRA, M.I.A.; CABRAL FILHO, P.E.; SIQUEIRA, W.N.; SILVA, H.A.M.F.; FRANÇA, E.J.; SANTOS, B.S.; MELO, A.M.M.A.; FONTES, A. Studies on toxicity of suspensions of CdTe quantum dots to *Biomphalaria glabrata* mollusks. **Environmental Toxicology and Chemistry,** v. 38, n. 10, p. 2128-2136, 2019. Doi:10.1002/etc.4525.

LIU, Y.T.; WANG, F.H.; AI, X.H.; WANG, Z.Y.; YANG, Q.H.; XU, N. Residue depletion and risk assessment of niclosamide in three species of freshwater fish. **Food Addit & Contam. Part A,** v. 35, p. 1497-1507, 2018. Doi:10.1080/19440049.2018.1488184.

LIU, Y.T.; AI, X.H.; WANG, F.H.; SUO, W.W.; YANG, Q.W.; YANG, H.; XU, N. Determination of niclosamide in aquatic animal tissue by a novel extraction procedure and high-performance liquid chromatography–heated electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Analytical Letters**, v. 48, p. 929-943, 2015. Doi:10.1080/00032719.2014.968931.

LOCKYER, A.E.; SPINKS, J.; KANE, R.A.; HOFFMANN, K.F.; FITZPATRICK, J.M.; ROLLINSON, D.; NOBLE, L.R.; JONES, C.S. *Biomphalaria glabrata* transcriptome: cDNA microarray profiling identifies resistant- and susceptible-specific gene expression in haemocytes from snail strains exposed to *Schistosoma mansoni*. **BMC Genomics**, v. 9, p. 1-17, 2008. Doi:10.1186/1471-2164-9-634.

LOPES, T.A.; NOBUSHIGE, S.Y.L.; SILVA, A.P.S.; GOVEIA, C.O.; ENK, M.J.; SAMPAIO, I.; SALES, J.B.L.; FILHO, L.F.S.R. Distribution and identification of the genus *Biomphalaria* preston (1910): important insights into the epidemiology of schistosomiasis in the Amazon region. **Revista de Biologia**, v. 17, v. 2, p. 31-37, 2017. Doi:10.7594/revbio.17.02.06.

LOMBARDI, F.R.; FONTES, M.R.M.; SOUZA, G.M.O.; COELHO, L.C.B.B.; ARNI, R.K.; AZEVEDO, W.F. Crystallization and preliminary x-ray analysis of *Parkia pendula* lectin. Protein and peptide letters. **Hilversum: Bentham Science Publishers**, v. 5, n. 2, p. 117-120, 1998.

LÓPEZ-HERNÁNDEZ, D.; LOCKE, S.A.; ASSIS, J.C.A.; DRAGO, F.B.; MELO, A.L.; RABELO, E.M.L.; PINTO, H.A. Molecular, morphological and experimental-infection studies of cercariae of five species in the superfamily Diplostomoidea (Trematoda: Digenea) infecting *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae) in Brazil. **Acta Tropica**, v. 199, p. 2-11, 2019. Doi:10.1016/j.actatropica.2019.105082.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação, cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa: Plantarum**, 4. ed. v. 1, p. 368, 2002.

LOVERDE, P.T. Schistosomiasis. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 1154, p. 45-70, 2019. Doi:10.1007/978-3-030-18616-6_3.

LUCKOW, M. Tribe Mimoseae, In: LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B.; MACKINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the World. **Royal Botanic Gardens, Kew**, p. 163–183, 2005.

LUCKOW, M.; HOPKINS, H.C.F. A cladistic analysis of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **American Journal of Botany**, v. 82, p. 1300-1320, 1995.

LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; LIMA, M.R.F.; OMENA, M.C.; MENDONÇA, F.A.C.; BIEBER, L.W.; SANT´ANA, A.E.G. A study of the larvicidal and molluscicidal activities of some medicinal plants from northeast Brazil. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 97, n. 2, p. 199-206, 2005. Doi:10.1016/j.jep.2004.10.004.

LUO, C.; HUANG, Y.; HUANG, D.; LIU, M.; XIONG, W.; GUO, Q.; YANG, T. Migration and transformation characteristics of niclosamide in a soil−plant system. **ACS Omega**, v. 3, p. 2312-2331, 2018. Doi:10.1021/acsomega.8b00071.

MA, W.M.; LI, H.W.; DAI, Z.M.; YANG, J.S.; YANG, F.; YANG, W.J. Chitin-binding proteins of *Artemia* diapause cysts participate in formation of the embryonic cuticle layer of cyst shells. **Biochemical Journal**, v. 449, n. 1, p. 285-294, 2013. Doi:10.1042/BJ20121259.

MACHALOWSKI, T.; JESIONOWSKI, T. Hemolymph of molluscan origin: from biochemistry to modern biomaterials science. **Applied Physic**, v. 127, p. 3-22, 2021. Doi:10.1007/s00339-020-04166-1.

MADHAV, M.R.; DAVID, E.M.; KUMAR, R.S.S.; SWATHY, J.S.; BHUVANESHWARI, M.; MUKHERJEE, A.; CHANDRASEKARAN, N. Toxicity and accumulation of Copper oxide (CuO) nanoparticles in different life stages of *Artemia salina*. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 52, p. 227-238, 2017. Doi:10.1016/j.etap.2017.03.013.

MAGUIRE, J.H. Trematodes (Schistosomes and liver, intestinal, and lung flukes). **Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases**, v. 290, p. 3216–3226, 2015. Doi:10.1016/b978-1-4557-4801-3.00290-3.

MAKHOLOUF, A.; AL-SOHAIMY, S.; MOUSTAFA, Y.; SAADANI, M.E. Isolation and identification of lectin gene in licorice, *Glycorrhiza glabra* L., plant in Egypt. **Egyptian Journal of Genetics and Cytology**, v. 42, n. 1, p. 183-193, 2013. Doi:10.21608/ejgc.2013.10464.

MARDEN, B.; BROWN, P.; BOSTEELS, T. Great salt lake *Artemia*: Ecosystem functions and services with global reach. **Great Salt Lake Biology**, v. 7, p. 175-237, 2020. Doi:10.1007/978-3-030-40352-2_7.

MARTINS, M.; SILVA, A.; COSTA, M.H.; MIGUEL, C.; COSTA, P.M. Co-exposure to environmental carcinogens in vivo induces neoplasia-related hallmarks in low-genotoxicity events, even after removal of insult. **Sciencie Reports**, v. 8, p. 1-11, 2018. Doi:10.1038/s41598-018-21975-w.

MARTINS-MELO, F.R.; PINHEIRO, M.C.C.; RAMOS JR, A.N.; ALENCAR, C.H.; BEZERRA, F.S.M.; HEUKELBACH, J. Trends in schistosomiasis-related mortality in Brazil, 2000–2011. **International Journal for Parasitology**, v. 44, p. 1055-1062, 2014. Doi:10.1016/j.ijpara.2014.07.009.

MARXEN, J.C.; BECKER, W.; FINKE, D.; HASSE, B.; EPPLE, M. Early mineralizarion in *Biomphalaria glabrata*: microscopic and structural results. **Journal Molluscan Studies**, v. 69, p. 113-121, 2002. Doi:10.1093/mollus/69.2.113.

McMANUS, D.P.; BERGQUIST, R.; CAI, P.; RANASINGHE, S.; TEBEJE, B.M.; YOU, H. Schistosomiasis—from immunopathology to vaccines. **Seminars in Immunopathology**, v. 42, p. 1-17, 2020. Doi:10.1007/s00281-020-00789-x.

MENDES, R.J.A.; FILHO, A.A.P.; MOGUEIRA, A.J.L.; ARAÚJO, K.R.F.; FRANÇA, C.R.C.; CARVALHO, I.B.; SILVA, N.M.L.; AZEVEDO, A.S.; ROSA, I.G. Evaluation of molluscicidal activity of three mangrove species (*Avicennia schaueriana*, *Laguncularia racemosa* and *Rhizophora mangle*) and their effects on the bioactivity of *Biomphalaria* glabrata Say, 1818. **Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine**, v. 60, p. 1-9, 2018. Doi:10.1590/S1678-9946201860007.

MELO, A.O.; SANTOS, D.B.; SILVA, L.D.; ROCHA, T.L.; BEZERRA, J.C.B. Molluscicidal activity of polyhexamethylene biguanide hydrochloride on the early-life stages and adults of the *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Chemosphere**, v. 216, p. 365-371, 2019. Doi:10.1016/j.chemosphere.2018.10.035.

MISHRA, A.; BEHURA, A.; MAWATWAL, S.; ASHISH, K.; LINCOLN, N.; MOHANLY, S.S.; DEBRAJ, M.; PUJA, D.; MISHRA, A.; PATRA, S.K.; DHIMAN, R. Structure-function and application of plant lectins in disease biology and immunity. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, p. 2-17, 2019. Doi:10.1016/j.fct.2019.110827.

MONDAL, P.; BHUYAN, N.; DAS, S.; KUMAR, M.; BORAH, S.; MAHATO, K. Herbal medicines useful for the treatment of diabetes in north-east India: A review. **International Journal of Pharmacy and Biological Sciences**, v. 3, p. 575–589, 2013.

MONTE, T.C.C.; CHOMENTON, T.Q.; BERTHO, A.L.; MOURA, V.S.; VASCOSELLOS, M.C.; GARCIA, J.; FERRZA-NOGUEIRA, R.; JÚNIOR, A.M.; FARO, M.J. Changes in hemocytes of *Biomphalaria glabrata* infected with *Echinostoma paraensei* and exposed to glyphosate-based herbicide. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 160, p. 67-75, 2019. Doi:10.1016/j.jip.2018.11.007.

MOUAHID, G.; ROGNON, A.; AUGUSTO, R.C.; DRIGUEZ, P.; GEYER, K.; KARINSHAK, S.; LUVIANO, N.; MANN, V.; QUACK, T.; RAWLINSON, K.; WENDT, G.; GRUNAU, C.; MONÉ, H. Transplantation of schistosome sporocysts between host snails: A video guide. **Wellcome Open Research**, v. 3, p. 1-8, 2018. Doi:10.12688/wellcomeopenres.13488.1.

MUNTEANU, C. *Artemia salina*. **Balneo-Research Journal**, v. 2, n. 4, p. 119-122, 2011.

MURUGESAN, A.K.; GUNASAGARAN, K.S. Purification and characterization of a synergistic bioactive lectin from *Pleurotus flabellatus* (PFL-L) with potent antibacterial and *in-vitro* radical scavenging activity. **Analytical Biochemistry**, v. 635, p. 114450, 2021. Doi:10.1016/j.ab.2021.114450.

NAITHANI, S.; KOMATH, S.S.; NONOMURA, A.; GOVINDJEE, G. Plant lectins and their many roles: Carbohydrate-binding and beyond. **Journal of Plant Physiology**, v. 266, p. 153531, 2021. Doi:10.1016/j.jplph.2021.153531.

NAKANO, E.; WATANABE, L.C.; OHLWEILER, F.P.; PEREIRA, C.A.; KAWANO, T. Establishment of the dominant lethal test in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata*

(Say, 1818). **Mutation Research**, v. 536, p. 145-154, 2003. Doi:10.1016/s1383-5718(03)00042-1.

NARESSI, M.A.; RIBEIRO, M.A.S.; BERSANI-AMADO, C.A.; ZAMUNER, M.L.M.; COSTA, W.F.; ABE TANAKA, C.M.; SARRAGIOTTO, M.H. Chemical composition, antiinflammatory, molluscicidal and freeradical scavenging activities of the leaves of *Ficus radicans* 'Variegata' (Moraceae). **Natural Product Research**, v. 26, n. 4, p. 323-330, 2012. Doi:10.1080/14786411003754223.

NASCIMENTO, I.M.E.; MEIRELLES, L.M.A. Analysis of the epidemiological profile of schistosomiasis in Northeast Brazil. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 11, p. 1-19, 2020. Doi:10.33448/rsd-v9i11.10022.

NATION, C.S.; DA'DARA, A.A.; MARCHANT, J.K.; SKELLY, P.J. Schistosome migration in the definitive host. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, p. 1-12, 2020. Doi:10.1371/journal.pntd.0007951.

NAVARRO, R.C.; CADIZ, A.E.; FRONDA, J.M.; ONG, L.A.D.; BELIZARIO, J.V.Y. Prevalence of *Schistosoma japonicum* infection in water buffaloes in selected areas in Davao del Norte and Davao de Oro, the Philippines. **International Journal of One Health,** v. 7, p. 12-18, 2021. Doi:10.14202/IJOH.2021.12-18.

NELWAN, M.L. Schistosomiasis: Life cycle, diagnosis, and control. **Current Therapeutic Research**, v. 91, p. 5–9, 2019. Doi:10.1016/j.curtheres.2019.06.001.

NUBI, T.; ADEWOLE, T.S.; AGUNBIADE, T.O.; OSUKOYA, O.A.; KUKU, A. Purification and erythrocyte-membrane perturbing activity of a ketose-specific lectin from *Moringa oleifera* seeds. **Biotechnology Reports**, v. 31, p. e00650, 2021. Doi:10.1016/j.btre.2021.e00650.

NUNES, B.S.; CARVALHO, F.D.; GUILHERMINO, L.M.; STAPPEN, G.V. Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing. **Environmental Pollution**, v. 144, n. 2, p. 453-462, 2006. Doi:10.1016/j.envpol.2005.12.037.

OLADOKUN, B.O.; OMISORE O.N.; OSUKOYA, O.A.; KUKU, A. Anti-nociceptive and anti-inflammatory activities of *Tetracarpidium conophorum* seed lectin. **Scientific African**, v. 3, p. 2-9, 2019. Doi:10.1016/j.sciaf.2019.e00073.

OHLWEILER, F.P.; ROSSIGNOLI, T.J.; PALASIO, R.G.S.; TUAN, R. Taxonomic diversity of *Biomphalaria* (Planorbidae) in São Paulo state, Brazil. **Biota Neotrop**, v. 20, n. 2, p. 2-15, 2020. Doi:10.1590/1676-0611-BN-2020-0975.

OLIVEIRA, L.C.; RODRIGUES, D,P.; HOPKINS, H.C.F.; LEWIS, G.P.; HOPKINS, M.J.G. Phylogeny and historical biogeography of the pantropical genus *Parkia* (Leguminosae, Caesalpinioideae, mimosoid clade). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 163, p. 107219, 2021. Doi:10.1016/j.ympev.2021.107219.

OLIVEIRA, E.C.A.; SILVA, I.E.P.; FERREIRA, R.J.; GUIMARÃES, R.J.P.S.; GOMES, E.C.S.; BARBOSA, C.S. Mapping the risk for transmission of urban schistosomiasis in the Brazilian northeast. **Geospatial Health**, v. 15, n. 2, p. 371-381, 2020a. Doi:10.4081/gh.2020.861.

OLIVEIRA, L.C.; HOPKINS, M. 2020b. ***Parkia* in Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB23111>. Acesso em: 17 dez. 2021.

OLIVEIRA-FILHO, E.C.; GERALDINO, B.R.; COELHO, D.R.; CARVALHO, R.R.; PAUMGARTTEN, F.J.R. Comparative toxicity of *Euphorbia milii* latex and synthetic molluscicides to *Biomphalaria glabrata* embryos. **Chemosphere**, v. 81, p. 218-227, 2010. Doi:10.1016/j.chemosphere.2010.06.038.

ONG, H.C.; ZUKI, R.M.; MILOW, P. Traditional Knowledge of Medicinal Plants among the Malay Villagers in Kampung Mak Kemas, Terengganu, Malaysia. **Studies on Ethno-Medicine**, v. 5, n. 3, p. 175-185, 2011. Doi:10.1080/09735070.2011.11886407.

PACHECO, G.KN.; MALDONADO, N.S.S.; ALTA, R.Y.P.; VITORIANO, H.A. Short exposure of *Artemia salina* to group-12 metals: Comparing hatchability, mortality, lipid peroxidation, and swimming speed. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 213, p. 2-9, 2021. Doi:10.1016/j.ecoenv.2021.112052.

PALASIO, R.G.S.; ROSSIGNOLI, T.J.; SESSA, R.C.S.; OHLWEILER, F.P.; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Spatial analysis of areas at risk for schistosomiasis in the Alto Tietê Basin, São Paulo, Brazil. **Acta Tropica**, v. 224, p. 106132, 2021a. Doi:10.1016/j.actatropica.2021.106132.

PALASIO, R.G.S.; AZEVEDO, T.S.; TUAN, R.; CHIARAVALLOTI-NETO, F. Modelling the present and future distribution of *Biomphalaria* species along the watershed of the Middle Paranapanema region, São Paulo, Brazil. **Acta Tropica**, v. 214, p. 105764, 2021b. Doi:10.1016/j.actatropica.2020.105764.

PARAENSE, W.L. Histórico do gênero *Biomphalaria*, morfologia e sistemática morfológica. In: CARVALHO, O.S.; COELHO, P.M.Z.; LENZI, H.L. *Schistosoma mansoni* & Esquistossomose uma Visão Multidisciplinar. **Editora FIOCRUZ**. Rio de Janeiro. p. 285-308, 2008.

PARAENSE, W.L. Self and cross-fertilization in *Australorbis glabratus*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 53, p. 277–284, 1955. Doi:10.1590/S0074-02761955000200006.

PAZ, W.S.; DUTHIE, M.S.; JESUS, A.R.; ARAÚJO, K.C.G.M.; SANTOS, A.D.; SANTOS, M.B. Population-based, spatiotemporal modeling of social risk factors and mortality from schistosomiasis in Brazil between 1999 and 2018. **Acta Tropica**, v. 218, p. 105897, 2021. Doi:10.1016/j.actatropica.2021.105897.

PAZ, W.S.; GOMES, D.S.; RAMOS, R.E.; CIRILO, T.M.; SANTOS, I.G.A.; RIBEIRO, C.J.N.; ARAÚJO, K.C.G.M.; JESUS, A.M.R.; SANTOS, A.D.; SANTOS, M.B. Spatiotemporal clusters of schistosomiasis mortality and association with social determinants of health in the Northeast region of Brazil (1980–2017). **Acta Tropica**, v. 212, p. 2-9, 2020. Doi:10.1016/j.actatropica.2020.105668.

PEREIRA FILHO, A.A.; FRANÇA, C.R.C.; OLIVEIRA, D.S.; MENDES, R.J.A.; GONÇALVES, J.R.S.; ROSA, I.G. Evaluation of the molluscicidal potential of hydroalcoholic extracts from the stem, leaves and fruits of *Jatropha gossypiifolia* Linnaeus,

1753 in *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 6, p. 505-510, 2014. Doi:10.1590/S0036-46652014000600009.

PERES, C.A. Identifying keystone plant resources in tropical forests: the case of gums from *Parkia* pods. **Journal of Tropical Ecology**, v. 16, p. 287–317, 2000. Doi:10.1017/s0266467400001413.

PEUMANS, W.J.; VAN DAMME, E.J. Lectins as plant defense proteins. **Plant physiology**, v. 109, n. 2, p. 347-352, 1995. Doi:10.1104/pp.109.2.347.

PIECHOWSKI, D.; GOTTSBERGER, G. The seedpod gum of *Parkia pendula* (Fabaceae) as a deadly trap for vertebrates. **Biotemas**, v. 22, n. 1, p. 175-177, 2009. Doi:10.5007/2175-7925.2009v22n1p175.

PILA, E.A.; LI, H.; HAMBROOK, J.R.; WU, X.; HANINGTON, P.C. Schistosomiasis from a snail's perspective: Advances in snail immunity. **Trends in parasitology**, v. 33, n. 11, p. 845–857, 2017. Doi:10.1016/j.pt.2017.07.006.

PILA, E.A.; SULLIVAN, J.T.; WU, X.Z.; FANG, J.; RUDKO, S.P.; GORDY, M.A.; HANINGTON, P.C. Haematopoiesis in molluscs: a review of haemocyte development and function in gastropods, cephalopods and bivalves. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 58, p. 119-228, 2016. Doi:10.1016/j.dci.2015.11.010.

PINTO, C.; ALMEIDA, A.F. Um novo método para a profilaxia da esquistossomose mansoni. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz,** v. 40, p. 291-311, 1944.

PIRES, A.F.; BEZERRA, M.M.; AMORIM, R.M.F.; NASCIMENTO, F.L.F.; MARINHO, M.M.; MOURA, R.M.; SILVA, M.T.L.; CORREIA, J.L.A.; CAVADA, B.S.; ASSREUY, A.M.S.; NASCIMENTO, K.S. Lectin purified from *Lonchocarpus campestris* seeds inhibits inflammatory nociception. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 125, p. 53-60, 2019. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.11.233.

RAMOS, D.B.M.; ARAÚJO, M.T.M.F.; ARAÚJO, T.C.L.; SILVA, Y.A.; SANTOS, A.C.L.A.; SILVA, M.G.; PAIVA, P.M.G.; MENDES, R.L.; NAPOLEÃO, T.H. Antinociceptive activity of *Schinus terebinthifolia* leaf lectin (SteLL) in sarcoma 180-bearing

mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 259, p. 112952, 2020. Doi:10.1016/j.jep.2020.112952.

RAPADO, L.N.; PINHEIRO, A.S.; LOPES, P.O.M.V.; FOKOUE, H.H.; SCOTTI, M.T.; MARQUES, J.V.; OHLWEILER, F.P.; BORRELY, S.I.; PEREIRA, C.A.B.; KATO, M.J.; NAKONO, E.; YAMAGUCHI, L.F. Schistosomiasis control using piplartine against *Biomphalaria glabrata* at different developmental stages. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 6, p. 1-9, 2013. Doi:10.1371/journal.pntd.0002251.

RAVICHANDRAN, V.; VASSANTHI, S.; SHALINI, S.; SHAH, S.A.A.; TRIPATHY, M.; PALIWAL, N. Green synthesis, characterization, antibacterial, antioxidant and photocatalytic activity of *Parkia speciosa* leaves extract mediated silver nanoparticles. **Results in Physics**, v. 15, p. 2-8, 2019. Doi:10.1016/j.rinp.2019.102565.

RÊGO, M.J.B.M.; ALMEIDA, S.M.; BEZERRA, S.A.; CARVALHO, L.B.; BELTRÃO, E.I.C. Magnetic Parkia pendula seed gum as matrix for Concanavalin A lectin immobilization and its application in affinity purification. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p. 1351-1357, 2014. Doi:10.1590/0001-3765201420130316.

REY, O.; WEBSTER, B.L.; HUYSE, T.; ROLLINSON, D.; VAN DEN BROECK, F.; KINCAID-SMITH, J.; ONYEKWERE, A.; BOISSIER, J. Population genetics of African *Schistosoma* species. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 89, p. 104727, 2021. Doi:10.1016/j.meegid.2021.104727.

REZENDE, V.B. **Desenvolvimento de modelos animais alternativos para avaliação dos efeitos comportamentais e metabólicos de antipsicóticos**. Tese (Doutorado em Medicina Molecular) - Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2013.

RIBEIRO, E.C.G.; LEITE, J.A.C.; LUZ, T.R.S.A.; SILVEIRA, D.P.B.; BEZERRA, S.A.; FRAZÃO, G.C.C.G.; PEREIRA, L.P.L.; SANTOS, E.G.G.; FILHO, P.R.F.R.; SOARES, A.M.S.; SANTOS, R.L.; COUTINHO, D.F. Molluscicidal activity of monoterpenes and their effects on inhibition of acetylcholinesterase activity on *Biomphalaria glabrata*, an intermediate host of *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica,** v. 223, p. 106089, 2021a. Doi:10.1016/j.actatropica.2021.106089.

RIBEIRO, I.A.T.A.; SÁ, J.L.F., LIMA, M.V.; VERAS, S.T.S.; AGUIAR, J.C.R.O.F.; AIRES, A.L.; AL-BUQUERQUE, M.C.P.A.; SILVA, M.V.; MELO, A.M.M.A.; NAVARRO, D.M.A.F.; CORREIA, M.T.S. Toxic effect of *Croton rudolphianus* leaf essential oil against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae and *Artemia salina*. **Acta Tropica**, v. 223, p. 106102, 2021b. Doi:10.1016/j.actatropica.2021.10.

ROCHA-FILHO, C.A.A.; ALBUQUERQUE, L.P.; SILVA, L.R.S.; SILVA, P.C.B.; COELHO, L.C.B.B.; NAVARRO, D.M.A.F.; ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; MELO, A.M.M.A.; NAPOLEÃO, T.H.; PONTUAL, E.V.; PAIVA, P.M.G. Assessment of toxicity of *Moringa oleifera* flower extract to *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* and *Artemia salina*. **Chemosphere**, v. 132, p. 188-192, 2015. Doi:10.1016/j.chemosphere.2015.03.041.

RODRIGUES, J.G.M.; LIRA, M.G.S.; NOGUEIRA, R.A.; GOMES, G.C.C.; LICA, I.C.L.; VIEGAS-MELO, D.; TELES-REIS, A.; MIRANDA, G.S.; SILVA-SOUZA, N. Effectiveness of a handmade shell-based substrate for the breeding of *Biomphalaria glabrata* under laboratory conditions. **Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine**, v. 62, p. 1-6, 2020. Doi:10.1590/S1678-9946202062055.

RODRIGUES, O.G.; SILVA, W.W.; ATHAYDE, A.C.R.; NASCIMENTO, S.C.; BELTRÃO, E.I.C.; COELHO, L.C.B.B.; MEDEIROS, P.L.; FIGUEIREDO, J.R. Evaluation of *Parkia pendula* (Willd.) Benth. ex Walp. lectins' link to transmissible venereal tumor. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 10, n. 3, p. 11-15, 2008.

ROSA, R.C.T.; CAVALCANTI, V.L.B. Queda de folíolos em *Parkia pendula* causada por Pestalotiopsis sp. no Brasil. **Fitopatologia Brasileira**. v. 30, p. 672-676, 2005. Doi:10.1590/S0100-41582005000600022.

RUEBHART, D.R.; COCK, I.E.; SHAW, G.R. Brine shrimp bioassay: importance of correct taxonomic identification of *Artemia* (Anostraca) species. **Environmental Toxicology**, v. 23, n. 4, p. 555-560, 2008. Doi:10.1002/tox.20358.

SÁ, J.L.F.; SIQUEIRA, W.N.; SILVA, H.A.M.F.; SANTOS, M.L.O.; SANTOS, F.T.J.; SILVA, L.R.S.; CABRAL, D.L.V.; BEZERRA, I.C.F.; SOARES, L.A.L.; MELO, A.M.M.A. Evaluation of molluscicidal activity of *Anadenanthera colubrine* extracts on adult mollusc

and embryos of the species *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Scientia plena**, v. 12, n. 10, p. 2-9, 2016. Doi:10.14808/sci.plena.2016.101001.

SALEH, M.S.M.; JALIL, J.; ZAINALABIDIN, S.; ASMADI, A.Y.; MUSTAFA, N.H.; KAMISAH, Y. Genus *Parkia*: Phytochemical, medicinal uses, and pharmacological properties. **International Journal Molecular Sciences**, v. 22, p. 2-39, 2021. Doi:10.3390/ijms22020618.

SALMAN, A.KD.; LÓPEZ, G.F.Z.; BENTES-GAMA, M.M.; ANDRADE, C.M.S. **Espécies arbóreas nativas da Amazônia Ocidental Brasileira com potencial para arborização de pastagens**.1º Ed. v. 1, p. 7-20, Porto Velho, 2008.

SAMBUICHI, R.H.R.; SILVA, L.A.M.; JESUS, M.F.C.; PAIXÃO, J.L. Lista de árvores nativas do sul da Bahia. In: SAMBUICHI, R.H.R.; MIELKE, M.S.; PEREIRA, C.E., org. Nossas árvores: conservação, uso e manejo de árvores nativas no sul da Bahia [online]. Ilhéus, BA: Editus, 2009, p. 171-157. ISBN: 978-85-7455-515-7. Available from: Doi:10.7476/9788574555157.0010.

SANTANA, G.M.S.; ALBUQUERQUE, L.P.; PONTUAL, E.V.; SILVA, L.R.S.; AGUIAR, J.S.; SILVA, T.G.; MELO, A.M.M.A.; NAPOLEÃO, T.H.; PAIVA, P.M.G. Evaluation of the molluscicidal, artemicidal and cytotoxic activities of the Lectin from *Opuntia ficus-indica* Cladodes (OfiL). **Asian Journal of Research in Biochemistry**, v. 6, n. 3, p. 1-9, 2020. Doi: 10.9734/AJRB/2020/v6i330116.

SANTOS, L.M.M.; SILVA, P.M.; MOURA, M.C.; CARVALHO JUNIOR, A.R.; AMORIM, P.K.; PROCÓPIO, T.F.; COELHO, L.C.B.B.; SILVA, L.C.N.; PAIVA, P.M.G.; SANTOS, N.D.L.; NAPOLEÃO, T.H. Anti-Candida activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). **Journal of Medical Mycology**, v. 31, p. 101074, 2021. Doi:10.1016/j.mycmed.2020.101074.

SANTOS, A.L.E.; JÚNIOR, C.P.S.; NETO, R.N.M.; SANTOS, M.H.C.; SANTOS, V.F.; ROCHA, B.A.M.; SOUSA, E.M.; CARVALHO, R.C.; MENEZES, I.R.A.; OLIVEIRA, M.R.C.; DANTAS, L.B.R.; SILVA, T.M.; TEIXEIRA, C.S. *Machaerium acutifolium* lectin

inhibits inflammatory responses through cytokine modulation. **Process Biochemistry**, v. 97, p. 149-157, 2020. Doi:10.1016/j.procbio.2020.06.012.

SANTOS, M.B.; DOS SANTOS, A.D.; DA SILVA, P.P.; BARRETO, A.S.; SANTOS, E.O.; FRANÇA, A.V.C.; BARBOSA, C.S.; ARAÚJO, K.C.G.M. Spatial analysis of viral hepatitis and schistosomiasis coinfection in an endemic area in Northeastern Brazil. **Revista da Sociedade Brasilieira de Medicina Tropical**, v. 50, n. 3, p. 383–387, 2017. Doi:10.1590/0037-8682-0411-2016.

SANTOS, E.A.; CARVALHO, C.M.; COSTA, A.L.S.; CONCEIÇÃO, A.S.; PRADO MOURA, F.B.; SANTANA, A.E.G. Bioactivity evaluation of plant extracts used in indigenous medicine against the snail, *Biomphalaria glabrata*, and the larvae of *Aedes aegypti*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 2-9, 2012. Doi:10.1155/2012/846583.

SANTOS, A.F.; CAVADA, B.S.; ROCHA, B.A.M.; NASCIMENTO, K.S.; SANT´ANA, A.E.G. Toxicity of some glucose/mannose-binding lectins to *Biomphalaria glabrata* and *Artemia salina*. **Bioresource Technology**, v. 101, p. 794-798, 2010. Doi: 10.1016/j.biortech.2009.07.062.

SANTOS, A.F.; AZEVEDO, D.P.L.; MATA, R.C.S.; MENDONÇA, D.I.M.D.; SANT´ANA, A.E.G. The lethality of *Euphorbia conspicua* to adults of *Biomphalaria glabrata*, cercaria of *Schistosoma mansoni* and larvae of *Artemia salina*. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 135–139, 2007. Doi:10.1016/j.biortech.2005.11.020.

SANTORIELLO, C.; ZON, L.I. Hooked! Modeling human disease in zebrafish. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 122, n. 7, p. 2337-2343, 2012. Doi:10.1172/JCI60434.

SCHOLTE, R.G.C.; CARVALHO, O.S.; MALONE, J.B.; UTZINGER, J.; VOUNATSOU, P. Spatial distribution of *Biomphalaria* spp., the intermediate host snails of *Schistosoma mansoni*, in Brazil. **Geospatial Health**, v. 6, n. 3, p. 95-101, 2012. Doi:10.4081/gh.2012.127.

SCHULTZ, J.H.; ADEMA, C.M. Comparative Immunogenomics of molluscs. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 75, p. 3-15, 2017. Doi:10.1016/j.dci.2017.03.013.

SCHWARTZ, C.; FALLON, P.G. Schistosoma "Eggs-Iting" the host: Granuloma formation and egg excretion. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 1-16, 2018. Doi:10.3389/fimmu.2018.02492.

SELLAMI, I.; NACEUS, H.B.; KACEM, A. Reproductive performance in successive generations of the brine shrimp *Artemia salina* (Crustacea: Anostraca) from the Sebkha of Sidi El Hani (Tunisia). **Animal Reproduction Science**, v. 225, p. 106692, 2021. Doi:10.1016/j.anireprosci.2021.106692.

SILVA, Y.R.R.; SILVA, L.D.; ROCHA, T.L.; SANTOS, D.B.; BEZERRA, J.C.B.; MACHADO, K.B.; PAULA, J.M.; AMARAL, V.C.S. Molluscicidal activity of *Persea americana* Mill. (Lauraceae) stem bark ethanolic extract against the snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818): a novel plant-derived molluscicide?. **Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 4, p. 2-16, 2020a. Doi:10.1590/0001-3765202020200715.

SILVA, H.A.M.F.; AIRES, A.L.; SOARES, C.L.R.; SÁ, J.L.F.; MARTINS, M.C.B.; ALBUQUERQUE, M.C.P.A.; SILVA, T.G.; BRAYNER, F.A.; ALVES, L.C.; MELO, A.M.M.A.; SILVA, N.H. Barbatic acid from *Cladia aggregata* (lichen): Cytotoxicity and in vitro schistosomicidal evaluation and ultrastructural analysis against adult worms of *Schistosoma mansoni*. **Toxicology *in vitro***, v. 65, p. 2-10, 2020b. Doi:10.1016/j.tiv.2020.104771.

SILVA, F.C.O.; MENEZES, J.E.S.A.; FERREIRA, M.K.A.; SILVA, A.W.; HOLANDA, C.L.A.; LIMA, J.R.; CAMPOS, A.R.; EVARISTO, F.F.V.; TEIXEIRA, E.H.; MAGALHÕES, F.E.A.; BANDEIRA, P.N.; SANTOS, H.S. Antinociceptive activity of 3β-6β-16β-trihydroxylup-20 (29)-ene triterpene isolated from *Combretum leprosum* leaves in adult zebrafish (*Danio rerio*). **Biochem Biophys Res Commun**, v. 533, p. 362-367, 2020c. Doi: 10.1016/j.bbrc.2020.07.107.

SILVA, H.A.M.F.; SÁ, J.L.F.; SIQUEIRA, W.N.; LIMA, M.V.; MARTINS, M.C.B.; AIRES, A.L.; SILVA, N.H. Toxicological effects of *Ramalina aspera* (lichen) on *Biomphalaria glabrata* snails and *Schistosoma mansoni* cercariae. **Acta Tropica**, v. 196, p. 172–179, 2019. Doi:10.1016/j.actatropica.2019.05.010.

SILVA, P.M.; MOURA, M.C.; GOMES, F.S.; TRENTIN, D.S.; OLIVEIRA, A.P.S.; MELLO, G.S.V.; PITTA, M.G.R.; REGO, M.J.B.M.; COELHO, L.C.B.B.; MACEDO, A.J.; FIGUEIREDO, R.C.B.Q.; PAIVA, P.M.G.; NAPOLEÃO, T.H. gTeL, the lectin found in *Punica granatum* juice, is an antifungal agent against *Candida albicans* and *Candida krusei*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 391-400, 2018. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2017.12.039.

SILVA, C.L.P.A.C.; VARGAS, T.S.; BAPTISTA, D.F. Molluscicidal activity of *Moringa oleifera* on *Biomphalaria glabrata*: integrated dynamics to the control of the snail host of *Schistosoma mansoni*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 23, p. 848-850, 2013.

SILVA, T.M.S.; CÂMARA, C.A.; AGRA, M.F.; CARVALHO, M.G.; FRANA, M.T.; BRANDOLINE, S.V.P.B.; PASCOAL, L.S.; BRAZ-FILHO, R. Molluscicidal activity of *Solanum* species of the Northeast of Brazil on *Biomphalaria glabrata*. **Fitoterapia**, v. 77, p. 449-452, 2006. Doi:10.1016/j.fitote.2006.05.007.

SINGH, M.K. Potential of underutilized legume tree *Parkia timoriana* (DC.) Merr. In Eco-restoration of Jhum fallows of Manipur. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, v. 8, n. 2, p. 1685-1687, 2019.

SINGH, A.K.; SINGH, S.K.; KAMBOJ, P. Isolation and characterization of antifungal lectin from seeds of *Cassia auriculata* Linn. **Indian Journal of Agriculture and Allied Sciences,** v. 3, n. 2, p. 54-60, 2017.

SINGHA, B.; ADHYA, M.; CHATTERJEE, B.P. Multivalent II [β-d-Galp-(1→4)-β-d-GlcpNAc] and Tα [β-d-Galp-(1→3)-α-d-GalpNAc] specific Moraceae family plant lectin from the seeds of *Ficus bengalensis* fruits. **Carbohydrate Research**, v. 342, p. 1034-1043, 2007. Doi:10.1016/j.carres.2007.02.012.

SIQUEIRA, W.N.; FRANÇA, E.J.; PEREIRA, D.R.; VASCONCELOS LIMA, M.; SILVA, H.A.M.F.; ARAÚJO, H.D.A.; SÁ, J.L.F.; MELO, A.M.M.A. Study of genotoxic and cytotoxic effects after acute and chronic exposures to industrial sewage sludge on *Biomphalaria glabrata* hemocytes. **Chemosphere**, v. 249, p. 2-8, 2020. Doi:10.1016/j.chemosphere.2020.126218.

SOUZA, J.D.; SILVA, M.B.R.; ARGOLO, A.C.C.; NAPOLEÃO, T.H.; SÁ, R.A.; CORREIRA, M.T.S.; PAIVA, P.M.G.; SILVA, M.D.C.; COELHO, L.C.B.B. A new *Bauhinia monandra* galactose-specific lectin purified in milligram quantities from secondary roots with antifungal and termiticidal activities. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 65, p. 696-702, 2011. Doi:10.1016/j.ibiod.2011.02.009.

SOUZA-FILHO, A.P.S.; FONSECA, M.L.; ARRUDA, M.S.P. Chemical compounds with allelopathic activities in *Parkia pendula* (Leguminosae) Leaves. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 565-573, 2005. Doi:10.1590/S0100-83582005000400002.

SNEDDON, L.; HALSEY, L.G.; ENTERRAR, N.R. Considering aspects of the 3Rs principles within experimental animal biology. **Journal of Experimental Biology**, v. 1, p. 3007-3016, 2017. Doi:10.1242/jeb.147058.

SPENCE, R.; GERLACH, G.; LAWRENCE, C.; SMITH, C. The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biological Reviews Cambridge Philosphical Society**, v. 83, n. 1, p. 13–34, 2008. Doi:10.1111 / j.1469-185X.2007.00030.x.

SHARON, N.; LIS, H. History of lectins: from hemagglutinins to biological recognition molecules. **Glicobiology**, v. 14, n. 11, p. 53-62, 2004. Doi:10.1093/glycob/cwh122.

SRISAWAT, T.; SUVARNASINGH, A.; MANEENOON, K. Traditional medicinal plants notably used to treat skin disorders nearby Khao Luang mountain hills region, Nakhon si Thammarat, Southern Thailand. **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**, v. 22, n. 1, p. 35-56, 2016. Doi:10.1080/10496475.2015.1018472.

STENSGAARD, A.S.; VOUNATSOU, P.; SENGUPTA, M.E.; UTZINGER, J. Schistosomes, snails and climate change: Current trends and future expectations. **Acta Tropica**, v. 190, p. 257-268, 2018. Doi:10.1016/j.actatropica.2018.09.013.

TALLARICO, L.F.; MIYASATO, P.A.; NAKANO, E. Rearing and maintenance of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818): Adults and embryos under laboratory conditions. **Annals of Aquaculture and Research**, v. 3, n. 1, p. 2-4, 2016.

TALLARICO, L.F.; BORRELY, S.I.; HAMADA, N.; GRAZEFFE, V.S.; OHLWEILER, F.P.; OKAZAKI, K.; GRANATELLI, A.T.; PEREIRA, I.W.; PEREIRA, C.A.B.; NAKANO, E. Developmental toxicity, acute toxicity and mutagenicity testing in freshwater snails *Biomphalaria glabrata* (Mollusca: Gastropoda) exposed to chromium and water samples. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 110, p. 208-215, 2014. Doi:10.1016/j.ecoenv.2014.09.005.

TAMILARASAN, K.; ANNAPOORANI, A.; MANIKANDAN, R.; JANARTHANAN, S. Isolation, characterization of galactose-specific lectin from Odoiporus longicollis and its antibacterial and anticancer activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 183, p. 1119-1135, 2021. Doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.05.054.

TSANEVA, M.; VAN DAMME, J.M. 130 years of Plant Lectin Research. **Glycoconjugate Journal**, v. 37, p. 533-551, 2020. Doi:10.1007/s10719-020-09942-y.

VALLADARES, V.; PASQUINI, C.; THIENHO, S.C.; FERNANDEZ, M.A.; MELO-SILVA, C.C. Field application of NIR spectroscopy for the discrimination of the *Biomphalaria* Species that are intermediate hosts of *Schistosoma mansoni* in Brazil. **Fronties in Public Health**, v. 9, p. 1-8, 2021. Doi:10.3389/fpubh.2021.636206.

VAZ, A.F.M.; COSTA, R.M.P.B.; MELO, A.M.M.A.; OLIVA, M.L.V.; SANTANA, L.A.; SILVA-LUCCA, R.A.; COELHO, L.C.B.B.; CORREIA, M.T.S. Biocontrol of *Fusarium* species by a novel lectin with low ecotoxicity isolated from *Sebastiania jacobinensis*. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1507-1513, 2010. Doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.035.

VÉRAS, J.H.; CARDOSO, C.G.; PUGA, S.C.; BISNETO, A.V.M.; ROMA, R.R.; SILVA, R.R.S.; TEIXEIRA, C.S.; CHEN-CHEN, L. Lactose-binding lectin from *Vatairea macrocarpa* seeds induces in vivo angiogenesis via VEGF and TNF-α expression and modulates in vitro doxorubicin-induced genotoxicity. **Biochimie**, v. 194, p. 55-66, 2022. Doi:10.1016/j.biochi.2021.12.011.

VIANEY-LIAUD, M.; DUSSART, G. Aspects of pairing and reproduction in the hermaphrodite freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Gatropoda:Pulmonata). **The Macacological Society of London,** v. 68, n. 3, p. 243-248, 2002. Doi:10.1093/mollus/68.3.243.

VINTHER, J. The origins of molluscs. **Palaeontology**, v. 58, n. 1, p. 19–34. 2014. Doi:10.1111/pala.12140.

WANG, W.; BERGUQUIST, R.; KING, C.H.; YANG, K. Elimination of schistosomiasis in China: Current status and future prospects. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, p. 1-10, 2021a. Doi:10.1371/journal.pntd.0009578.

WANG, X.; RUAN, L.; SONG, Q.; WANG, W.; TONG, P.; KUANG, D.; LU, C.; LI, N.; HAN, Y.; DAI, J.; SUN, X. First report of *Schistosoma sinensium* infecting *Tupaia belangeri* and *Tricula* sp. LF. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 14, p. 84–90, 2021b. Doi:10.1016/j.ijppaw.2021.01.005.

WANG, T.; WYETH, R.C.; LIANG, D.; BOSE, U.; NI, G.; MCNAUS, D.P.; CUMMINS, S.F. A *Biomphalaria glabrata* peptide that stimulates significant behaviour modifications in aquatic free-living *Schistosoma mansoni* miracidia. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1-20, 2019. Doi:10.1371/journal.pntd.0006948.

WANG, C.; JIA, H.; ZHU, L.; ZHANG, H.; WANG, Y. Toxicity of α-Fe_2O_3 nanoparticles to *Artemia salina* cysts and three stages of larvae. **Science of The Total Environment**, v. 598, p. 847-855, 2017. Doi:10.1016/j.scitotenv.2017.04.183.

WANG, H.X.; NG, T.B. Concurrent isolation of a Kunitz-type trypsin inhibitor with antifungal activity and a novel lectin from *Pseudostellaria heterophylla* roots. **Biochemical**

and Biophysical Research Communications, v. 342, p. 349-353, 2006. Doi: 10.1016/j.bbrc.2006.01.109.

WEINSTEIN, B. Vascular cell biology in vivo: A new piscine paradigm? **Trends in Cell Biology**, v. 12, n. 9, p. 439-445, 2002. Doi:10.1016/s0962-8924(02)02358-9.

WEN-MING, M.; HUA-WEL, L.; ZHONG-MIN, D.; JIN-SHU, Y.; YANG, F.; YANG, W.J. Chitin-binding proteins of *Artemia* diapause cysts participate in formation of the embryonic cuticle layer of cyst shells. **Biochemical Journal**, v. 449, n. 1, p. 285-294, 2013. Doi:10.1042/BJ20121259.

WEPNJE, G.B.; ANCHANG-KIMBI, J.K.; NDASSI, V.D.; LEHMAN, L.G.; KIMBI, H.K. *Schistosoma haematobium* infection status and its associated risk factors among pregnant women in Munyenge, South West Region, Cameroon following scale-up of communal piped water sources from 2014 to 2017: a cross-sectional study. **BMC Public Health**, v. 19, n. 1, p. 2-10, 2019. Doi:10.1186/s12889-019-6659-7.

WHO. Schistosomiasis, 2022. Disponivel em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/schistosomiasis#> Acesso em: 19/001/2022.

YADAV, S.C.; JAGANNADHAM, M.V. Physiological changes and molluscicidal effects of crude latex and Milin on *Biomphalaria glabrata*. **Chemosphere**, v. 71, p. 1295-1300, 2008. Doi:10.1016/j.chemosphere.2007.11.068.

YANG, G.J.; SUN, L.P.; HONG, Q.B.; ZHU, H.R.; YANG, K.; GAO, O.; ZHOU, X.N. Optimizing molluscicide treatment strategies in different control stages of schistosomiasis in the People's Republic of China. **Parasites Vectors**, v. 5, p. 2-8, 2012. Doi:10.1186/1756-3305-5-260.

YI-XIN, H. Strengthening the research on novel molluscicides to accelerate the progress towards elimination of schistosomiasis. **Chinese Journal of Schistosomiasis Control**, v. 31, n. 2, p. 107-108, 2019. Doi:10.16250/j.32.1374.2019084.

ZHAO, S.; HUANG, J.; YE, J. A fresh look at zebrafish from the perspective of cancer research. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 34, p. 2-9, 2015. DOI: 10.1186/s13046-015-0196-8.

ZHENG, L.; DENG, L.; ZHONG, Y.; WANG, Y.; GUO, W.; FAN, X. Molluscicides against the snail-intermediate host of *Schistosoma*: a review. **Parasitology Research**, v. 120, n. 10, p. 1-39, 2021. Doi:10.1007/s00436-021-07288-4.

ZHU, B.; HE, W.; YANG, F.; CHEN, L. High-throughput transcriptome sequencing reveals the developmental toxicity mechanisms of niclosamide in zebrafish embryo. **Chemosphere**, v. 244, p. 2-11, 2020. Doi:10.1016/j.chemosphere.2019.125468.

ZOU, H.Y.; YU, Q.F.; QIU, C.; WEBSTER, J.P.; LU, D.B. Meta-analyses of *Schistosoma japonicum* infections in wild rodents across China over time indicates a potential challenge to the 2030 elimination targets. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, p. 1-21, 2020. Doi:10.1371/journal.pntd.0008652.

ZUBCEVIC, N.; FOCAK, M.; SUIJEVIC, D. Highly specific hemagglutination activity of plant lectins in specific species: Case of fabaceae and solanaceae. **Bulgarian Journal of Agricultural Science**, v. 24, n. 3, p. 391-297, 2018.

ANEXO A – RESUMOS ENVIADOS PARA EVENTOS CIENTÍFICOS

Regional da Federação de Sociedade de Biologia experimental

Extrato salino de sementes de *Parkia pendula*: Análise fitoquímica e toxicidade sobre estágios embrionários de *Biomphalaria glabrata*

José Josenildo Batista[1]; Magda Rhayanny Assunção Ferreira[2]; Luiz Alberto Lira Soares[3]; Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo[4]; Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque[5]; Hallysson Douglas Andrade de Araujo[6]; André de Lima Aires[7]; Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho[8]

josenildo.batista@ufpe.br[1]; magda.ferreia00@gmail.com[2]; luiz.albertosoares@ufpe.br[3]; amdemelo@hotmail.com[4]; jcmonica@globo.com[5]; douglas.ufpe29@gmail.com[6]; andre.laires@ufpe.br[7]; lcbbcoelho@gmail.com[8]

Introdução: A utilização do moluscicida niclosamida tem sido uma das alternativas no controle populacional do hospedeiro intermediário *Schistosoma mansoni*, agente etiológico da esquistossomose. Apesar da eficácia da niclosamida, seu alto custo, elevada toxicidade ambiental e baixa seletividade biocida encorajam a busca por novos moluscicidas, especialmente de origem natural, biosseguros e seletivos. *Parkia pendula* (Fabaceae), conhecida popularmente como "visgueiro", é amplamente encontrada no Brasil e suas sementes possuem uma lectina (PpeL) que apresenta aplicações biológicas e farmacológicas. Objetivou-se analisar o extrato salino das sementes de *P. pendula* por análise fitoquímica e seu efeito embriotóxico contra *Biomphalaria glabrata*, hospedeiro intermediário do *S. mansoni*. **Métodos:** O extrato salino das sementes de *P. pendula* (exsicata nº 92516) foi obtido da suspensão em NaCl 0,15 M. Os metabólitos secundários foram investigados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e a análise quantitativa do conteúdo de proteínas e carboidratos utilizando albumina sérica bovina e galactose como padrão, respectivamente, bem como a atividade hemaglutinante em suspensão 2,5% (v/v) de eritrócitos de coelhos tratados com glutaraldeído foram realizadas. Para o ensaio biológico, embriões (n = 100) nos estágios de blástula (E1), gástrula (E2), trocóforo (E3), véliger (E4) e *Hippo stage* (E5) foram expostos durante 24 h ao extrato salino em diferentes concentrações (12,5-1000 ppm). Após a exposição, os embriões foram lavados e transferidos para placas com água filtrada e declorada e analisadas em microscópio quanto à sua viabilidade (normais) e inviabilidade (malformações e mortos). **Resultado:** A análise do extrato salino apresentou uma concentração de proteínas de 5,1 mg/mL e atividade hemaglutinante de 128 com atividade hemaglutinante específica de 116,36 confirmando a presença da PpeL. A análise por CCD detectou apenas a presença de açúcares redutores, com conteúdo de 0,86 mg/mL na análise de carboidratos totais. Nas concentrações de 600 e 800 ppm o extrato proporcionou 95 e 100% de inviabilidade no estágio E1. Nas mesmas concentrações, os estágios E2 e E3 apresentaram 96,67; 100% e 70,33; 100%, respectivamente de inviabilidade. Todos os embriões nos estágios E4 e E5 demonstraram inviabilidade quando expostos nas concentrações de 1000 e 800 ppm, respectivamente. **Conclusão:** Conclui-se que o extrato salino rico em lectina e carboidratos das sementes de *P. pendula* apresenta-se como uma preparação promissora a ser utilizada no controle de estágios embrionários de *B. glabrata*.

Palavras chaves: *Parkia pendula*, embriotoxicidade, esquistossomose.

IX SEMANA DE BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE

Efeito do extrato salino de sementes de *Parkia pendula* em caramujos adultos *Biomphalaria glabrata*

Kaio Henrique de Freitas[1]; José Josenildo Batista[1]; Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo[1]; Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque[1]; André de Lima Aires[1]; Hallysson Douglas Andrade de Araujo[1]; Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho[1]

[1] Universidade Federal de Pernambuco

Introdução: A Niclosamida é uma alternativa para o controle populacional dos moluscos *Biomphalaria glabrata,* hospedeiro intermediário da esquistossomose mansônica. No entanto, esse composto tem apresentado elevada toxicidade ambiental e baixa seletividade, o que encoraja a busca por novos moluscicidas. A árvore *Parkia pendula* (Fabaceae) é encontrada no Brasil e atividades biológicas têm sido relatadas a essa espécie e à lectina PpeL encontrada nas suas sementes. **Objetivos:** Avaliar o efeito do extrato salino (ES) de sementes de *P. pendula* em caramujos de *B. glabrata*. **Métodos:** Sementes de *P. pendula* foram lavadas (água corrente e destilada), secas em estufa (37 °C) e trituradas para obtenção de pó. Esse (15 g) foi suspenso em NaCl 0,15 M (12 h), filtrado, centrifugado (12000 rpm, 15 min), e o sobrenadante re-centrifugado e liofilizado. A quantificação de proteínas foi comparada com o padrão albumina sérica bovina e a presença de lectina avaliada pela atividade hemaglutinante (AH) e específica (AHE). Caramujos adultos (n=10 em triplicata) foram expostos a diferentes concentrações do ES (1,0 - 5,0 mg/mL) por 24 h (25 ± 3°C). Em seguida, os animais foram lavados, transferidos para recipientes com água filtrada declorada e observados por 7 dias consecutivos quanto à sua mortalidade. **Resultados:** O ES apresentou 5,1 mg/mL de proteínas, AH de 64 e AHE de 12,54 confirmando a presença da lectina PpeL. O efeito moluscicida do ES apresentou uma taxa de mortalidade de 10,0%, 26,0%, 33,0%, 36,0%, 50.0% nas concentrações de 1,0, 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 mg/mL, respectivamente. Após uma semana de observação, a mortalidade variou entre 20% a 100% ocasionando inchaço da massa cefalopodal, produção de muco e liberação de hemolinfa nos moluscos. **Conclusões:** O ES das sementes de *P. pendula* contendo lectina ocasionou toxicidade e alterações fisiológicas em *B. glabrata* o que o torna uma alternativa promissora para o controle populacional dos mesmos.

Palavras-chave: *Parkia pendula*; produto natural; moluscicida; *Biomphalaria glabrata*; esquistossomose.

IX SEMANA DE BIOCIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA EM SAÚDE

Avaliação da fração rica em lectina das sementes de *Parkia pendula* sobre estágios embrionários de *Biomphalaria glabrata*

Bruna Isabel Santos Cruz[1]; José Josenildo Batista[1]; Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo[1]; Mônica Camelo Pessoa de Azevedo Albuquerque[1]; André de Lima Aires[1]; Hallysson Douglas Andrade de Araujo[1]; Luana Cassandra Breitenbach Barroso Coelho[1]

[1] Universidade Federal de Pernambuco

Introdução: *Biomphalaria glabrata* é o principal hospedeiro intermediário da esquistossomose. Uma alternativa para o controle dessa doença é a utilização do moluscicida niclosamida, no entanto, o alto custo e elevada toxicidade ambiental tem levado a busca por novas alternativas. *Parkia pendula* (Fabaceae) é uma espécie vegetal e suas sementes contêm a lectina PpeL que apresenta atividades biológicas. **Objetivo:** Avaliar o efeito da fração rica em lectina das sementes de *P. pendula* em diferentes estágios embrionários de *B. glabrata*. **Métodos:** Sementes de *P. pendula* foram lavadas (água corrente e destilada), seca em estufa (37 °C) e trituradas para obtenção do pó. Este (15g) foi suspenso em NaCl 0,15 M (12 h), filtrado, centrifugado (12000 rpm, 15 min), e o sobrenadante dialisado (48 h), re-centrifugado e as proteínas precipitada com sulfato de amônia 0-60% (fração rica em lectina) foram dialisada (água destilada e NaCl 0,15 M) e liofilizada. A quantificação de proteínas foi comparada com o padrão albumina de soro bovino e a presença de lectina pela atividade hemaglutinante (AH) e específica (AHE). Embriões (n=100 em triplicata) nos estágios de blástula (E1), gástrula (E2), trocofora (E3), véliger (E4) e Hippo stage (E5), foram expostos a fração em diferentes concentrações (0,0125 – 0,8 mg/mL), após 24 h de exposição foram lavados (água filtrada declorada) e analisadas quanto a viabilidade (normais) e inviabilidade (malformados e mortos). **Resultados:** A fração apresentou 0,91 mg/mL de proteínas, AH de 128 e AHE de 140,65 confirmando a presença da PpeL.Quanto ao efeito embriotóxico na concentração de 0,4 mg/mL a fração apresentou 100% de inviabilidade nos estágios E1 e E2, enquanto, nos estágios E3, E4 e E5 apresentaram o mesmo percentual (100%) de inviabilidades na concentração de 0,8 mg/mL. **Conclusões:** A fração rica em lectina PpeL das sementes de *P. pendula* apresentou efeitos tóxicos e teratogênicos sobre os embriões de *B. glabrata* demonstrando ser um moluscicida promissor.

Palavras-chave: *Parkia pendula*; esquistossomose; embriotoxicidade; *Biomphalaria glabrata*.

ANEXO B - LINK DO GUIA DOS AUTORES DO PERIÓTICO ACTA TROPICA EDITORIAL ELSEVIER

https://www.elsevier.com/journals/acta-tropica/0001-706x/guide-for-authors