

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE BIOCIÊNCIAS DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA

#### LARISSA STHEFANY DO NASCIMENTO FRANCO

# EFEITO MOLUSCICIDA DO EXTRATO BRUTO DE Anadenanthera colubrina SOBRE Biomphalaria glabrata

**RECIFE** 

# UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO CENTRO DE BIOCIÊNCIAS DEPARTAMENTO DE BIOFÍSICA E RADIOBIOLOGIA

#### LARISSA STHEFANY DO NASCIMENTO FRANCO

## EFEITO MOLUSCICIDA DO EXTRATO BRUTO DE Anadenanthera colubrina SOBRE Biomphalaria glabrata

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado ao Curso de graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Ana Maria Mendonça de

Albuquerque Melo.

Coorientadora: Maíra de Vasconcelos

Lima Sampaio.

**RECIFE** 

2025

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Franco, Larissa Sthefany do Nascimento.

Efeito moluscicida do extrato bruto de Anadenanthera colubrina sobre Biomphalaria glabrata / Larissa Sthefany do Nascimento Franco. - Recife, 2025. 61 : il., tab.

Orientador(a): Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo Cooorientador(a): Maíra de Vasconcelos Lima Sampaio Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Biomedicina, 2025. Inclui referências.

1. Molusco. 2. Extratos vegetais. 3. Esquistossomose. 4. Citotoxicidade. 5. Ecotoxicidade. I. Melo, Ana Maria Mendonça de Albuquerque. (Orientação). II. Sampaio, Maíra de Vasconcelos Lima. (Coorientação). IV. Título.

570 CDD (22.ed.)

#### LARISSA STHEFANY DO NASCIMENTO FRANCO

## EFEITO MOLUSCICIDA DO EXTRATO BRUTO DE Anadenanthera colubrina SOBRE Biomphalaria glabrata

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado ao Curso de graduação em Biomedicina da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

Aprovado em: 12/08/2025.

#### **BANCA EXAMINADORA**

Prof <sup>a</sup> . Dra. Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Dra. Maíra Vasconcelos Lima Sampaio
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Dr. Dewson Rocha Pereira
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Msc. Thierry Wesley de Albuquerque Aguiar Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Dedico este trabalho ao meu avô, Altino. Embora o Alzheimer tenha silenciado suas lembranças, a sua memória permanece em meu coração e me sustentou nos momentos mais desafiadores desta jornada. Esse trabalho é reflexo da força e coragem que o senhor sempre mostrou e continua viva em mim.

#### **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradeço a Deus pela oportunidade de ingressar e permanecer na universidade que sempre desejei. Se estou aqui hoje, foi por causa Dele.

Sou eternamente grata aos meus pais, que por muitas vezes abriram mão de si próprios para que eu pudesse chegar até aqui. Os desafios foram muitos, mas vocês me apoiaram do começo ao fim, sempre me encorajando e sendo minha base. Essa conquista é tão minha quanto de vocês. Sou grata às minhas irmãs que, apesar de mais novas me ensinam muito sobre a vida, estarei acompanhando suas conquistas de perto, assim como estiveram comigo em todos os momentos dessa jornada.

Agradeço ao meu noivo, Flávio, pelo carinho, apoio incondicional e compreensão em todos os momentos até aqui. Nos momentos em que a dúvida e o cansaço quase me fizeram desistir, sua fé em mim me incentivou para que eu seguisse adiante. Sou grata por ter ao meu lado alguém que acredita no meu potencial e divide comigo os sonhos e desafios.

À minha amiga, Luísa, que esteve ao meu lado desde o primeiro dia desta jornada. Obrigada pela amizade, companheirismo e apoio que foi essencial nessa caminhada.

À minha orientadora, Ana Maria, pela receptividade no laboratório, paciência diante das dúvidas e dedicação que foram fundamentais para a realização deste trabalho. Sem sua orientação e incentivo, tudo isso não teria sido possível.

Agradeço também à minha coorientadora, Maíra, que me deu suporte durante todo o trabalho. Foi mais que uma coorientadora e com certeza deixou sua marca na minha vida, tanto profissional quanto pessoal.

Não posso deixar de agradecer a Luís que me auxiliou e teve um papel fundamental na realização deste trabalho. Seu apoio e direcionamento foram essenciais ao longo desse processo.

Ao pessoal do laboratório e departamento de Biofísica e Radiobiologia, em especial Dewson, Thierry, Laura, Ana Clara, Alice e Douglas, pelo ambiente receptivo, ótima convivência e pela incrível troca de conhecimentos que sempre existiu.

Por fim, agradeço a PROPESQI pelo financiamento da pesquisa, possibilitando a realização deste trabalho.

FRANCO, Larissa Sthefany do Nascimento. **Efeito moluscicida do extrato bruto de** *Anadenanthera colubrina* **sobre** *Biomphalaria glabrata*. 2025. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

#### **RESUMO**

Devido ao seu papel como hospedeiro intermediário do trematódeo Schistosoma mansoni, o molusco Biomphalaria glabrata tornou-se alvo de estratégias de controle da esquistossomose. No entanto, a ecotoxicidade ambiental e o alto custo do moluscicida disponível atualmente, a niclosamida, impulsionam a busca por alternativas mais eficientes e sustentáveis. Nesse contexto, o objetivo do trabalho foi avaliar a atividade moluscicida do extrato bruto do fruto da Anadenanthera colubrina sobre o molusco *B. glabrata*. Para isso, o extrato bruto foi obtido por meio do método de turbólise e, posteriormente, submetido a cromatografia em camada delgada. A toxicidade aguda do extrato foi avaliada após 24 horas da exposição dos caramujos, que foram acompanhados por sete dias para avaliação dos parâmetros reprodutivos. Para estudo da citotoxicidade das preparações nos hemócitos de B. glabrata, foi realizado o teste de micronúcleo. O experimento com o bioindicador não-alvo, a Artemia salina, permitiu analisar o efeito tóxico do extrato no ambiente aquático. Foram detectados na prospecção fitoquímica taninos condensados e hidrolisáveis, além de esteroides. O extrato apresentou mortalidade significativa na concentração de 250 e 500 ppm, além da projeção da massa cefalópode e retração do corpo na concha. Na análise da citotoxicidade, as concentrações de 75 e 100 ppm apresentaram significância para micronúcleo, binucleação e apoptose. O extrato, entretanto, apresentou toxicidade em todas as concentrações testadas para A. salina. Portanto, embora o extrato apresente limitações quanto à seletividade, seus efeitos tóxicos sobre B. glabrata indicam potencial para o desenvolvimento de moluscicidas naturais mais seguros e eficazes após o fracionamento e isolamento de compostos ativos.

**Palavras-chave:** molusco; extratos vegetais; esquistossomose; citotoxicidade; ecotoxicidade.

FRANCO, Larissa Sthefany do Nascimento. **Molluscicidal effect of the crude extract of Anadenanthera colubrina on Biomphalaria glabrata**. 2025. 61 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) — Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2025.

#### **ABSTRACT**

Due to its role as the intermediate host of the trematode Schistosoma mansoni, the mollusk Biomphalaria glabrata has become a target of schistosomiasis control strategies. However, the environmental ecotoxicity and high cost of the currently available molluscicide, niclosamide, drive the search for more efficient and sustainable alternatives. In this context, the objective of this study was to evaluate the molluscicidal activity of the crude fruit extract of Anadenanthera colubrina on the mollusk B. glabrata. For this purpose, the crude extract was obtained using the turbolysis method and subsequently subjected to thin-layer chromatography. The acute toxicity of the extract was evaluated after 24 hours of exposure of the snails, which were monitored for 7 days to assess reproductive parameters. To study the cytotoxicity of the preparations in B. glabrata hemocytes, the micronucleus test was performed. The experiment with the non-target bioindicator Artemia salina allowed the analysis of the toxic effect of the extract in the aquatic environment. In the phytochemical screening, condensed and hydrolyzable tannins, as well as steroids, were detected. The extract showed significant mortality at concentrations of 250 and 500 ppm, in addition to cephalopod mass protrusion and body retraction into the shell. In the cytotoxicity analysis, the concentrations of 75 and 100 ppm showed significance for micronucleus, binucleation, and apoptosis. The extract, however, showed toxicity at all concentrations tested for A. salina. Therefore, although the extract presents limitations regarding selectivity, its toxic effects on B. glabrata indicate potential for the development of safer and more effective natural molluscicides after fractionation and isolation of active compounds.

**Keywords:** mollusk; plant extracts; schistosomiasis; cytotoxicity; ecotoxicity.

### LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Ciclo evolutivo do Schistosoma mansoni	15
Figura 2 -	Fórmula estrutural da niclosamida	16
Figura 3 -	Folhas e frutos da <i>Anadenanthera colubrina</i>	18
Figura 4 -	Estágios embrionários de <i>Biomphalaria glabrata</i>	21
Figura 5 -	Embrião de <i>Biomphalaria glabrata</i> no início da organogênese	22
Figura 6 -	Morfologia externa do caramujo <i>Biomphalaria glabrata</i>	23
Figura 7 -	Sistema reprodutor e respiratório do caramujo <i>Biomphalaria glabrata</i>	24
Figura 8 -	Indivíduos adultos de <i>Artemia salina</i>	27
Figura 9 -	Mortalidade dos caramujos Biomphalaria glabrata adultos após 24	
	horas de exposição ao extrato da <i>Anadenanthera colubrina</i>	34
Figura 10-	Caramujo <i>Biomphalaria glabrata</i> apresentando inchaço e protrusão	
	(seta) da massa cefalópode após exposição a extrato vegetal	35
Figura 11-	Relação dos hemócitos encontrados na hemolinfa do <i>Biomphalaria</i>	
	glabrata após exposição ao extrato bruto do fruto da <i>Anadenanthera</i>	
	colubrina	38
Figura 12-	Alterações nos hemócitos dos caramujos Biomphalaria glabrata	
	expostos por 48 horas ao extrato do fruto da Anadenanthera	
	colubrina	39
Figura 13-	Sobrevivência da Artemia salina após exposição ao extrato bruto do	
	fruto da <i>Anadenanthera colubrina</i>	41

#### LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Análise das desovas de <i>Biomphalaria glabrata</i> previamente expostos	
	ao extrato bruto da <i>Anadenanthera colubrina</i>	37

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 ESQUISTOSSOMOSE	14
2.2 MOLUSCICIDAS	15
2.3 Anadenanthera colubrina	17
2.4 Biomphalaria glabrata	20
2.4.1 Habitat	20
2.4.2 Embriões	20
2.4.3 Caramujos adultos	22
2.4.4 Sistema circulatório	25
2.5 Artemia salina	26
3 OBJETIVOS	29
3.1 OBJETIVO GERAL	29
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
4 MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. COLETA DO MATERIAL	30
4.2. OBTENÇÃO DO MATERIAL	30
4.3. PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	30
4.4. BIOENSAIOS	31
4.4.1. Toxicidade aguda e parâmetros reprodutivos	31
4.4.2. Citotoxicidade	31
4.4.3. Avaliação da ecotoxicidade com Artemia salina	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA	33
5.2 TOXICIDADE AGUDA E PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM CARAMUJOS ADULTOS	33
5.3 ALTERAÇÕES NOS HEMÓCITOS DO CARAMUJO ADULTO	37
5.4 TOXICIDADE DO EXTRATO FRENTE A Artemia salina	41
6 CONCLUSÃO	43
7 REFERÊNCIAS	44

#### 1 INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma infecção parasitária causada por vermes trematódeos do gênero Schistosoma spp. (Neves et al., 2022), que segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) ainda apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade no mundo. A esquistossomose está presente em cerca de 78 países chegando a acometer aproximadamente 240 milhões de pessoas (WHO, 2025). No Brasil, o único agente etiológico da esquistossomose é o Schistosoma mansoni, sendo esta patologia diretamente relacionada às condições socioambientais, como o acesso ao saneamento básico e o contexto socioeconômico da população. Estima-se que aproximadamente 1,5 milhão de pessoas estejam infectadas pelo Schistosoma mansoni no Brasil (Brasil, 2019). Segundo o último Inquérito Nacional de Prevalência da Esquistossomose e das Geo-helmintíases (Katz, 2018), cerca de 2.664 escolares apresentaram eliminação dos ovos do parasita. A região Nordeste é a mais afetada, com destaque para Pernambuco, sendo 101 dos seus 185 municípios endêmicos, apresentando alta prevalência e expansão na transmissão, com aproximadamente 18.875 casos e 987 óbitos entre 2016-2021 e 200 internações nos anos de 2018 a 2023 (Brasil, 2024a; 2024c; 2024b). O Schistosoma mansoni possui um ciclo de vida que inclui o homem como hospedeiro definitivo e o molusco Biomphalaria sp. como hospedeiro intermediário.

Algumas espécies desse gênero ocorrem no Brasil, onde são encontradas cerca de 10 espécimes, sendo elas: *B. glabrata, B. tenagophila, B. straminea, B. amazônica, B. peregrina, B. intermédia, B. schrammi, B. occidentalis, B. oligoza* e *B. kuhniana*, sendo *B. glabrata* e *B. straminea* registradas para a região Nordeste (Ohlweiler *et al.*, 2020). Dentre essas espécies, *Biomphalaria glabrata* destaca-se como uma das mais importantes, juntamente com a *B. tenagophila* e *B. straminea*, devido sua importância médico-sanitária como hospedeira intermediária do parasito *Schistosoma mansoni*, agente etiológico da esquistossomose mansônica. A espécie *B. glabrata* (SAY, 1818) está classificada, taxonomicamente, como pertencente ao reino Animalia, filo Mollusca, classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora, família Planorbidae e gênero *Biomphalaria* (Ruppert *et al.*, 2005).

Nesse contexto, o controle dos caramujos é frequentemente realizado através da utilização de agentes moluscicidas (Bustinduy *et al.*, 2023).

Moluscicidas, por sua vez, são substâncias utilizadas com o objetivo de eliminar e/ou reduzir caramujos com importância na medicina humana, veterinária e agroindustrial (Bustinduy et al., 2023; Zheng et al., 2021). 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. Atualmente, o moluscicida niclosamida é o composto recomendado pela OMS. Porém este produto não apresenta seletividade para os moluscos, causando danos letais a outras espécies aquáticas, como peixes e algas. Portanto, tornam-se necessários a busca por novos moluscicidas que atuem de forma mais seletiva, apresentando menor ecotoxicidade. Desta forma, o estudo de moluscicidas de origem vegetal tem crescido nos últimos anos (Nogueira et al., 2023; Aguiar et al., 2022; Batista et al., 2022; Ribeiro et al., 2021; Martins et al., 2021). Nesse contexto, insere-se a Anadenanthera colubrina, conhecida popularmente como "angico".

A análise fitoquímica para detecção da presença de metabólitos secundários no extrato aquoso da casca da *A. colubrina* demonstrou a presença de taninos e fenóis (Sá *et al.*, 2016), sendo estes comumente associados à ação moluscicida. Quanto ao extrato etanólico das folhas da *A. colubrina*, há relatos na literatura científica da presença de saponinas, cumarinas, alcaloides e flavonoides, o que confere à planta uma boa atividade antioxidante e promissora como moluscicida (Silva *et al.*, 2023).

Portanto, considerando os impactos negativos da niclosamida sobre o meio ambiente e a necessidade de alternativas mais sustentáveis, o uso de compostos naturais têm se mostrado promissores. A *A. colubrina* destaca-se nesse cenário, em razão da presença de diversos metabólitos secundários com potencial atividade moluscicida. No entanto, os estudos ainda são limitados, especialmente quanto ao seu efeito sobre os parâmetros biológicos e reprodutivos de *B. glabrata*, bem como sua toxicidade ambiental. Assim, este trabalho tem como objetivo investigar a atividade moluscicida do extrato bruto do fruto de *A. colubrina* sobre *B. glabrata*, além de avaliar sua ecotoxicidade utilizando *Artemia salina* como organismo-teste.

#### **2 REVISÃO DE LITERATURA**

#### 2.1 ESQUISTOSSOMOSE

A esquistossomose é uma patologia causada pelo *Schistosoma mansoni*, pertencente ao reino Animalia, filo Platyhelminthes, classe trematoda, ordem Strigeiformes e família Schistosomatidae. No Brasil, essa doença é popularmente conhecida como "xistose", "barriga-d'água" ou "mal-do-caramujo" (Neves *et al.*, 2022). As espécies do gênero *Schistosoma* sp. capazes de afetar o homem chegaram as Américas durante o tráfico de escravos e da imigração de orientais e asiáticos. Entretanto, apenas o *S. mansoni* se fixou aqui devido à presença de hospedeiros intermediários suscetíveis e pelas condições ambientais semelhantes às da região de origem (Neves *et al.*, 2022).

Segundo a OMS, a doença afeta 200 milhões de pessoas no mundo e 600 milhões convivem em áreas de risco, se configurando como uma das parasitoses mais disseminadas no mundo, ocupando o segundo lugar depois da malária. Estima-se que entre 2000 e 2020 cerca de 71.665 indivíduos no Brasil foram infectados pelo *S. mansoni* (Brasil, 2024d). Durante o período de 2017 a 2021 foram detectados 906 casos de esquistossomose no estado de Pernambuco, onde 11% dos casos evoluíram para óbito (Fernandes *et al.*, 2024).

O parasita responsável por essa patologia possui um ciclo com diversas fases evolutivas, sendo elas: verme adulto, ovo, miracídio, esporocisto, cercária e esquistossômulo (Neves *et al.*, 2022; Souza *et al.*, 2011). A transmissão se dá através do contato com água contendo caramujos *Biomphalaria* spp. infectados, causando uma patologia que resulta na formação de granulomas formados ao redor de ovos presos no fígado e no intestino, podendo desencadear insuficiência hepática (Anderson; Enabulele, 2021).

A cercária é a forma infectante do *S. mansoni* que penetra a pele humana, causando dermatite cercariana. Ao entrar no corpo, transforma-se em esquistossômulo, migra pela circulação até o fígado, onde cresce, se alimenta de sangue e diferencia-se sexualmente. Os vermes adultos se alojam nas veias mesentéricas, onde ocorre a postura de ovos. Parte desses ovos é eliminada nas fezes, mas muitos ficam retidos nos tecidos, causando a patogenia da doença. Para

continuar o ciclo, os ovos precisam atingir a água, liberando miracídios que infectam caramujos, os hospedeiros intermediários (Figura 1) (Brasil, 2024d).

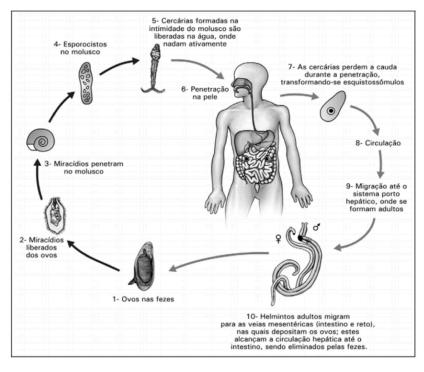


Figura 1- Ciclo evolutivo do Schistosoma mansoni.

Fonte: Souza et al., 2011.

Diante da alta incidência da esquistossomose e da dependência de métodos de controle limitados, como a niclosamida, torna-se essencial buscar alternativas mais sustentáveis. O uso de metabólitos secundários de plantas com potencial moluscicida surge como uma estratégia promissora para interromper o ciclo do *S. mansoni* de forma eficaz e com menor impacto ambiental.

#### 2.2 MOLUSCICIDAS

A esquistossomose é um importante problema de saúde pública no Brasil cujo principal método de controle da doença consiste na interrupção da sua transmissão, através do combate ao hospedeiro intermediário, o caramujo *Biomphalaria glabrata*, por meio do uso de moluscicidas. Atualmente, a niclosamida (2'5-dicloro-4'-nitro-salicilanilida) é o único moluscicida sintético recomendado pela OMS, sendo eficaz na concentração de 1 mg/litro, na qual elimina 100% dos

caramujos *Biomphalaria* após, no mínimo, 8 horas de contato, além de destruir as desovas dos moluscos, miracídios e cercárias de *Schistosoma* sp. (Figura 2) (Ali *et al.*, 2020; Rey, 2015; Brasil, 2008). O composto puro dessa substância é quase incolor, enquanto o sal (mais estável e solúvel em água) apresenta-se como pó molhável de coloração amarela contendo 70% do ingrediente ativo. Esse fármaco atua modulando a respiração e interferindo no metabolismo dos carboidratos, afetando consequentemente os processos de oxidação (Brasil, 2008).

**Figura 2-** Fórmula estrutural da niclosamida.

Fonte: Brasil, 2008.

Embora apresente toxicidade elevada ao caramujo da espécie *Biomphalaria*, a niclosamida não é seletiva, sendo tóxica para peixes e outros animais do ecossistema aquático (Rey, 2015). Alguns inconvenientes associados ao uso da droga incluem seu alto custo, toxicidade ambiental e a necessidade de aplicações frequentes, mesmo em áreas menos extensas. Além disso, o caramujo pode desenvolver mecanismos de defesa contra a niclosamida, o que dificulta o seu controle. Entre essas estratégias estão a retração na concha, que reduz a superfície de contato com o produto; o enterramento no substrato, fuga de doses letais do moluscicida ao se afastar das zonas com maior concentração do composto, além da capacidade de sair da água e entrar no processo denominado de diapausa (Rey, 2015; Brasil, 2008). Atualmente, o uso desse moluscicida deve ocorrer apenas em casos específicos, onde seja essencial conter a transmissão de forma imediata e que apresente efeitos ambientais mínimos (Favre *et al.*, 2024).

Os moluscicidas têm se tornado uma estratégia de intervenção eficaz, rápida e conveniente para prevenir a propagação de espécies de *Schistosoma* sp. em regiões endêmicas (Augusto; Mello-Silva, 2018). 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 (Huang, 2020). A utilização do niclosamida é indicado apenas em situações específicas, devido ao seu alto custo e aos impactos ambientais que pode causar (Cantanhede *et al.*, 2010; Gomes; Barbosa, 2008). Dessa forma, a busca por novos moluscicidas naturais é de grande relevância, sendo o estudo de alternativas de origem vegetal um campo promissor (Rey, 2015).

Nos últimos anos, cerca de 38,2% dos estudos etnobotânicos no Brasil foram realizados na região Nordeste, destacando o potencial de bioprospecção e a grande relevância desses estudos na elaboração de estratégias de saúde pública (Sganzerla *et al.*, 2021). Dentre as diversas abordagens, destaca-se a investigação da atividade moluscicida de plantas desta região contra o *Biomphalaria glabrata* (Ribeiro *et al.*, 2021; Martins *et al.*, 2021; Sá *et al.*, 2016; Luna *et al.*, 2005). Esta propriedade biológica está diretamente relacionada à presença de metabólitos secundários, que são compostos naturais produzidos por plantas com a finalidade de protegê-las contra herbívoros e patógenos, atrair agentes polinizadores e agir na relação de competição ou simbiose com outras espécies, sendo classificados em: terpenos, compostos nitrogenados e compostos fenólicos (Taiz *et al.*, 2024; Borges; Amorim, 2020).

A avaliação de moléculas isoladas de plantas contra caramujos da espécie *B. glabrata* revelou que terpenos e saponinas, estas últimas podendo ser derivadas de terpenos ou de alcaloides, apresentaram elevada atividade moluscicida, embora sua toxicidade ambiental ainda não tenha sido amplamente investigada. Entre os alcaloides testados, classificados como compostos nitrogenados, também foi observada eficácia significativa contra o molusco. Já os flavonoides avaliados, pertencentes à classe dos compostos fenólicos, demonstraram efeito moderado frente à espécie (Rangel *et al.*, 2023; Mendoza; Fernández; García, 2023).

Entretanto, dentre os compostos fenólicos, os taninos se destacam por sua significativa atividade moluscicida (Sá *et al.*, 2016; Schaufelberger; Hostettmann, 1983). Essas moléculas são sintetizadas pelas plantas como forma de defesa contra predadores, devido ao caráter ácido das hidroxilas fenólicas e à capacidade de formar complexos com proteínas e polissacarídeos, o que confere aos taninos um sabor amargo ou adstringente, que se mostra eficaz na inibição da herbivoria. (Nogueira *et al.*, 2021; Min *et al.*, 2018).

Nesse contexto, é importante buscar plantas que produzem metabólitos secundários capazes de atuar no controle de caramujos, tais como terpenoides, alcaloides, taninos e saponinas, que sejam eficazes e com baixa toxicidade ao meio ambiente. Portanto, considerando que a família Fabaceae está entre as mais investigadas no Brasil, devido ao potencial bioativo de suas espécies (Sganzerla et al., 2021), destaca-se a Anadenanthera colubrina como uma candidata promissora para a identificação de compostos com atividade moluscicida.

#### 2.3 Anadenanthera colubrina

Pertencente à família Fabaceae, a *Anadenanthera colubrina* var. *cebil* (Griseb) Altschul é popularmente conhecida "angico", "angico-brabo", como "angico-vermelho", "angico-amarelo", entre outros. Esta espécie predominantemente nos domínios da Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, sendo encontrada nos estados da Bahia, Pernambuco, Ceará, Paraíba, Piauí, Rio Grande do Norte, Sergipe, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso e Minas Gerais (Morim, 2025).

Trata-se de uma árvore decídua na estação seca, atingindo uma altura de 7 a 15 metros, com um tronco geralmente não ramificado de 30 centímetros de diâmetro ou mais, e uma casca de coloração castanho-avermelhada. Suas folhas, são alternas e bipinadas, medem entre 15 a 20 cm de comprimento, com pinas contendo 35 a 50 (ou mais) pares de folíolos lineares medindo 3 a 7 mm por 1 mm de largura, ambas as superfícies glabras, com ápice agudo a obtuso e base assimétrica. Já os frutos são do tipo vagem, de coloração castanho-avermelhada, deiscente em apenas um dos lados, contendo de 8 a 15 sementes (Figura 3). Estas, por sua vez, apresentam coloração que varia entre castanho a pardo avermelhada escura,

brilhantes, com cerca de 2 cm de comprimento e 1,5 cm de largura (Pareyn *et al.*, 2018).



Figura 3- Folhas e frutos da Anadenanthera colubrina.

Fonte: Pareyn, 2018.

Apresenta madeira com importância socioeconômica, sendo essa utilizada em construções de casas, cercas, artefatos e, posteriormente, servindo como fonte de energia (carvão vegetal) (Monteiro *et al*, 2006). Além disso, as sementes possuem relevância cultural e religiosa, pois são utilizadas em rituais religiosos indígenas, principalmente na preparação de rapés; no entanto, a presença de bufotenina, substância psicoativa, pode provocar efeitos adversos e causar dependência química (Delices *et al.*, 2023). As folhas, embora menos exploradas, têm sido tradicionalmente associadas ao tratamento de inflamação de garganta ou expectorantes pediátricos e em aplicações tópicas, por meio de cataplasmas para alívio de úlceras externas e dores reumáticas (Weber *et al.*, 2011).

O uso das folhas e frutos para alimentação de caprinos, ovinos e bovinos por populações locais é outra prática comum, sendo recomendado, com base em relatos

populares, que as folhas sejam utilizadas apenas após estarem secas devido a toxicidade quando verdes (Costa *et al.*, 2023; Ferreira e Ferreira, 2020; Jiménez-Escobar e Martínez, 2019). Portanto, tendo em vista a sua relevância econômica e sociocultural, a espécie está incluída na lista brasileira de espécies a serem conservadas (Delices *et al.*, 2023).

A utilização de plantas medicinais é uma prática presente em diversas culturas, sendo a A. colubrina amplamente utilizada para fins medicinais e reconhecida sua atividade antibacteriana, antifúngica, por antioxidante. anti-inflamatória, cicatrizante, antidiarreica, antitumoral, apresentando potencial bioinseticida (Silva et al., 2023; Delices et al., 2023; Rocha et al., 2021; Nascimento et al, 2021; Senigalia et al., 2020; Lima et al, 2020). Nesse sentido, estudos fitoquímicos têm sido realizados com o objetivo de identificar os metabólitos presentes na espécie.

Inicialmente, a análise fitoquímica para detecção da presença de metabólitos secundários no extrato aquoso da casca da *A. colubrina* demonstrou a presença de taninos e fenóis (Sá *et al.*, 2016), sendo esses comumente associados à ação moluscicida. Uma análise do extrato hidroetanólico da casca da *A. colubrina* apresentou, além do encontrado por Sá *et al.* (2016), saponinas e flavonoides (Araújo *et al.*, 2024). Segundo Silva (2020a), a avaliação fitoquímica dos extratos aquoso e metanólico do galho da *A. colubrina* apresentaram, respectivamente, a predominância de derivados cinâmicos e flavonoides.

Quanto ao extrato etanólico das folhas da *A. colubrina*, há relatos na literatura científica da presença de saponinas, cumarinas, alcaloides, flavonoides e taninos condensados, o que confere à planta uma boa atividade antioxidante e moluscicida (Silva *et al.*, 2023). As frações acetato de etila de frutos e folhas do angico demonstraram, através da cromatografia em camada delgada, a presença de flavonoides, derivados cinâmicos, terpenos, glicosídeos cianogênicos e proantocianidinas (Araújo *et al.*, 2017).

Diante do exposto, observa-se que a *Anadenanthera colubrina* é uma planta com ampla distribuição geográfica, apresentando importância ecológica, social, cultural e econômica. Seu uso tradicional, aliado às evidências científicas da presença de metabólitos com atividades biológicas, confere à espécie uma

relevância significativa na busca por novas soluções para controle de vetores de doenças, como o molusco *Biomphalaria*.

#### 2.4 Biomphalaria glabrata

A espécie *B. glabrata* (SAY, 1818) está classificada, taxonomicamente, como pertencente ao reino Animallia, filo Mollusca, classe Gastropoda, subclasse Pulmonata, ordem Basommatophora, família Planorbidae e gênero *Biomphalaria* (Ruppert *et al.*, 2005).

#### 2.4.1 Habitat

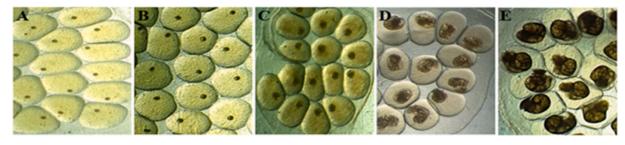
A presença deste molusco foi notificada em 881 municípios de 16 estados brasileiros, além do Distrito Federal, sendo sua presença quase sempre associada à esquistossomose (Brasil, 2024d). Estes animais habitam em canais, lagos, riachos e rios com baixa profundidade (até cinco metros) e correnteza, com pouca turbidez, boa iluminação, ricas em matéria orgânica e vegetação enraizada ou flutuante, suportam temperatura entre 20°C a 30°C, pH na faixa de 6 a 7.8, além de poderem sobreviver em água com baixo teor calcário devido a obtenção de cálcio a partir da alimentação (Rey, 2015). Apesar de habitarem em locais de águas correntes ou paradas, como rios e lagos, é muito comum na região Nordeste a presença desses animais em áreas próximas à domicílios, sejam em comunidades urbanas ou rurais, que não dispõem de saneamento básico, podendo ainda sobreviverem em locais sujeitos à secas estacionais e apresentar níveis de resistência à dessecação (Favre et al., 2024). Em regiões com épocas de chuva bem definidas, multiplicam-se ativamente quando rios e canais têm grande volume de água após as chuvas e alcançam sua maior densidade populacional no início da estação seca (Rey, 2015).

#### 2.4.2 Embriões

As placas ovígeras são depositadas em superfícies fixas, geralmente a noite, onde podem ser encontrados os embriões dos moluscos, com ovos medindo cerca de 100 µm de diâmetro e ciclo embrionário conhecido de 8 a 10 dias, podendo ser

facilmente acompanhados com auxílio de um estereomicroscópio (Figura 4) (Brasil, 2024; Favre *et al.*, 2024; Rey, 2015; Kawano *et al.*, 2008).

**Figura 4-** Estágios embrionários de *Biomphalaria glabrata*. A- Blástula; B- Gástrula; C- Trocófora; D- Véliger; E- Hippo Stage.



Fonte: Batista et al., 2022.

Inicialmente, após a fertilização do ovo, ocorre a etapa de clivagem, que consiste em sucessivas divisões mitóticas sem aumento do citoplasma, fase esta que é denominada de blástula; posteriormente, inicia-se o estágio de gastrulação (24 horas após a primeira clivagem do ovo), que se caracteriza pela diferenciação e aumento celular, onde já é possível observar o início da formação do blastósporo - estrutura que formará a boca do animal - e da glândula da concha (Kawano *et al.*, 2008).

O primeiro estágio da organogênese, após o fim das clivagens, é denominado de trocófora, onde se inicia o processo de formação de órgãos e o movimento ainda lento do embrião dentro do ovo. O prototroco (Pr) é o primeiro órgão a ser formado nesse estágio e divide o corpo em duas partes, sendo elas: região pré-trocal e pós-trocal (Figura 5). A região pré-trocal é formada pela vesícula cerebral (VC), placa apical (PA) e placas cefálicas (PC), que serão responsáveis por formar os olhos e tentáculos. Na região pós-trocal se encontra o blastóporo (B) e a glândula da concha na região oposta (Kawano *et al.*, 2008).

O próximo estágio, chamado de véliger jovem, ocorre após 96 horas da primeira clivagem, sendo reconhecido pela formação da concha. Nessa fase, o prototroco evolui para o velum, aumentando a movimentação do embrião dentro do ovo (Kawano *et al.*, 2008).

Figura 5- Embrião de Biomphalaria glabrata no início da organogênese.

Fonte: Kawano et al., 2008.

Posteriormente, no estágio de véliger, que ocorre aproximadamente 120 horas após a primeira clivagem, observa-se a torção do embrião para o lado direito devido a assimetria da concha. Nesse estágio já ocorre a formação do olho e do tentáculo, além de apresentar a região do pé bem desenvolvida. Por fim, no último estágio de desenvolvimento, chamado de véliger mais desenvolvido ou "hippo stage", observa-se o corpo quase coberto pela concha, além de tentáculos e olhos bem desenvolvidos. A eclosão dos caramujos ocorre após cerca de 6 dias ou 144 horas de idade (Kawano *et al.*, 2008).

Diante desse cenário, diferentes estudos avaliaram, além da toxicidade aguda, o efeito de extratos vegetais sobre os parâmetros reprodutivos dos caramujos (Nogueira *et al.*, 2023; Aguiar *et al.*, 2022; Batista *et al.*, 2022; Rocha-Filho *et al.*, 2015), uma vez que alterações no desenvolvimento embrionário e mortalidade desses animais, decorrentes de mutações nas células germinativas, são utilizadas como biomarcadores em testes de mutagenicidade (Nakano *et al.*, 2003).

#### 2.4.3 Caramujos adultos

Estes moluscos possuem concha espiral plana, com cor natural castanha, sem opérculo, do tipo sinistrógiras, formadas por 95% de carbonato de cálcio, com diâmetro de 20 a 40 mm quando adultos, contendo cerca de 6 a 7 giros, além de

apresentarem tentáculos finos e longos (Figura 6) (Favre *et al.*, 2024; Rey, 2015; Paraense, 2008).

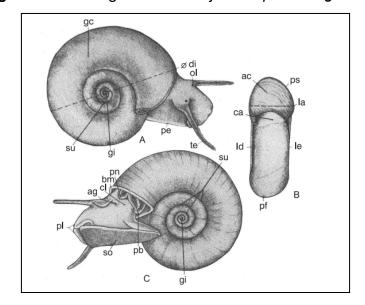


Figura 6- Morfologia do caramujo Biomphalaria glabrata.

Fonte: Paraense, 2008.

O caramujo *B. glabrata* é um animal ovíparo que possui a capacidade de se reproduzir durante todo ano e começa a ovipor com 4 a 7 mm de diâmetro, isto é, após 40 a 60 dias da eclosão do ovo, tendo uma média de oviposição por dia proporcional ao tamanho do espécime (Rey, 2015). A oviposição geralmente ocorre à noite e as desovas são envolvidas por uma membrana gelatinosa denominada cápsula ovífera (Favre *et al.*, 2024). São moluscos hermafroditas, com gônada única, em forma de glândula em cacho e provida de numerosos ácinos, denominada ovoteste, a qual tem a função de produzir simultaneamente e constantemente, gametas masculinos e femininos (Paraense, 2008).

O ovoteste ocupa a extremidade caudal do corpo, sendo seguido por um canal que se bifurca posteriormente em um ramo masculino e outro feminino para eliminação dos gametas. O ramo feminino compreende a glândula do albume (ga), o oviduto (od), a glândula nidamental (gn), o útero (ut), a vagina (va) e a espermateca (e), enquanto o ramo masculino compreende o espermiduto ou canal espermático (ce), a próstata (p), o canal deferente (cd) e o complexo peniano (Figura 7)

(Paraense, 2008). Logo, são animais que podem se reproduzir por autofecundação e/ou por fecundação cruzada, sendo esta a forma preferencial (Rey, 2015).

ga pc

est

ov

ce

bo

tr

cr

vr

cp

sb

pr

cm

m

u

m

u

cm

**Figura 7-** Sistema reprodutor e respiratório do caramujo *Biomphalaria glabrata*.

Fonte: Paraense, 2008.

São animais pulmonados que necessitam se deslocar até a superfície das coleções de água, em intervalos regulares, para respirar o oxigênio livre no ar, embora possuam a capacidade de absorver o oxigênio por meio de seu tegumento (Ruppert *et al.*, 2005). O principal órgão respiratório desses animais é o saco pulmonar. O teto da cavidade pulmonar - ou cavidade respiratória - é altamente vascularizado e ladeado longitudinalmente pela veia pulmonar (vp) e a veia renal (vr). O gênero *Biomphalaria* possui sistema digestivo completo, onde é possível observar estruturas como: saco bucal (sb), onde se localiza a rádula - responsável pela raspagem e ingestão dos alimentos do molusco; glândulas salivares (gs), esôfago (es), estômago (est), glândulas digestivas (gd) - responsáveis por absorver e acumular nutrientes e intestino (i) (Figura 7) (Rey, 2015; Paraense, 2008).

#### 2.4.4 Sistema circulatório

O sistema circulatório do *B. glabrata* é constituído por uma cavidade pericárdica que envolve o coração, órgão responsável por bombear a hemolinfa. Essa estrutura é composta por duas câmaras, a aurícula e o ventrículo, e integra um sistema circulatório do tipo aberto. Próximo ao pericárdio e à parede pulmonar, encontra-se um único rim, com formato sacular e alongado, que compõe o sistema excretor do caramujo (Andrade *et al.*, 2022; Rey, 2015). A hemolinfa atua no transporte de substâncias relacionadas à respiração, além de contribuir para a sustentação corporal e filtração do sangue. Por conter hemoglobina no plasma, apresenta coloração vermelha, característica que diferencia essa espécie de outros planorbídeos (Rey, 2015; Reis, 1996).

A estrutura responsável pela hematopoese dos moluscos *B. glabrata* é o órgão produtor de hemócitos (APO), localizado próximo ao rim e à membrana pericárdica, que produz as células denominadas hemócitos ou amebócitos. Essas células podem ser encontradas em suspensão na hemolinfa, como também em tecidos conjuntivos (Andrade *et al.*, 2022).

Os hemócitos desempenham um papel fundamental na resposta imune do animal, sendo divididos em dois grupos principais: granulócitos ("células estreladas") e hialinócitos ("células não estreladas") (Andrade *et al.*, 2022; Pila *et al.*, 2016). Os granulócitos são células polimórficas, representam cerca 4% dos hemócitos, possuem 7 a 8 µm de diâmetro, apresentam pseudópodes e filópodes, além de vacúolos e ilhotas de glicogênio vistos na microscopia eletrônica (Cavalcanti *et al.*, 2012). Este tipo celular está associado à capacidade fagocítica e produção de moléculas ativas contra agentes externos relacionados ao sistema imunológico (Wang *et al.*, 2017).

Os hialinócitos são células que apresentam um núcleo excêntrico, além da grande presença de ribossomos e complexo de Golgi no seu citoplasma e, diferentemente dos granulócitos, possuem pouco ou nenhum grânulo citoplasmático (Prokhorova et al., 2018; Ladhar-Chaabouni; Hamza-Chaffai, 2015). Essas células são menos ativas na fagocitose e estão predominantemente envolvidas em respostas inflamatórias iniciais, como cicatrização de feridas e aglutinação (De La Ballina et al., 2022; Cavalcanti et al., 2012). Com base nisso, considerando a

importância desses hemócitos na defesa imunológica e na fisiologia do molusco, torna-se essencial avaliar o impacto de substâncias externas sobre essas células.

Diante disso, estudos de citotoxicidade são essenciais para avaliação dos efeitos biológicos decorrentes da exposição à extratos vegetais, entre os quais se destaca o teste de micronúcleo, que apresenta considerável custo-benefício, reprodutibilidade satisfatória e validação em órgãos reguladores (Carmo; Leal; Ribeiro, 2020), sendo amplamente utilizado para avaliação de dano celular nos hemócitos do caramujo *B. glabrata* (Aguiar *et al.*, 2022; Batista *et al.*, 2022; Araújo, 2022). Considerando a importância sanitária e ecológica desse molusco, destaca-se a necessidade de avaliar a toxicidade aguda de extratos de plantas sobre estes animais, a fim de viabilizar a aplicação de um moluscicida de origem natural no controle desses organismos e prevenir a transmissão da esquistossomose.

Nesse cenário, considerando os efeitos adversos decorrentes do uso da niclosamida, e a necessidade do desenvolvimento de novos agentes moluscicidas. Destaca-se, ainda, a importância de avaliar não apenas a eficiência desses compostos nos caramujos *Biomphalaria*, mas também seu impacto ambiental, uma vez que esses podem apresentar elevada ecotoxicidade. Portanto, torna-se fundamental a utilização de organismos bioindicadores não-alvo, como a *Artemia salina*.

#### 2.5 Artemia salina

A *Artemia salina* é um microcrustáceo da classe Branchiopoda, ordem Anostraca e família Artemiidae descrita por Linnaeus em 1758 como *Cancer salinus* e reclassificada em 1819 por Leach (Dumitrascu, 2011).

O corpo desses animais é dividido em três partes: cabeça, tórax e abdômen, com tamanho variando entre 8 e 12 mm na fase adulta. Os machos adultos possuem um par de pênis na parte posterior da região do tronco, enquanto as fêmeas são reconhecidas pela presença do útero (Figura 8). Trata-se de uma espécie que pode se reproduzir de forma ovípara em condições ambientais desfavoráveis, e de forma ovovivípara quando o ambiente é favorável. O desenvolvimento dos ovos também depende do ambiente: em condições ideais, eles eclodem diretamente como náuplios (larvas); já em situações adversas, transformam-se em cistos. Quando o

ambiente se torna novamente favorável, esses cistos são ativados e liberam náuplios, permitindo a continuidade do ciclo de vida (Stappen; Sorgeloos; Rombaut, 2024; Dumitrascu, 2011).

Seus náuplios são amplamente utilizados na aquicultura como alimento para diversas espécies de peixes, destacando-se por sua alta tolerância à salinidade. Além disso, são utilizados em testes de ecotoxicidade de diversas substâncias, como fármacos e extratos biológicos, devido seu fácil manejo e cultivo laboratorial, se configurando como um teste rápido, conveniente e de baixo custo (Ntungwe *et al.*, 2020; Dumitrascu, 2011). Dentre os parâmetros que podem ser avaliados em testes com *A. salina* inclui-se não só a frequência de mortalidade dos náuplios, mas também mudanças enzimáticas, fisiológicas e reprodutivas, além da taxa de eclosão dos cistos (Nunes *et al.*, 2006).



Figura 8- Indivíduos adultos de Artemia salina.

Fonte: Dumitrascu, 2011.

Para assegurar um cultivo laboratorial eficiente dos cistos de *Artemia* sp. é necessário garantir que parâmetros como pH, salinidade, aeração, temperatura e iluminação sejam atendidos. Recomenda-se que a água apresente pH entre 7,5 e 8,5, salinidade de 10 a 35 g/L, oxigênio dissolvido acima de 4 mg/L e temperatura entre 25 a 30 °C. Além disso, uma iluminação forte é essencial, principalmente

durante as primeiras horas após a hidratação completa do cisto (Stappen; Sorgeloos; Rombaut, 2024).

Nesse contexto, a utilização de produtos vegetais exige cuidados técnicos rigorosos a fim de garantir a qualidade e segurança do resultado final (Araújo *et al.*, 2021). Por essas características, a *Artemia salina* destaca-se como organismo modelo em testes toxicológicos, podendo ser utilizada de forma isolada ou em conjunto com outras espécies, permitindo uma análise mais abrangente dos impactos ambientais em diferentes níveis ecológicos, além de não requerer aprovação por comitê de ética para os ensaios, por ser um invertebrado (Khabib *et al.*, 2022; Nunes *et al.*, 2006).

Diante da elevada incidência da esquistossomose e das limitações do único moluscicida utilizado atualmente, torna-se necessário investigar alternativas mais seguras e eficazes. A *Anadenanthera colubrina*, planta nativa com reconhecida atividade biológica, destaca-se como potencial fonte de metabólitos com ação moluscicida. Assim, a avaliação de sua toxicidade frente a *Biomphalaria glabrata* e *Artemia salina* justifica-se pela busca de agentes naturais com menor impacto ambiental e aplicabilidade no controle vetorial.

#### **3 OBJETIVOS**

#### 3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a atividade moluscicida do extrato bruto do fruto da Anadenanthera colubrina sobre moluscos Biomphalaria glabrata.

#### 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a toxicidade aguda do extrato bruto, em diferentes concentrações, sobre a sobrevivência de Biomphalaria glabrata após a exposição;
- Analisar os efeitos do extrato sobre os parâmetros reprodutivos (fertilidade e fecundidade) de *B. glabrata* adultos-jovens;
- Observar a citotoxicidade e mutagenicidade dos extratos sobre os hemócitos dos caramujos adultos;
- Avaliar a seletividade do extrato, por meio da análise de sua ecotoxicidade sobre o bioindicador Artemia salina.

#### **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### 4.1. COLETA DO MATERIAL

O material vegetal foi coletado no Parque Nacional do Catimbau, localizado na região central do estado de Pernambuco, em zona de transição entre agreste e sertão pernambucano (8°34'47.73"S e 37°14'55.36"O) (Brasil, 2023). As amostras foram submetidas à secagem em estufa com circulação de ar forçada, à temperatura de 40 a 45°C, durante 3 dias. Uma amostra de referência foi coletada e processada de acordo com os procedimentos tradicionais de taxonomia descritos por Mori *et al.* (1989), sendo posteriormente depositado no Herbário do Instituto Agronômico de Pernambuco.

#### 4.2. OBTENÇÃO DO MATERIAL

O extrato bruto do fruto de *Anadenanthera colubrina* foi obtido por extração à frio, utilizando o método de turbólise durante 20 minutos, com 20 g do material em 200 mL de acetona a 70%. Em seguida, a solução extrativa foi filtrada a vácuo e concentrada em evaporador rotativo a pressão reduzida, sendo posteriormente congelada e liofilizada (Sá, 2016). Os extratos foram mantidos em dessecadores até as suas utilizações nos bioensaios.

### 4.3. PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Para as análises por cromatografia em camada delgada foram utilizadas placas de alumínio de sílica gel 60 F254 Merck® de tamanho 20 x 20 cm e 0,2 mm de espessura de adsorção. O método utilizado para a identificação das principais classes de metabólitos secundários (taninos, flavonóides, açúcares, saponinas, esteroides e terpenóides) foi estabelecido por Wagner e Bladt (1996).

#### 4.4. BIOENSAIOS

#### 4.4.1. Toxicidade aguda e parâmetros reprodutivos

Todos os moluscos utilizados neste estudo foram oriundos do moluscário do Laboratório de Radiobiologia do Departamento de Biofísica e Radiobiologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Os exemplares adultos foram mantidos em laboratório e cultivados em aquários plásticos com capacidade de 20 litros, contendo água filtrada e declorada, com pH próximo à 7,0. A troca da água foi realizada semanalmente, com recolhimento das respectivas desovas e alimentação diária dos moluscos com alface (*Lactuca sativa*) orgânico.

Inicialmente, foram pré-selecionados 200 caramujos adultos de *B. glabrata*, os quais foram isolados individualmente durante cinco dias para confirmar sua maturidade sexual. Em seguida, foram selecionados 180 animais com diâmetro de concha entre 10 e 14 mm, distribuídas aleatoriamente em seis grupos, com 10 espécimes cada, da seguinte forma: controle negativo (apenas água filtrada e declorada), controle positivo tratado com Niclosamida (1 µg mL-¹), controle com DMSO 0,25% e 3 grupos expostos ao extrato bruto de *A. colubrina* diluídos em água, nas concentrações de 100, 250 e 500 ppm.

Os caramujos foram expostos às soluções por 24 horas e, após isso, foram avaliados quanto à mortalidade e sobrevivência e aos parâmetros reprodutivos: fertilidade, avaliada através da contagem de desovas e embriões dos moluscos durante e após 7 dias da exposição; e fecundidade, indicada após a contagem e identificação dos embriões viáveis. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 4.4.2. Citotoxicidade

Após a avaliação da toxicidade aguda, foram selecionados 30 animais com diâmetro de concha entre 10 e 14 mm para o teste de citotoxicidade e mutagenicidade do extrato de *A. colubrina* sobre as células hemocitárias de *B. glabrata*. Os indivíduos foram expostos durante 48 horas às concentrações subletais de 25, 50, 75 e 100 ppm, e a análise foi realizada por meio da técnica de

micronúcleo, conforme descrito por Pavlica et al. (2000), com adaptações de Silva et al. (2013) e Lima et al. (2019).

Para a execução da técnica, foram coletados 100 µL de hemolinfa de cada caramujo, os quais foram depositados em lâminas microscópicas. Em seguida, foram adicionados 100 µL de ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), e as lâminas, mantidas em câmara úmida por 30 minutos. Após esse período, as células foram fixadas com 200 µL de glutaraldeído por 10 minutos. Posteriormente, foi realizado o enxágue com solução de Ringer e a coloração com Giemsa a 5%. Por fim, foram analisadas 1.000 células por grupo, sob microscópio óptico (Medilux), para identificação de alterações celulares, como binucleação, micronúcleos e apoptose. O experimento foi conduzido em triplicata.

#### 4.4.3. Avaliação da ecotoxicidade com Artemia salina

Para o teste de ecotoxicidade foi realizado de acordo com o protocolo descrito por Meyer *et al.* (1982). Os cistos de *Artemia salina* foram incubados em recipientes contendo água do mar, com aeração e temperatura controlada a 25°C, por 48 horas, até a eclosão dos náuplios. Após esse período, as larvas eclodidas foram coletadas e distribuídas em 6 grupos experimentais, contendo 10 indivíduos cada. Os grupos foram dispostos da seguinte forma: grupo controle negativo (somente água do mar), grupo controle com DMSO 0,25%; grupo controle positivo com Niclosamida (1 µg mL-1); três grupos expostos ao extrato bruto nas concentrações de 100, 250 e 500 ppm. Os testes foram realizados em quadruplicata, com tempo de exposição de 24 horas a 25°C. Ao final, foram avaliados em relação à mortalidade e sobrevivência dos náuplios.

#### **5 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### 5.1 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA

Na prospecção fitoquímica do extrato bruto do fruto da *A. colubrina*, foram detectados metabólitos secundários como taninos (condensados e hidrolisáveis) e esteroides. Por outro lado, não foi observada a presença de saponinas e flavonoides.

Dentre os metabólitos identificados, os taninos se destacam em relação à atividade moluscicida, pois se ligam a proteínas causando sua inativação ou uso dessas como fonte de energia devido à precipitação dessas (Silva, 2013). Além disso, alguns estudos verificaram a ausência de atividade moluscicida sobre caramujos *B. glabrata* nas concentrações testadas após remoção dos taninos presentes nos extratos utilizados (Bezerra *et al.*, 2002; Schaufelberger; Hostettmann, 1983), indicando que plantas que contêm esses compostos são uma fonte importante de moluscicidas vegetais, o que justifica a utilização do extrato bruto da *A. colubrina* nos bioensaios.

O resultado encontrado foi semelhante ao estudo com extrato bruto da casca da *A. colubrina* quanto à presença de taninos, os quais também foram responsáveis pela mortalidade dos moluscos *B. glabrata* descrita por Sá *et al.* (2016). A presença de taninos também foi relatada por Nogueira *et al.* (2023) e por Silva *et al.* (2020b) no extrato de folhas de *Ricinus communis* e da casca do caule de *Persea americana*, respectivamente, que apresentaram mortalidade significativa para *B. glabrata* adultos.

## 5.2 TOXICIDADE AGUDA E PARÂMETROS REPRODUTIVOS EM CARAMUJOS ADULTOS

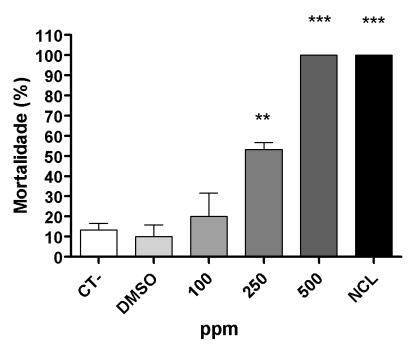
Na Figura 9 estão dispostos os dados de mortalidade dos caramujos *B. glabrata* após 24 horas da exposição a diferentes concentrações do extrato bruto da *A. colubrina*.

Na avaliação da toxicidade aguda foi observada uma relação linear entre a concentração do extrato e a taxa de mortalidade. Foi verificada mortalidade em todos os grupos expostos ao extrato, sobretudo nos grupos submetidos à 250 e 500

ppm que apresentaram diferença significativa em relação ao grupo controle com 53% e 100% de mortalidade, respectivamente. O grupo exposto à 100 ppm apresentou 20% de mortes. Os grupos controle negativo (apenas água filtrada e declorada) e DMSO 0,25% registraram mortalidade de 13% e 10%, respectivamente.

Não foi observada diferença significativa do grupo controle DMSO 0,25% em relação ao controle negativo, sugerindo que o solvente orgânico utilizado para dissolver o extrato não afetou a mortalidade dos animais testados.

**Figura 9-** Mortalidade dos caramujos *Biomphalaria glabrata* adultos após 24 horas de exposição ao extrato da *Anadenanthera colubrina*. \*\*p<0,01 e \*\*\*p<0,001 em comparação ao grupo controle.



Fonte: A autora, 2025.

Além das taxas de mortalidade, foram observadas alterações comportamentais nos animais: no grupo submetido a 250 ppm ocorreu retração do caramujo, enquanto nos expostos a 500 ppm, houve inchaço e protusão da massa cefalópode (Figura 10), além de liberação de hemolinfa nas duas concentrações.

**Figura 10-** Caramujo *Biomphalaria glabrata* apresentando inchaço e protrusão (seta) da massa cefalópode após exposição a extrato vegetal.



Fonte: A autora, 2025.

Segundo a OMS (1983), para que um extrato vegetal seja considerado moluscicida, deve apresentar 90% de mortalidade dos caramujos após 24 horas de exposição a 100 ppm ou menos, além de eliminar o molusco em todas as fases da sua vida, possuir baixo custo e fácil aplicação. Dessa forma, embora o extrato bruto do fruto da *A. colubrina* tenha apresentado toxicidade sobre caramujos *B. glabrata* adultos em maiores concentrações, esta não foi suficiente para atender aos critérios estabelecidos pela OMS.

O ensaio conduzido por Santos *et al.* (2021) sobre a ação de diferentes extratos brutos de folhas de *Plectranthus grandis* verificou uma mortalidade de 100% após exposição ao extrato bruto em hexano e diclorometano para concentração de 500 ppm, diferindo com os achados deste estudo, que obteve efeito tóxico semelhante em metade do tempo de exposição. Concentrações inferiores a essa não resultaram em mortalidade com o extrato de *P. grandis*, ao contrário do encontrado para o extrato do fruto de *A. colubrina*, que demonstrou toxicidade significativa já em 250 ppm.

A avaliação da atividade moluscicida do extrato hidroalcoólico das folhas de *Ricinus communis* sobre caramujos adultos de *B. glabrata* também não apresentou mortalidade significativa na concentração de 100 ppm (Nogueira *et al.*, 2023), apesar da presença de taninos hidrolisáveis - também presente no extrato avaliado neste estudo. No entanto, assim como no extrato da *A. colubrina*, foram observadas

alterações comportamentais e fisiológicas nos animais, incluindo comportamento de fuga nesta concentração. Por outro lado, alterações como expansão ou retração da massa cefalópode ocorreram apenas em concentrações mais elevadas na planta avaliada neste trabalho, diferentemente do observado com *R. communis*.

O estiramento da massa cefalópode ocorrido na concentração de 500 ppm também foi relatado por Batista et al. (2022) durante análise do efeito do extrato salino de sementes de *Parkia pendula* em caramujos adultos *B. glabrata* mortos e por El-Nour (2021) na avaliação da ação moluscicida dos extratos brutos de *Origanum majorana*, *Ziziphus spina-christi* e *Salvia fruticosa* sobre caramujos *Biomphalaria alexandrina*. Segundo McCullough et al. (1980), esse inchaço pode estar associado à perda do controle do equilíbrio hídrico pelo sistema neurossecretor do caramujo, uma vez que a exposição a determinadas substâncias pode causar estresse nesse sistema e, consequentemente, levar à morte do animal. Além disso, o fluxo anormal de água no organismo do molusco pode desencadear outras alterações fisiológicas indiretas que também resultam em danos ao seu organismo.

Sales et al. (2021) destacam que o fenômeno de retração na concha possui o objetivo de oferecer menor superfície de contato com o meio, a fim de diminuir o efeito das substâncias no seu organismo, o que sugere que a exposição dos animais ao extrato da *A. colubrina* provocou tais alterações comportamentais, também relatadas por Fernandes (2024) e Aguiar et al. (2022) ao estudar o efeito de *Curcuma longa* e da *Bauhinia monandra*, respectivamente, em caramujos *B. glabrata*.

Em relação à análise dos parâmetros reprodutivos dos animais expostos, foram observadas desovas em todos os grupos sobreviventes, conforme disposto na Tabela 1. Na avaliação da fecundidade, durante 7 dias após a exposição, foi observada uma maior frequência de inviabilidade nos embriões dos caramujos expostos ao extrato da *A. colubrina* quando comparados aos grupos controle. Os grupos controle com água e controle com DMSO 0,25% apresentaram tempo de eclosão de 6 e 5 dias, respectivamente, enquanto embriões dos grupos tratados com o extrato mostraram a necessidade de até 8 dias para eclodirem. Além disso, foi detectado um aumento na fertilidade diretamente proporcional à concentração do extrato.

**Tabela 1-** Análise das desovas de *Biomphalaria glabrata* previamente expostos ao extrato bruto da *Anadenanthera colubrina*.

Concentração (ppm)	Nº de embriões	Inviabilidade (%)
Controle negativo (água)	16	0
DMSO 0,25%	8	0
100	46	6,52
250	86	3,49

Fonte: A autora, 2025.

De forma semelhante ao observado neste estudo, Rocha-Filho et al. (2015) relataram um aumento na oviposição de caramujos previamente expostos ao extrato de flores de *Moringa oleifera* em comparação aos grupos controle negativo e controle DMSO 0,25%. Além disso, também foi identificado atraso no desenvolvimento embrionário quando comparado ao grupo controle, como verificado neste trabalho. Segundo Bi et al. (2025), em estudo sobre os efeitos de ambientes contaminados nos parâmetros reprodutivos de *Pomacea canaliculata*, um gastrópode de água doce, a estimulação da oviposição pode representar uma resposta adaptativa da espécie para garantir sua sobrevivência e perpetuação em ambientes adversos, efeito esse que pode se aplicar a outras espécies da classe, como o *B. glabrata*. A inviabilidade observada nas desovas dos caramujos expostos está relacionada à presença de malformações, como embriões hidrópicos, classificadas como alterações teratogênicas, que comprometem o desenvolvimento embrionário e resultam, consequentemente, na morte do embrião (França, 2022).

## 5.3 ALTERAÇÕES NOS HEMÓCITOS DO CARAMUJO ADULTO

Na análise citomorfológica foram encontrados dois tipos de células: granulócitos, que são hemócitos com projeções citoplasmáticas (pseudópodes), e hialinócitos, hemócitos que possuem alta relação núcleo/citoplasma e ausência de grânulos, semelhante ao descrito por Silva *et al.* (2019).

A Figura 11 mostra a comparação entre o número de hialinócitos e granulócitos encontrados na hemolinfa dos animais expostos às diferentes

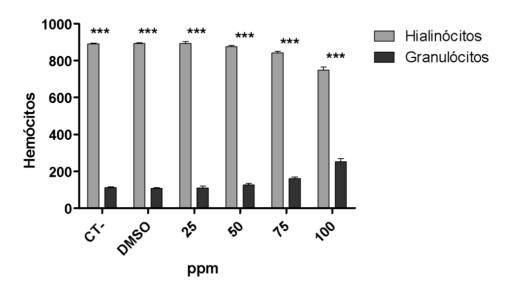
concentrações do extrato da *A. colubrina*. Destaca-se a prevalência significativa do número de hialinócitos dentre os hemócitos em todos os grupos avaliados. Entretanto, observa-se um aumento do número de granulócitos à medida que a concentração aumenta.

O predomínio de hialinócitos dentre os hemócitos avaliados também foi detectado por Trevisano (2017) em caramujos adultos *Biomphalaria glabrata* após exposição ao látex de *Euphorbia milii*, corroborando os achados deste estudo.

O aumento no número de granulócitos em comparação ao grupo controle negativo pode estar associado à toxicidade do extrato de *A. colubrina*, uma vez que esses hemócitos possuem elevada capacidade fagocítica (Wang *et al.*, 2017). Alterações semelhantes, caracterizadas pela elevação no número de granulócitos e redução de hialinócitos em organismos expostos, foram relatadas por Araújo *et al.* (2021) após a exposição do molusco *B. glabrata* ao sal de potássio do ácido úsnico, e por Santos (2020), ao investigar os efeitos de nanopartículas de óxido de zinco nesses animais, o que corrobora os resultados observados no presente estudo.

**Figura 11-** Relação dos hemócitos encontrados na hemolinfa de *Biomphalaria* glabrata após exposição ao extrato bruto do fruto da *Anadenanthera colubrina*.

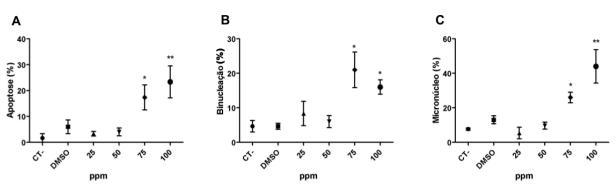
\*\*\*p<0,001 em relação às comparações intergrupos celulares.



Fonte: A autora, 2025.

Na Figura 12 identifica-se a frequência das alterações hemocitárias obtidas após 48h de exposição dos caramujos ao extrato bruto.

**Figura 12-** Alterações nos hemócitos dos caramujos *Biomphalaria glabrata* expostos por 48 horas ao extrato do fruto da *Anadenanthera colubrina*. \*p<0,05 e \*\*p<0,01 em comparação ao grupo controle.



Fonte: A autora, 2025.

Todos os grupos analisados demonstraram a presença de alterações hemocitárias como apoptose (AP), binucleação (BN) e micronúcleo (MN), sendo mais frequentes nas concentrações de 75 e 100 ppm (Figura 12A-C). A ocorrência de apoptose, binucleação e micronúcleo no controle negativo apresentou uma frequência de 2%, 5% e 8%, respectivamente, enquanto não foram observadas alterações significativas no grupo controle com DMSO 0,25%, indicando que o solvente não afetou a ocorrência de alterações hemocitárias nos grupos tratados.

A frequência de apoptose foi significativa para os grupos de 75 e 100 ppm, que mostraram 17% e 23% de ocorrência, respectivamente. A presença de binucleação ocorreu em 21% dos hemócitos analisados na concentração de 75 ppm e 16% na concentração de 100 ppm. Foi constatado, ainda, 26% e 44% de micronúcleo nos hemócitos analisados para a concentração de 75 e 100 ppm, respectivamente. No grupo exposto a 25 ppm houve uma maior prevalência de binucleações (8%), enquanto no grupo de 50 ppm a presença de micronúcleos se destacou com 10% de ocorrência. Entretanto, apesar dessas alterações observadas, os grupos de 25 e 50 ppm não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em relação ao controle negativo.

O teste de micronúcleo é uma ferramenta importante na avaliação da citotoxicidade de substâncias químicas, pois permite identificar alterações nucleares em células na fase de intérfase, além de detectar danos cromossomais induzidos por

agentes aneugênicos ou clastogênicos, danos esses que podem ser repassados para células-filhas e levar as células à apoptose (OECD, 2023).

Diante desse cenário, a exposição a extratos vegetais pode causar diversos efeitos no sistema imunológico de *Biomphalaria* sp., como alterações morfológicas, aumento de pseudópodes, anormalidades nucleares, vacúolos e apoptose, sugerindo um efeito imunotóxico dessas substâncias em gastrópodes de água doce (Leão *et al.*, 2024). Esses tipos de alterações também foram observadas nos organismos expostos ao extrato de *A. colubrina* no presente estudo, especialmente nas concentrações mais elevadas, o que indica a capacidade dessa planta de comprometer o sistema imune do caramujo. Foi possível observar alterações celulares em todas as concentrações estudadas, demonstrando o caráter tóxico da *A. colubrina*.

Adicionalmente, a apoptose é um processo fisiológico de morte celular programada que tem como objetivo garantir o equilíbrio entre produção e eliminação de células no organismo, podendo indicar, além de danos ao DNA e ação de radicais livres, possível imunotoxicidade após exposição de gastrópodes à substâncias químicas (Obeng, 2020; Reed, 2006). Diante disso, o extrato de *A. colubrina* induziu um aumento estatisticamente significativo na frequência de apoptose nos hemócitos, especialmente nas concentrações de 75 e 100 ppm, sugerindo efeito citotóxico dose-dependente, resultado similar ao encontrado por Aguiar *et al.* (2022) e Batista *et al.* (2022) em estudo que avaliou os efeitos citotóxicos dos extratos de *Bauhinia monandra* e *Parkia pendula*, demonstrando a importância do estudo dos hemócitos para determinação do efeito tóxico de extratos vegetais em *B. glabrata*.

A ocorrência de binucleações, resultante do bloqueio da citocinese e de falhas na mitose, pode refletir anomalias celulares associadas ao desequilíbrio genético, à carcinogênese e à ativação de processos apoptóticos (Hayashi e Karlseder, 2013; Rodilla, 1993). No presente estudo, observou-se um aumento significativo da frequência de binucleações nas maiores concentrações testadas, o que reforça a hipótese de atividade citotóxica, apresentando resultados semelhantes aos relatados por Batista *et al.* (2022) e Aguiar *et al.* (2022).

Cabe destacar ainda a presença significativa de micronúcleos, fragmentos de DNA que não foram incorporados ao núcleo durante a divisão celular, observada nas

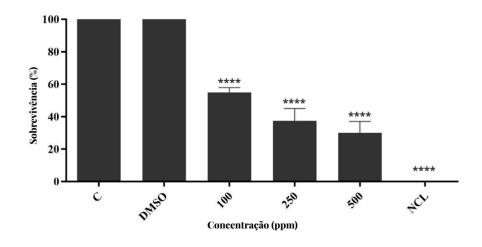
maiores concentrações testadas, indicando que a *A. colubrina* apresenta potencial mutagênico (Carmo; Leal; Ribeiro, 2020).

## 5.4 TOXICIDADE DO EXTRATO FRENTE A Artemia salina

A Figura 13 expõe os dados de sobrevivência do microcrustáceo *Artemia salina* após 24 horas da exposição ao extrato bruto da *A. colubrina*. Onde foi observado que o extrato bruto da *A. colubrina* apresentou toxicidade significativa sobre os microcrustáceos, em todas as concentrações testadas. Os grupos expostos a 100, 250 e 500 ppm apresentaram 55%, 37,5% e 30% de sobrevivência, respectivamente, caracterizando uma diminuição linear da sobrevivência desses animais após exposição ao extrato testado.

A avaliação da toxicidade de extratos de plantas medicinais é essencial para garantir a segurança de seu uso e, nesse contexto, o microcrustáceo *Artemia salina* se destaca como modelo experimental por sua sensibilidade a substâncias presentes no meio, fácil cultivo, resposta rápida e baixo custo; além disso, a análise de sua viabilidade após a exposição aos extratos contribui para identificar os efeitos das substâncias testadas (Silva; Silva, 2023).

**Figura 13-** Sobrevivência da *Artemia salina* após exposição ao extrato bruto do fruto da *Anadenanthera colubrina*. \*\*\*\*p<0,0001 em comparação ao grupo controle



Fonte: A autora, 2025.

Os dados descritos por Sá *et al.* (2016) corroboram com o encontrado neste trabalho, uma vez que também relataram mortalidade significativa para *A. salina* em todas as concentrações do extrato bruto da casca da *A. colubrina* após 24 horas de exposição.

Assim como observado no extrato do fruto da *A. colubrina*, o extrato aquoso de *Indigofera suffruticosa* (Fabaceae) apresentou decrescimento linear na sobrevivência da *A. salina* (Figueiredo, 2011). O extrato aquoso da *I. suffruticosa* apresentou menor toxicidade, quando comparada ao extrato testado neste trabalho, em todas as concentrações avaliadas, com 55% de mortalidade em 500 ppm e 36,3% em 250 ppm, enquanto a *A. colubrina* causou 70% e 62,5% de mortalidade, respectivamente, indicando que este extrato é mais tóxico.

O extrato hidroalcoólico da *I. suffruticosa*, porém, apresentou aumento de toxicidade, atingindo 64% de mortes em 250 ppm, se aproximando da obtida neste trabalho para essa concentração, e 78,7% de mortes em 500 ppm, superando os 70% encontrados para *A. colubrina*. Assim, embora o extrato aquoso de *I. suffruticosa* tenha demonstrado toxicidade relevante, o extrato hidroalcoólico se mostrou consideravelmente mais letal, apresentando um perfil tóxico mais próximo ao observado para *A. colubrina*.

O extrato bruto de *Anadenanthera colubrina* apresentou impacto negativo sobre *Artemia salina*, o que sugere baixa seletividade. Esse resultado demonstra a importância de estudos complementares que busquem isolar e caracterizar os compostos ativos presentes no extrato, a fim de desenvolver moluscicidas naturais mais seguros, que combinem alta eficácia contra os caramujos vetores com menor toxicidade a organismos não-alvo e menor risco ambiental.

## 6 CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstram que o extrato bruto do fruto de *Anadenanthera colubrina* possui atividade biológica significativa sobre *Biomphalaria glabrata*, além de promover alterações comportamentais, fisiológicas e reprodutivas. A prospecção fitoquímica revelou a presença de taninos e esteroides, sendo os taninos os principais candidatos à atividade moluscicida observada.

O extrato demonstrou efeitos tóxicos relevantes em caramujos adultos, porém, não atendeu aos critérios estabelecidos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para ser classificado como um moluscicida eficaz. No entanto, os efeitos observados nos hemócitos, como aumento de apoptose, binucleação e micronúcleo evidenciam o potencial citotóxico do extrato, reforçando sua capacidade de afetar a sobrevivência e a reprodução dos moluscos hospedeiros intermediários da esquistossomose.

Por outro lado, a toxicidade significativa observada frente ao microcrustáceo *Artemia salina* em todas as concentrações testadas indica que o extrato de *A. colubrina* pode afetar organismos não-alvo, o que representa um alerta importante quanto à sua aplicação ambiental. Dessa forma, apesar das limitações encontradas, o fracionamento do extrato pode representar uma alternativa promissora para isolar compostos mais seletivos e eficazes, contribuindo para o desenvolvimento de moluscicidas naturais mais seguros.

## 7 REFERÊNCIAS

AGUIAR, T. W. A.; BATISTA, J. J.; FERREIRA, S. A. O.; SAMPAIO, M. V. L.; PEREIRA, D. R.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; MELO, A. M. M. A.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; AIRES, A. L.; ARAÚJO, H. D. A.; COELHO, L. C. B. B. Effect of *Bauhinia monandra* Kurz Leaf Preparations on Embryonic Stages and Adult Snails of *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), *Schistosoma mansoni* Cercariae and Toxicity in *Artemia salina*. **Molecules**, v. 27, n. 15, 2022.

ALI, S. M.; ALLAN, F.; AYI, I.; CHANDRE, F.; COELHO, P. M. Z.; GARBA, A.; EL-HAWARY, A. K.; GUO, J.; JIAMRONG, D.; KARIUKI, C.; MADSEN, H.; MOHAMMED, S. J.; MONÉ, H.; MUELLER, P.; N'GORAN, E. K.; OXBOROUGH, R.; ROLLINSON, D.; TIANPING, W.; YADAV, R. S.; ZHANG, Y.; ZHANG, Y.; ZHOU, X. N. Utilisation sur le terrain de molluscicides dans les programmes de lutte contre la schistosomiase: un manuel pratique à l'usage des gestionnaires de programmes. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2020. Disponível em: https://hal.science/hal-03001037/. Acesso em: 02 jun. 2025.

ANDRADE, Z. A.; SVIGEL, S. S.; FARO, M. J. **Atlas de histologia de** *Biomphalaria glabrata*. 1 ed. Curitiba: CRV, 2022. 78 p.

ARAÚJO, A. A. B.; ARAÚJO, D. V.; SANTOS, H. L. S.; ALMEIDA, E. R. M; HENRIQUE, J. S.; SANTOS, A. F.; MELO, N. C.; NASCIMENTO, E. B. B.; CASTANHA, E. R.; CORREIRA, A. C. C. *In*: SOUSA, C. M. M.; LEÃO, C.; FERREIRA, J. M. A. **Pesquisas e debates sobre a saúde coletiva: um intercâmbio entre Brasil e Portugal.** 2 ed. Recife: Omnis Scientia, 2024. 919-930 p.

ARAÚJO, D. R. C. et al. Effects of Rainfall on the Antimicrobial Activity and Secondary Metabolites Contents of Leaves and Fruits of *Anadenanthera colubrina* from Caatinga Area. **Pharmacognosy Journal**, v. 9, n. 4, 2017.

ARAÚJO, H. D. A., SILVA, H. A. M. S., SIQUEIRA, W. N., SANTOS, V. H. B., LIMA, M. V., SILVA JÚNIOR, J. G., 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) infected and not infected with *Schistosoma mansoni*. **Acta Tropica**, v. 222, p. 106067, 2021.

ARAÚJO, J. D. S.; MADUREIRA, M. T.; NASCIMENTO, L. P.; MACIEL, M. C. B. Sistema Nacional de Redes Fito: uma abordagem sobre o desafio da produção de matérias primas vegetais com qualidade. **Revista eletrônica Teccen**, v. 14, n. 2, 2021.

ARAÚJO, José Rafael da Silva. Atividades biológicas de duas plantas medicinais: *Commiphora leptophloeos* e *Anadenanthera colubrina* var. cebil. Tese (Doutorado em Genética) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2022.

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. 94, 2018.

BARBOSA, C. S; OLIVEIRA, E. C. A. Epidemiologia da Esquistossomose. *In*: BARBOSA, C.S.; GOMES, E. C. S.; OLIVEIRA, E. C. A. **Manual Prático para o Diagnóstico e Controle da Esquistossomose** [online]. 4. ed. Recife: Instituto Aggeu Magalhães, 2024. 125 p.

BATISTA, J. J.; ARAÚJO, H. D. A.; AGUIAR, T. W. A.; FERREIRA, S. A. O.; LIMA, M. V.; PEREIRA, D. R.; FERREIRA, M. R. A.; SOARES, L. A. L.; MELO, A. M. M. A.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; AIRES, A. L.; COELHO, L. C. B. B. 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. **Acta Tropica**, v. 228, p. 106312, 2022.

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, n. 5, p. 428-430, 2002.

BI, X.; SHI, Z.; LI, D.; ZHAN, W.; WANG, Z.; LI, H.; ZHAO, B.; CHEN, G. Arsenic accumulation and reproductive toxicity in freshwater snail (*Pomacea canaliculata*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 289, n. 117688, 2025.

BORGES, L. P.; AMORIM, V. A. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia de vigilância em saúde: volume 1. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. 740 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\_vigilancia\_saude\_3ed.pdf. Acesso em: 14 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informação de Agravos de Notificação - Sinan Net. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024a. Disponível em: https://datasus.saude.gov.br/informacoes-de-saude-tabnet/. Acesso em: 01 fev 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informações Hospitalares do SUS. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024b. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sih/cnv/niuf.def. Acesso em: 01 fev 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Sistema de Informações sobre Mortalidade - SIM. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2024c. Disponível em: http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sim/cnv/obt10uf.def. Acesso em: 01 fev 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância da esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas. Brasília: Ministério da Saúde, 2008. 178 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia\_controle\_moluscos\_import\_epi demio\_2ed.pdf. Acesso em: 02 jun. 2025.

BRASIL. Ministério da Saúde. Vigilância da esquistossomose mansoni: diretrizes técnicas. Brasília: Ministério da Saúde, 2024d. 116 p. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/vigilancia\_esquistossome\_mansoni\_diret rizes tecnicas.pdf. Acesso em: 22 maio 2025.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente e das Mudanças do Clima. Parque Nacional do Catimbau: Plano de Manejo Integrado do Fogo. Buíque: ICMBio, 2023. 17 p. Disponível em: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/planos-de-manejo-integrado-do-fogo/PMIF\_Catimbau\_1.pdf. Acesso em: 21 maio 2025.

BUSTINDUY, A.L.; RITCHER, J.; KING, C.H. Schistosomiasis. *In*: FARRAR, P. J. HOTEZ, T. JUNGHANSS, G. KANG, D. LALLOO, N. J. WHITE, & P. J. GARCIA. **Manson's Tropical Infectious Diseases**. Reino Unido: Elsevier, 2023. 706-733p.

CANTANHEDE, S. P. D.; MARQUES, A. M.; SILVA-SOUZA, N.; VALVERDE, A. L. Atividade moluscicida de plantas: uma alternativa profilática. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, n. 2, p. 282-288, 2010.

CARMO, L. R.; LEAL, L. S.; RIBEIRO, L. R. *Allium cepa* e teste do Micronúcleo como bioindicadores de citogenotoxicidade em extratos aquosos de plantas medicinais. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 10, 2020.

CARVALHO, O. S.; COELHO, P. M. Z.; LENZI, H. L. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose: uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008, p. 347-391.

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, n. 2-3, p. 285–291, fev. 2012.

COSTA, E. M.; PIFANO, D. S.; YAMAMOTO, S. M. Plantas utilizadas na alimentação animal conhecidas por especialista locais em uma comunidade de Fundo de Pasto, em Juazeiro-BA. *In*: PACHECO, C. S. G. R.; SANTOS, R. P. **AGROECOLOGIA: PRODUÇÃO E SUSTENTABILIDADE EM PESQUISA-VOL. 4.** 1. ed. Guarujá: Editora Científica Digital, 2023. 136 p.

CRUZ, J. P.; RIBEIRO, F.; VASCONCELOS, V. O. Molluscicidal activity of extracts of plants from the Cerrado against *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Research, Society and Development**, v. 11, n. 8, 2022.

DE LA BALLINA, N. R.; MARESCA, F.; CAO, A.; VILLALBA, A. Bivalve haemocyte subpopulations: a review. **Frontiers in immunology**, v. 13, n. 825255, 2022.

DELICES, M.; MULLER, J. A. I.; ARUNACHALAM, K.; MARTINS, D. T. O. *Anadenanthera colubrina* (Vell) Brenan: Ethnobotanical, phytochemical, pharmacological and toxicological aspects. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 300, n. 115745, 2023.

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

EL-NOUR, M. F. A. Evaluation of molluscicidal, miracicidal and cercaricidal activities of crude aqueous extracts of *Origanum majorana*, *Ziziphus spina-christi* and *Salvia fruticosa* on *Schistosoma mansoni* and *Schistosoma haematobium*. **Egyptian Journal of Aquatic Biology & Fisheries**, v. 25, n. 2, p. 913–933, 2021.

FAVRE, T. C.; PIERI, O.; BARBOSA, C. S. Os Moluscos Transmissores da Esquistossomose Mansoni. *In*: BARBOSA, C.S.; GOMES, E. C. S.; OLIVEIRA, E. C. A. **Manual Prático para o Diagnóstico e Controle da Esquistossomose** [online]. 4. ed. Recife: Instituto Aggeu Magalhães, 2024. 125 p.

FERNANDES, A. V.; BORTOLETTO, C. O.; COUTO, A. C. L.; SILVA NETO, J. B.; PEREIRA, V. V. F. Perfil clínico-epidemiológico e controle da esquistossomose no

estado de Pernambuco. **Anais da Faculdade de Medicina de Olinda**, v. 1, n. 12, p. 25–34, 2024.

FERNANDES, Gérson Caetano. Avaliação do efeito moluscicida dos extratos de *Curcuma longa* em caramujos *Biomphalaria* sp. não infectados e infectados por Schistosoma mansoni: estudo experimental. 2024. 69 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2024.

FERREIRA, D. N. C.; FERREIRA, E. Plantas da caatinga: sabedoria popular sertaneja no uso de plantas forrageiras e medicinais na caprinovinocultura. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020.

FIGUEIREDO, Eliane Souza. Efeitos tóxicos dos extratos aquosos e hidroalcoólicos de *Indigofera Suffruticosa* sobre *Biomphalaria glabrata*, cercárias de *Schistosoma mansoni* e larvas de *Artemia salina*. Tese (Doutorado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011. 86 p.

FRANÇA, W. W. M.; SILVA, A. M.; DINIZ, E. G. M.; SILVA, H. A. M. F.; PEREIRA, D. R.; MELO, A. M. M. A.; COELHO, L. C. B. B.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; ARAÚJO, H. D. A.; AIRES, A. L. Toxic, cytotoxic and genotoxic effect of plumbagin in the developmental stages of *Biomphalaria glabrata* (Say,1818-intermediate host) and cercaricidal activity against the infectious agent of schistosomiasis mansoni. **Pest Management Science**, v. 78, n. 12, p. 5172–5183, 2022.

GOMES, E. C. S.; BARBOSA, C. S. Evolução Histórica e Epidemiológica da Esquistossomose e dos Programas de Controle. *In*: BARBOSA, C.S.; GOMES, E. C. S.; OLIVEIRA, E. C. A. **Manual Prático para o Diagnóstico e Controle da Esquistossomose** [online]. 4. ed. Recife: Instituto Aggeu Magalhães, 2024. 125 p.

GRAZEFFE, V. S.; TALLARICO, L. F.; PINHEIRO, A. S.; KAWANO, T.; SUZUKI, M. F.; OKAZAKI, K.; PEREIRA, C. A.; NAKANO, E. Establishment of the comet assay in the freshwater snail *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 654, n. 1, 2008.

HAYASHI, M. T.; KARLSEDER, J. DNA damage associated with mitosis and cytokinesis failure. **Oncogene**, v. 32, n. 39, p. 4593-4601, 2013.

HUANG, Y. X. Research and field application of molluscicides in China. **Chinese Journal of Schistosomiasis Control**, v. 31, n. 6, p. 679-684, 2020.

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 [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. p. 285-308.

KAWANO, O, 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.

KHABIB, M. N. H; SIVASANKU, Y.; LEE, H. B.; KUMAR, S; KUE, C. S. Alternative animal models in predictive toxicology. **Toxicology**, v. 465, n. 153053, 2022.

LADHAR-CHAABOUNI, R.; HAMZA-CHAFFAI, A. The cell cultures and the use of haemocytes from marine molluscs for ecotoxicology assessment. **Cytotechnology**, v. 68, p. 1669-1685, 2015.

LEÃO, G. R.; SILVA, L. P. S.; DAMACENA-SILVA, L.; ROCHA, T. L. Toxicity of environmental chemicals in gastropods' hemocytes: Trends and insights based on investigations using *Biomphalaria* spp. **Science of The Total Environment,** v. 957, n. 177522, 2024.

LIMA, A. R. N.; MACEDO, R. G.; BATISTA, G. G.; CÂMARA, G. B.; LIMA, R. de F.; OLIVEIRA, T. K. B. de. Antimicrobial and anti-inflammatory activity of *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 1, 2020.

LIMA, M. V.; SIQUEIRA, W. N.; SILVA, H. A. M. F.; LIMA FILHO, J. M.; FRANÇA, E. J.; MELO, A. M. M. A. Cytotoxic and genotoxic effect of oxyfluorfen on hemocytes of *Biomphalaria glabrata*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 26, p. 3350-3356, 2019.

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.

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.

MARTINS, T. G. T.; PEREIRA, A. P. M.; ROSA, P. V. S.; SILVEIRA, L. S.; CONCEIÇÃO, F. O. V. A.; CONCEIÇÃO, C. E. P.; LOPES, T. R.; FONSECA, D.; AMORIM, N. M. J.; BATISTA, C. L. C.; NETO, A. P. A.; EVERTON, G. O. Molluscicidal activity in front of the *Biomphalaria glabrata* snail of the essential oil of *Origanum vulgare* L. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 10, 2021.

MCCULLOUGH, F. S., GAYRAL, P. H., DUNCAN, J., CHRISTIE, J. D. Molluscicides in schistosomiasis control. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 58, n. 5, 1980.

MENDOZA, B. M.; FERNÁNDEZ, A. G. E.; GARCÍA, E. A. Saponinas, péptidos y compuestos fenólicos, antihipertensivos naturales. Estudios in vitro e in vivo. **Ciência Latina Revista Científica Multidisciplinar**, v. 7, n. 1, p. 3834-3863, 2023.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta medica**, v. 45, n. 05, p. 31-34, 1982.

MIN, B.R.; SOLAIMAN, S. Comparative aspects of plant tannins on digestive physiology, nutrition and microbial community changes in sheep and goats: A review. **Journal of animal physiology and animal nutrition**, v. 102, n. 5, p. 1181-1193, 2018.

MORIM, M. P. *Anadenanthera in* **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <a href="https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB18072">https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB18072</a>>. Acesso em: 17 mar. 2025.

MORI, S. A.; SILVA, L. A. M.; LISBOA, G.; CORADIN, L. Manual de Manejo do Herbário Fanerogâmico. 2 ed., Ilhéus: CEPLAC, 1989.

NASCIMENTO, P. P. S.; FERRAZ-CARVALHO, R. S.; SILVA, T. S.; ARAÚJO, T. A. S.; AMORIM, E. L. C.; PEREIRA, M. A.; CAVALCANTI, I. M. F. Interaction between bark extract of *Anadenanthera colubrina* var. cebil (Griseb.) Altschul with antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 6, 2021.

NAKANO, E.; WATANABE, L. C.; OHLWEILER, F. P.; PEREIRA, C. A. B.; KAWANO, T. Establishment of the dominant lethal test in the freshwater mollusk *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 536, p. 145-154, 2003.

NEVES, D. P., MELO A. L., LINARDI P. M., VITOR R. W. A. **Parasitologia humana**. 14ª edição. São Paulo: Editora Atheneu, 2022. 616 p.

NOGUEIRA, A. J. L.; MENDES, R. J. A.; NINO, C. R. C. F.; OLIVEIRA, Y. S.; ROCHA, C. Q.; AMBRÓSIO, H. T. M. J.; EVERTON, G. O.; ROSA, I. G.; PEREIRA FILHO, A. A. Evaluation of molluscicidal activity on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) and phytochemical characterization of hydroalcoholic extract of leaves of *Ricinus communis* L. (EUPHORBIACEAE). **Experimental Parasitology**, v. 247, n. 108481, 2023.

NOGUEIRA, A. J. L; SEREJO, A. P. M.; DIAS, A, A. S.; COUTINHO, D. F. TANINOS: uma revisão. *In*: **Tópicos integrados em botânica**. LEMOS, J. R. (Org), Ponta Grossa - PR: Atena, p. 45-58, 2021.

NTUNGWE, E. N.; DOMÍNGUEZ-MARTÍN, E. M.; ROBERTO, A.; TAVARES, J.; ISCA, V. M. S; PEREIRA, P.; CEBOLA, M. J.; RIJO, P. *Artemia species*: An important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, v. 26, n. 24, p. 2892-2908, 2020.

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.

OBENG, E. Apoptosis (programmed cell death) and its signals - A review. **Brazilian Journal of Biology**, v. 81, n. 4, p. 1133–1143, 2021.

OECD. Test No. 487: In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test. Paris: OECD Publishing, 2023.

OHLWEILER, F. P.; ROSSIGNOLI, T. J.; PALASIO, R. G. S.; TUAN, R. Taxonomic diversity of *Biomphalaria* (Planorbidae) in São Paulo state, Brazil. **Biota Neotropica**, v. 20, n. 2, p. 2-15, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Scientific Working Group on Plant Molluscicides**. Bulletin of the World Health Organization, Genebra, v. 61, n. 6, 1983.

PARAENSE, W. L. Histórico do Gênero *Biomphalaria*, Morfologia e Sistemática Morfológica. *In*: Carvalho, O. S.; Coelho, P. M. Z.; Lenzi, H. L. *Schistosoma mansoni* e esquistossomose uma visão multidisciplinar [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2008. p. 285-308.

PAREYN, F. G. C.; ARAÚJO, E. L.; DRUMOND, M. A. *Anadenanthera colubrina*: Angico. In: CORADIN, L.; CAMILLO, J.; PAREYN, F. G. C. **Espécies nativas da** 

flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: região Nordeste. Brasília, DF: MMA, 2018. p. 740-745.

PAVLICA, M., KLOBUČAR, G. I., VETMA, N., ERBEN, R., PAPEŠ, D. Detection of micronuclei in haemocytes of zebra mussel and great ramshorn snail exposed to pentachlorophenol. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 465, p. 145-150, 2000.

PIERI, O. S.; JURBERG, P. Aspectos etológicos na sobrevivência dos caramujos vetores da esquistossomose ao tratamento com moluscicidas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 76, n. 1, p. 47–55, 1981.

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. 119–128, 2016.

PROKHOROVA, E. E.; SEREBRYAKOVA, M. K.; TOKMAKOVA, A. S.; ATAEV, G. L. Hemocytes of mollusc *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda, pulmonata). **Invertebrate Survival Journal**, v. 15, n. 1, p. 346-351, 2018.

RANGEL, L. S.; GOMES, K. N. F.; SANTOS, J. A. A.; FARIA, R. X. Bioactivity of substances isolated from natural products on mollusks *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) (Planorbidae): a review. **Brazilian Journal of Biology**, v. 83, p. e266526, 2023.

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.; YAMAGUCHI, L. F. Schistosomiasis control using piplartine against *Biomphalaria glabrata* at different developmental stages. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 6, p. e2251, 2013.

REED, D. J. Assessment of the activity of antioxidant enzymes. **Current Protocols** in **Toxicology**, v. 28, p. 1-3, 2006.

REIS, Soely Maria Pissini Machado. Comportamento de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) albina inoculada com hemolinfa total ou livre de amebócitos, frente a infecção por *Schistosoma mansoni* Sambom, 1907. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996. 105f.

REY, L. **Bases da parasitologia médica**. 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora: Guanabara Koogan, 2015. 404 p.

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. Toxic effect of *Croton rudolphianus* leaf essential oil against *Biomphalaria glabrata*, *Schistosoma mansoni* cercariae and *Artemia salina*. **Acta Tropica**, v. 223, n. 106102, 2021.

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.

RODILLA, V. Origin and evolution of binucleated cells and binucleated cells with micronuclei in cisplatin-treated CHO cultures. **Mutation Research/Genetic Toxicology**, v. 300, n. 3-4, p. 281-291, 1993.

RUPPERT, E. E.; BARNES, R. D.; FOX, R S. **Zoologia de Invertebrados**. 7 ed. São Paulo: Roca, 2005. 1.146 p.

SÁ, J. L. F. Avaliação das atividades moluscicida, cercaricida e artemicida de *Myracrodruon unrundeuva* Allemão e *Schinus terebinthifolius* Raddi e suas frações

acetato de etila. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Fisiologia) - Universidade Federal de Pernambuco. Recife, p. 110, 2016.

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 colubrina* extracts on adult mollusc and embryos of the species *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818). **Scientia Plena**, v. 12, n. 10, 2016.

SALES, A. S.; SILVEIRA, D. P. B.; MELO, A. C.; RIBEIRO, E. C. G.; MESQUITA, L. S. S. de; LEITE, J. A. C.; LUZ, T. R. S. A.; COUTINHO, D. F. Estudo farmacobotânico, químico e atividade moluscicida do óleo essencial das folhas de *Mentha spicata*. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 23, n. 4, p. 243-252, 2021.

SANTOS, J. A. A.; GOMES, K. N. F.; LIMA, L. V.; FARIA, R. X. Bioactivity of *Plectranthus grandis* (L.H. Cramer) R.H. Willemse Extracts on *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) in Laboratory. **Open Access Journal of Biomedical Scienc**, v. 4, n. 6, p. 1208-1214, 2021.

SANTOS, Natália Souza. Efeitos das nanopartículas de óxido de zinco (NPs ZnO) em alguns aspectos da sobrevivência, reprodução e desenvolvimento de *Biomphalaria glabrata* (say, 1818) (gastropoda: pulmonata). Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Saúde) - Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 84 p., 2020.

SCHAUFELBERGER, D.; HOSTETTMANN, K. On the molluscicidal activity of tannin containing plants. **Planta Medica**, v. 48, n. 6, p. 105–107, 1983.

SENIGALIA, R. L. C.; FERREIRA, A. L. S.; COELHO, M. F. B.; SANTOS, A. S. R. M.; CASTRO, D. A. Toxicidade de extratos vegetais de plantas do cerrado de uso medicinal. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 55308-55317, 2020.

SGANZERLA, C. M.; PREDEBOM, A. J.; VELOSO, J.; CORRALO, V. S.; ROMAN JUNIOR, W. A. Revisão integrativa aplicada a levantamentos etnobotânicos de plantas medicinais no Brasil. **Revista Acta Ambiental Catarinense**, v. 19, n. 1, p. 1-16, 2021.

SILVA, Elis Karyne Carvalho da. Avaliação das atividades antimicrobiana, citotóxica e antioxidante de extratos metanólico e aquoso de galhos da *Anadenanthera colubrina* (Vell.) Brenan. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas)-Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 63 p., 2020a.

SILVA FILHO, J. T.; COÊLHO, M. D. G. Triagem da atividade toxicológica, moluscicida e acaricida de infuso de *Ocimum basilicum* linnaeus. **Ciência e saúde on-line**, v. 5, n.3, p. 31-38, 2020.

SILVA, H. A. M. F.; SÁ, J. L. F.; SIQUEIRA, W. N.; LIMA, M. V.; MARTINS, M. C. B.; AIRES, A. L.; ALBUQUERQUE, M. C. P. A.; FALCÃO, E. P. S.; BURIL, M. L. L.; PEREIRA, E. C.; MELO, A. M. M. A.; 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.

SILVA, Lidiane Cristina. Alterações reprodutivas e fisiológicas em *Bradybaena similaris* FÉRUSSAC, 1821 (Bradybaenidae), *Leptinaria unilamellata* (D' Orbigny, 1835) e *Subulina octona* (Brugüière, 1789) (Subulinidae) expostas ao extrato aquoso de *Solanum paniculatum* (A.St. Hill) e *Solanum lycocarpum* (Solanaceae). Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 129 p., 2013.

SILVA, L. M.; SILVA, F. J. Bioassay with *Artemia salina* L.: A gateway to understanding the toxicity of medicinal plant extracts. *In:* **Botânica, Ecologia e Sustentabilidade: Uma Perspectiva Multidisciplinar**. Guarujá, Editora Científica Digital, 2023. 19 p.

SILVA, L. R. S., SILVA, E. B., AMARAL, A. J., AMANCIO, F. F., MELO, A. M. M. A. Avaliação da radiossensibilidade de hemócitos de *Biomphalaria glabrata* expostos à radiação gama. **Scientia Plena**, v. 9, p. 1-9, 2013.

SILVA, L. T.; GONÇALVES, T. P. R.; DUARTE, A. C. O. Análise fitoquímica e potencial antioxidante do extrato das folhas de *Anadenanthera colubrina*. **Scientia vitae**, v. 15, n. 41, 2023.

SILVA, Y. R. R.; SILVA, L. D.; ROCHA, T. L.; SANTOS, D. B.; BEZERRA, J. C. B.; MACHADO, K. B.; PAULA, J. A. 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?. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, n. 4, 2020b.

SINGH, N. P.; MCCOY, M. T.; TICE, R. R.; SCHNEIDER, E. L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. **Experimental Cell Research**. v. 175, p. 184-191, 1988.

SOUZA, F. P. C.; VITORINO, R. R.; COSTA, A. P.; FARIA JÚNIOR, F. C.; SANTANA, L. A.; GOMES, A. P. Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural. **Revista da Sociedade Brasileira de Clínica Médica**, v. 9, n.4, p. 300-307, 2011.

STAPPEN, G. V.; SORGELOOS, P.; ROMBAUT, G. Manual on *Artemia* production and use. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2024.

TAIZ, L.; ZEIGER, E.; MOLLER, I. M.; MURPHY, A. **Fisiologia e Desenvolvimento Vegetal**. 7 ed. Porto Alegre: Artmed, 2024. 864p.

TREVISANO, Gabriela Friani Vieira. Alterações imunológicas e histopatológicas em *Biomphalaria glabrata* SAY, 1818 (Pulmonata: Planorbidae) infectada por *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 (Trematoda: Schistosomatidae) e exposta à concentração subletal do látex de *Euphorbia milii* (syn splendens) var. hislopii

(Euphorbiaceae). Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 45 p., 2017.

WACZUK, E. P.; KAMDEM, J. P.; ABOLAJI, A. O.; MEINERZ, D. F.; BUENO, D. C.; GONZAGA, T. K. S. N.; DOROW, T. S. C.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; ROCHA, J. B. T.; ÁVILA, D. S. *Euphorbia tirucalli* aqueous extract induces cytotoxicity, genotoxicity and changes in antioxidant gene expression in human leukocytes. **Toxicology Research**, v. 4, p. 739-748, 2015.

WAGNER, H.; BLADT, S. **Plant drug analysis**: a thin layer chromatography atlas. 2 ed. Nova lorque: Springer, 1996. 384 p.

WANG, W., LI, M.; WANG, L.; CHEN, H.; LIU, Z.; JIA, Z.; QIU, L.; SONG, L. The granulocytes are the main immunocompetent hemocytes in *Crassostrea gigas*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 67, p. 221-228, 2017.

WEBER, C. R.; SOARES, C. M. L.; LOPES, A. B. D.; SILVA, T. S.; NASCIMENTO, M. S.; XIMENES, E. C. P. A. *Anadenanthera colubrina:* um estudo do potencial terapêutico. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 92, n. 4, p. 235-244, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Schistosomiasis**. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/schistosomiasis#tab=tab\_1. Acesso em: 23 maio 2025.

ZHENG, L., DENG, L., ZHONG, Y., WHANG, Y., GUO, W., FAN, X. Molluscicides against the snail-intermediate host of Schistosoma: a review. **Parasitology research**, v. 120, p. 3355-3393, 2021.