



Atividade biológica de *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) procedente de regiões fitogeográficas distintas sobre *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae)

Vanessa Barreto Xavier¹, Hércio Resende Borba² & Solange Viana Paschoal Blanco Brandolini³

¹Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias/UFRRJ. BR 465, Km 7, Seropédica, RJ, Brasil. 23.890-000. vanessaxavier09@yahoo.com.br

²Departamento de Biologia Animal/UFRRJ. BR 465, Km 7, Seropédica, RJ, Brasil. 23.890-000. borba@ufrj.br

³Departamento de Biologia Animal/UFRRJ. Caixa postal 74 555, 23890-000, Seropédica, RJ, Brasil. solangeb@ufrj.br

Abstract. Biological activity of *Solanum lycocarpum* (Solanaceae) coming from different fitogeographic regions in bioassays with *Biomphalaria glabrata* (Planorbidae). Schistosomiasis, in Brazil, is a serious problem for the public health, which has motivated numerous studies involving alternative forms of control the host snail, *Biomphalaria glabrata*. The objectives of the present study were: (1) to evaluate the molluscicidal potential of *Solanum lycocarpum* coming from the Estação Ecológica de Pirapitinga, Três Marias, Minas Gerais state and from campus Seropédica of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro state through bioassays with *B. glabrata* and (2) to verify chronic effect, in the surviving snails, of the exposition to the aqueous extract of the plant on the reproduction (number the egg mass) and mortality. Leaves of the plant were droughts in ambient temperature, cut and weighed for the infusion preparation 10%, from which concentrations 2.5 and 5% were prepared. The snails used in the bioassays showed 9-13 mm shell diameter. Strong molluscicidal activity was observed, already in first the 24 hours of observation with the 10% concentration, for the plants came from the two analyzed localities. After 90 days of observation the influence of extracts on the parameter mortality of the surviving snails to the bioassays was observed.

Key words: biologic activity, reproduction, mortality, *Solanum lycocarpum*, *Biomphalaria glabrata*.

Resumo. A esquistossomose mansônica no Brasil constitui-se um grave problema para a saúde pública, o que tem motivado inúmeras pesquisas envolvendo formas alternativas de controle do molusco hospedeiro, *Biomphalaria glabrata*. O presente estudo teve por objetivos: (1) avaliar o potencial moluscicida de *Solanum lycocarpum* procedente da Estação Ecológica Pirapitinga, Três Marias, MG e do campus Seropédica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ através de bioensaios com *B. glabrata* e (2) verificar efeitos crônicos, nos moluscos sobreviventes, da exposição ao extrato aquoso da planta sobre a reprodução (número de massas ovíferas) e mortalidade. Folhas da planta, após secas a temperatura ambiente, foram picotadas e pesadas para a preparação da infusão a 10%, a partir da qual foram obtidas as concentrações 2,5 e 5%. Os moluscos utilizados nos bioensaios apresentavam 9-13 mm de diâmetro de concha. Os extratos obtidos da planta, na concentração de 10%, determinaram as maiores taxas de mortalidade ao final do bioensaio, 100 e 93,4% respectivamente para as duas localidades de coleta. Sendo dessa forma, comprovada sua ação moluscicida. Decorridos 90 dias de observação, verificou-se a influência dos extratos sobre o parâmetro mortalidade dos moluscos sobreviventes aos bioensaios.

Palavras-chave: atividade moluscicida, reprodução, mortalidade, *Solanum lycocarpum*, *Biomphalaria glabrata*.

INTRODUÇÃO

Solanum lycocarpum St. Hill., popularmente conhecida como lobeira, ocorre em todo o território brasileiro, principalmente em regiões de cerrado. É uma planta pioneira e potencialmente útil na recuperação de áreas degradadas sendo encontrada, preferencialmente, em áreas cuja cobertura vegetal foi removida tal como margem de estradas e terrenos baldios (LORENZI, 1999). A partir dos seus frutos produz-se um polvilho, ao qual é atribuída propriedade terapêutica como hipoglicemiante (DALL'-AGNOL & VON-POSER, 2000).

Espécies de *Solanum* produzem uma variedade de saponinas esteroidais e alcalóidicas, que se destacam por suas atividades biológicas. Cerca de duzentos alcalóides esteroidais diferentes (esqueleto colestano C₂₇, divididos em cinco tipos estruturais) já foram isolados e se apresentaram na forma livre e como alcalóides glicosilados (ATTA-UR-RAHMAN & CHOUDHARRY, 1998).

Os glicoalcalóides de *Solanum* são indiscutivelmente um dos grupos de substâncias mais pesquisadas quanto as suas propriedades biológicas, entre as quais se destaca o efeito alelopático devido aos glicoalcalóides espirosolanos tais como solamargina e solasodina que suprimem o crescimento de outras plantas (ALVES *et al.*, 2003). Por suas características únicas, em termos de riquezas biológicas, este gênero constitui uma importante fonte de pesquisa para o isolamento de substâncias bioativas.

SILVA (2002) utilizando extratos metanólico e butanólico de *Solanum jabrense* Agra & Nee obteve resultados preliminares que indicaram atividade moluscicida significativa. Esta autora constatou a presença da solasonina como principal

componente do extrato butanólico. O presente estudo teve por objetivos: (1) avaliar o potencial moluscicida de *S. lycocarpum* procedente da Estação Ecológica Pirapitinga, Três Marias, MG e do campus Seropédica da UFRRJ, RJ através de bioensaios com *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e (2) verificar efeitos crônicos da exposição ao extrato aquoso da planta sobre a reprodução (número de massas ovíferas) e mortalidade dos moluscos sobreviventes.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras de *S. lycocarpum* (folhas) foram coletadas na Estação Ecológica de Pirapitinga (Três Marias, MG), localizada nas seguintes coordenadas geográficas: 18°13'5,7"S e 45°14'32"W, e no Campus Seropédica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), RJ, localizado a 22°46'11"S e 43°4'33"W e as exsiccatas RBR 28010 e RBR 14071, respectivamente, foram depositadas no Herbário do Departamento de Botânica da UFRRJ. As folhas, após secas e picotadas foram pesadas para a preparação dos infusos. Por esse método utilizou-se água à temperatura de 90°C para extração dos princípios ativos da matéria vegetal. O tempo de permanência da droga vegetal com a água quente não foi superior a 15 minutos. Durante este período o recipiente contendo a infusão permaneceu tampado, com a finalidade de evitar a evaporação e melhorar a extração. Em seguida o extrato foi resfriado em água corrente e os resíduos grosseiros foram separados por filtração em tecido de algodão. A concentração do infuso foi expressa em percentual (%) (PRISTA *et al.*, 1990). Através de diluições realizadas a partir do extrato aquoso a 10,0%, foram obtidas as concentrações de 5 e

2,5%. As infusões preparadas com as folhas de *S. lycocarpum* foram denominadas, respectivamente: SLFAQ - Três Marias (*S. lycocarpum*, folha, aquoso – Estação Ecológica Pirapitinga, Três Marias, MG) e SLFAQ – UFRRJ (*S. lycocarpum*, folha, aquoso – campus Seropédica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro). Os bioensaios foram realizados com espécimes de *Biomphalaria glabrata* linhagem BH (Belo Horizonte, MG), em triplicata, onde cinco moluscos com 9 a 13 mm de diâmetro de concha foram transferidos para recipientes contendo o extrato aquoso da planta nas concentrações: 2,5; 5 e 10%, onde permaneceram por 24 horas. Após esse período, os moluscos foram mantidos em água desclorada, alimentados *ad libitum* e observados a intervalos de 24 h até completar 72 h. O número total de moluscos mortos foi expresso em porcentagem (%) de mortalidade. O grupo controle foi mantido em recipientes com água desclorada e igualmente alimentados com alface.

A Organização Mundial de Saúde recomenda um método padrão para a avaliação da atividade moluscicida em laboratório, porém na prática é inviável devido a vários fatores, entre eles: local para manutenção dos moluscos, quantidade e qualidade da água (MARSTON & HOSTETTMANN, 1991). Os procedimentos adotados neste estudo foram baseados em uma adaptação do método de MARSTON & HOSTETTMANN (1991) por SILVA (2002) e com a inclusão de uma nova metodologia, a observação dos moluscos sobreviventes aos bioensaios por 90 dias.

Nova Metodologia: observação a longo prazo

Os moluscos sobreviventes aos bioensaios foram separados em aquários, segundo a localidade

de procedência da amostra da planta (campus Seropédica da UFRRJ e Estação ecológica de Pirapitinga - Três Marias) e, também, pelas concentrações utilizadas para cada extrato. Estes moluscos foram observados ao longo de 90 dias e durante este período foram alimentados com alface *ad libitum* que era renovado a cada dois dias. Os aquários foram examinados com intervalos de seis dias para a remoção dos moluscos mortos. Para tanto, os moluscos eram transferidos para uma placa de Petri onde, individualmente, recebiam estímulos mecânicos para a confirmação da mortalidade. A quantificação das massas ovíferas, em cada aquário, também foi realizada em intervalos de seis dias. Ao final do período de observação (90 dias) foi aferida estatisticamente a significância dos resultados obtidos através dos testes: análise de variância (ANOVA) e Tukey-Kramer para comparações múltiplas, pelo programa Graph Pad Instat®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com os extratos de *S. lycocarpum* proveniente de Três Marias e do Campus Seropédica da UFRRJ em bioensaios com *B. glabrata* podem ser observados na Tabela I. Os extratos aquosos na concentração de 10% apresentaram uma expressiva atividade biológica, expressa pelas taxas de mortalidade de 100 e 86,7% respectivamente, nas primeiras 24 horas de observação. De acordo com KLOOS & MCCULLOUGH (1982) e WHO (1993), para que uma planta apresente potencial moluscicida, a mesma deve determinar 90% de mortalidade nas primeiras 24 h de observação. Sendo assim, os resultados obtidos no presente estudo comprovam a ação moluscicida do extrato aquoso de *S. lycocarpum*.

Tabela 1 Taxa de mortalidade de *Biomphalaria glabrata* exposta a extratos aquosos de *Solanum lycocarpum* proveniente da Estação Ecológica Pirapitinga, MG (SLFAQ-Três Marias) e do Campus da UFRRJ (SLFAQ-UFRRJ).

| Tempo (h) | Taxa de mortalidade (%) | | | | | | |
|--------------|-------------------------|---|------------|--------------|-----------------------------------|-------------|-------------|
| | Controle | SLFAQ-Três Marias/ concentrações (%) | | | SLFAQ-UFRRJ/ concentrações (%) | | |
| | | 2,5 | 5,0 | 10,0 | 2,5 | 5,0 | 10,0 |
| 24 | 0,0 | 13,3 | 6,7 | 100,0 | 6,7 | 20,0 | 86,7 |
| 48 | 0,0 | 6,7 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| 72 | 6,7 | 33,3 | 0,0 | 0,0 | 26,7 | 20,0 | 6,7 |
| Total | 6,7 | 53,3 | 6,7 | 100,0 | 33,4 | 40,0 | 93,4 |

De acordo com SILVA *et al.* (2006) os valores da dose letal (DL)₉₀ para extratos obtidos com solventes orgânicos e substâncias isoladas de *S. jabrense* e *S. stipulaceum* Roem & Schult comprovaram as propriedades moluscicida destas plantas. Embora os resultados obtidos por esses autores sejam bastante significativos, a terminologia “dose letal”, não foi adequadamente empregada. Nesse tipo de bioensaio, não se considera o peso dos moluscos, mas sim a relação número de moluscos/volume de concentração, portanto, a terminologia correta seria “concentração letal (CL)”. Os resultados obtidos, no presente estudo, revelaram que os extratos de *S. lycocarpum* obtidos por infusão também apresentam propriedade moluscicida. Entretanto, esses resultados serão complementados com a realização de testes definitivos para a determinação da concentração mínima letal em relação aos moluscos.

As Figuras 1 e 2 apresentam os percentuais de sobrevivência dos moluscos expostos aos extratos SLFAQ – UFRRJ e SLFAQ – Três Marias, respectivamente, em função das concentrações de 2,5 e 5%

durante os 90 dias de observação após a realização dos bioensaios. Em função dos elevados percentuais de mortalidade, 93,4% e 100% verificados ao final do bioensaio para os moluscos expostos à concentração de 10% dos extratos SLFAQ – UFRRJ e SLFAQ – Três Marias, respectivamente, não foi possível a verificação dos efeitos a longo prazo para esta concentração.

A análise estatística dos resultados obtidos por extrato durante 90 dias de observação dos moluscos sobreviventes aos bioensaios evidenciou para ambas as localidades, elevados índices de significância entre o percentual de sobrevivência dos moluscos do grupo controle e aqueles expostos à concentração de 5% e entre aqueles expostos às concentrações de 2,5% e 5%, conforme descrito na Tabela II.

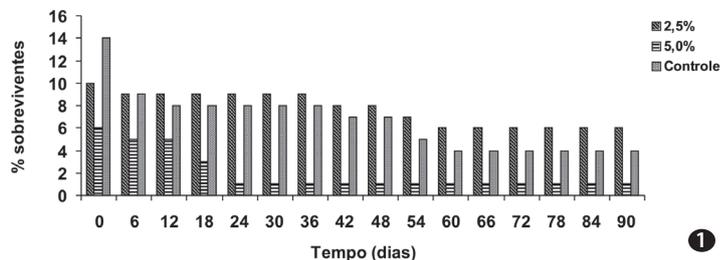


Figura 1 Percentual de sobrevivência de *Biomphalaria glabrata* exposta ao extrato SLFAQ – UFRRJ (*Solanum lycocarpum*, folha, aquoso) ao longo de 90 dias. Procedência: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

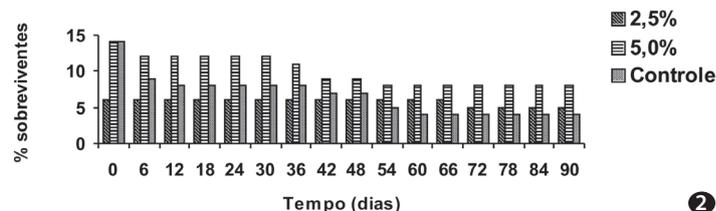


Figura 2 Percentual de sobrevivência de *Biomphalaria glabrata* exposta ao extrato SLFAQ – Três Marias (*Solanum lycocarpum*, folha, aquoso) ao longo de 90 dias. Procedência: Estação Ecológica Pirapitinga, Três Marias, MG.

Tabela 2. Percentual de sobrevivência de *Biomphalaria glabrata* após 90 dias da exposição aos extratos aquosos de *Solanum lycocarpum*.

| Concentrações (%) | Percentual de sobrevivência/Extratos utilizados * | |
|-------------------|---|-----------------------------|
| | SLFAQ – Três Marias X ± SD | SLFAQ - UFRRJ X ± SD |
| 2,5 | 5,75 ± 0,447 ^{a,B} | 7,69 ± 1,493 ^{a,A} |
| 5,0 | 9,93 ± 2,112 ^{b,D} | 1,94 ± 1,769 ^{b,C} |
| Controle | 6,63 ± 2,754 ^{a,A} | 6,63 ± 2,754 ^{a,A} |

* SLFAQ – UFRRJ: *S. lycocarpum*, folha, aquoso. Procedência: Estação Ecológica Pirapitinga, Três Marias, MG. Procedência: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ. SLFAQ – Três Marias: *S. lycocarpum*, folha, aquoso. Médias seguidas de mesma letra não diferem significativamente entre si. Letras minúsculas representam a comparação por extrato e as letras maiúsculas entre os extratos.

Ao comparar os resultados obtidos, por concentração, a análise estatística demonstrou para a concentração de 5 % uma diferença significativa entre o percentual de sobrevivência dos moluscos expostos aos dois extratos e entre estes grupos de moluscos e o grupo controle; com a concentração de 2,5 % foi demonstrada a significância somente entre os moluscos expostos aos dois extratos, como verificado na Tab. II.

Os resultados obtidos no presente estudo encontram apoio em SANTOS *et al.* (2002) que também trabalharam com duas populações de *S. lycocarpum*, uma de região de Cerrado e outra de Mata Atlântica e verificaram a existência de variabilidade genética entre as populações estudadas.

Quando o isolamento geográfico impede o fluxo gênico, as populações tendem a ficar cada vez mais distantes geneticamente. Em plantas, essa situação pode muitas vezes ser acelerada em função de sua natureza séssil, tendo como consequência a adaptação local específica e o surgimento de metapopulações (GALLOWAY & FENSTER, 2000).

Uma espécie de ampla distribuição geográfica, como é o caso da lobeira, poderá originar populações distintas e melhor adaptadas aos diferentes ambientes em que ocorrem. Dessa forma, a diferença significativa verificada entre os resultados obtidos com os moluscos sobreviventes aos bioensaios com os extratos de *S. lycocarpum* procedente das duas regiões analisadas pode refletir uma influência das condições abióticas sobre a composição química da planta.

O metabolismo secundário das plantas pode ser influenciado por fatores abióticos como: temperatura, pluviosidade, tipo de solo, luminosidade, sazonalidade, além de: interações planta/microrganismos, planta/insetos e planta/planta; idade, estágio de desenvolvimento, nutrição, época, horário e procedimento de coleta, bem como a metodologia utilizada para processamento do material vegetal. Estes fatores podem não atuar isoladamente, mas apresentar correlações entre si (MORAIS, 2009). Ou seja, os metabólitos secundários são resultantes de uma interface química entre a planta e o ambiente. A rota metabólica pode ser redirecionada, devido aos estímulos decorrentes do ambiente no qual a planta se encontra, ocasionando a biossíntese de diferentes compostos.

As pressões de seleção variam em ambientes distintos. Dessa forma, um genótipo que proporcione valor adaptativo superior em um determinado ambiente pode determinar uma menor adaptação em relação a outro ambiente (KASSEN & BELL, 2000).

As Figuras 3 e 4 apresentam o número de massas ovíferas liberadas pelos moluscos sobreviventes aos bioensaios com os extratos SLFAQ – UFRRJ e SLFAQ – Três Marias, respectivamente, durante 90 dias de observação. Estes resultados quando

analisados estatisticamente, não apresentaram diferença significativa entre si.

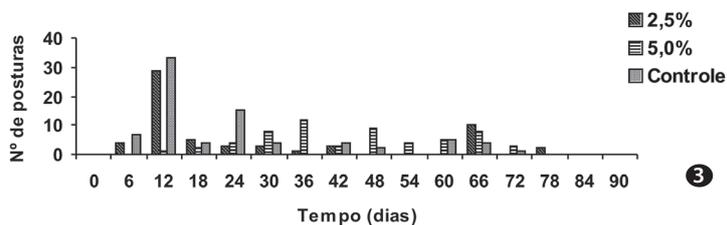


Figura 3 Número de massas ovíferas liberadas por espécimes de *Biomphalaria glabrata* sobreviventes à exposição ao extrato SLFAQ – UFRRJ (*Solanum lycocarpum*, folha, aquoso) ao longo de 90 dias. Procedência: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

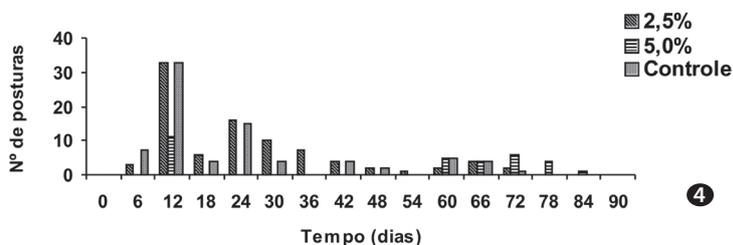


Figura 4 Número de massas ovíferas liberadas realizadas por espécimes de *Biomphalaria glabrata* sobreviventes à exposição ao extrato SLFAQ – Três Marias (*Solanum lycocarpum*, folha, aquoso) ao longo de 90 dias. Procedência: Estação Ecológica Pirapitinga, Três Marias, MG.

CONCLUSÕES

Os extratos aquosos das folhas de *S. lycocarpum* das duas localidades analisadas na concentração de 10 % apresentaram forte potencial moluscicida nas primeiras 24 horas de observação. Os extratos aquosos das folhas de *S. lycocarpum* das duas localidades analisadas exerceram influência a longo prazo sobre a taxa de sobrevivência dos moluscos. Dessa forma, é recomendável a inclusão nos protocolos para testes de atividade moluscicida de extratos de origem vegetal a observação dos moluscos sobreviventes aos bioensaios.

Em virtude do pouco conhecimento, ainda existente, a respeito da composição química e dos estudos farmacodinâmicos de espécies de *Solanum*, torna-se cada vez mais necessária a realização de ensaios biológicos que permitam avaliar a atividade moluscicida de diferentes extratos seja aquosos ou orgânicos.

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Malacologia da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ, RJ) pelos espécimes de *Biomphalaria glabrata* linhagem BH (Belo Horizonte, MG), que foram utilizados para iniciar a colônia no Laboratório de Biologia e Ecologia de Helminhos do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Ao Acordo de Cooperação Técnico-científico UFRRJ/IBAMA-MG pelo apoio logístico e material biológico. Ao apoio financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). Ao Biólogo Tiago de Azevedo Amorim, Técnico em Herbário, do Departamento de Botânica, pela identificação da planta e aos funcionários Joel Figueira do Departamento de Botânica e Valmir Feitosa do Departamento de Biologia Animal, ambos os Departamentos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, pelo auxílio na coleta da planta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, C.C.F.; AVES, J.M.; SILVA, T.M.S.; CARVALHO, M.G. & NETO, J.J. 2003. Atividade alelopática de alcalóides glicosilados de *Solanum crinitum* Lam. **Floresta e Ambiente** 10 (1): 93-97.
- ATTA-UR-RAHMAN & CHOUDHARY, M.I. 1998. Chemistry and Biology of Setorial Alkaloids, pp.61-107. In: CORDELL, G. A. (ed.). **The alkaloids**. Vol 50. San Diego, Academic

- Press.
- DALL'AGNOL, R. & VON-POSER, G.L. 2000. The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethnopharmacology** **71** (1-2): 337-341.
- GALLOWAY, L.F. & FENSTER, C.B. 2000. Population differentiation in an annual legume: local adaptation. **Evolution** **54** (4): 1173-1181.
- KASSEN, R. & BELL, G. 2000. The ecology and genetics of fitness in *Chlamydomonas*. X. The relationship between genetic correlation and genetic distance. **Evolution** **54** (2): 425-432.
- KLOOS, H. & MCCULLOUGH, F.S. 1982. Plant Molluscicides. **Planta Medica** **46** (12): 195-209.
- LORENZI, H. 1999. **Árvores Brasileiras. Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil**. Vol 2. Nova Odessa, Plantarum. 354p.
- MARSTON, A. & HOSTETTMAN, K. 1991. Assays for molluscicidal cercaricidal, schistotomicidal and piscicidal activities, pp.53-178. In: DEY, P. M. & HARBONE, J. B. (eds). **Methods in plants biochemistry**. Vol 6. London, Academic Press.
- MORAIS, L.A.S. 2009. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira** **27** (2) Supl. CD-ROM: S4050-S4063.
- PRISTA, L.N.; ALVES, A.C. & MORGADO, R.M.R. 1990. **Técnicas farmacêuticas e farmácia galênica**. Vol 2. Lisboa, Fundação Calouste Gulbekian. 518p.
- SANTOS, M.O.; COELHO, A.D.F.; MONTANARI, R.M.; PINTO, E.S. & VICCINI, L. F. 2002. Variabilidade genética entre populações de lobeira (*Solanum lycocarpum* St. HIL.). **Floresta e Ambiente** **9** (1): 158-164.
- SILVA, T.M.S.; CAMARA, C.A.; AGRA, M.F.; CARVALHO, M.G.; FRANA, M.T.; BRANDOLINI, S.V.P.B.; PASCHOAL, L.S. & BRAZ-FILHO, R. 2006. Molluscicidal activity on *Solanum* species of the Northeast of Brazil on *Biomphalaria glabrata*. **Fitoterapia** **77** (6): 449-452.
- SILVA, T.M.S. 2002. **Estudo Químico de Espécies de Solanum**. Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 300p.
- WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. 1993. The control of Schistosomiasis: Second Report of the Who Expert Committee, World Health Organization, Geneva. **Who Technical Report Series**. N. 830, 86p.

Recebido: 13/05/2010

Revisado: 27/04/2010

Aceito: 01/06/2010

