

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO EPITÉLIO DE REVESTIMENTO DO FILAMENTO BRANQUIAL DO GUARU (*Poecilia vivipara*) EXPOSTO A FRAÇÕES DO EXTRATO DA FOLHA E CASCA DO CAULE DE PEQUI (*Caryocar brasiliensis*)

Luciana Damacena Silva*
Eliane Vieira Rosa*
Suzana Costa Santos**
Simone Maria Teixeira de Sabóia-Morais*

SILVA, L. D.; ROSA, E. V.; SANTOS, S. C.; SABÓIA - MORAIS, S. M. Análise morfométrica do epitélio de revestimento do filamento branquial do guaru (*Poecilia vivipara*) exposto a frações do extrato da folha e casca do caule de pequi (*Caryocar brasiliensis*) Arq. Ciênc. Saúde Unipar, 6 (3): 101-106, 2002.

RESUMO: O Cerrado brasileiro tem sido um dos domínios ecológicos mais explorado cientificamente nos dias atuais e na última década. Estudos recentes têm proposto o uso de extrato da folha e casca do caule de *C. brasiliensis* (pequi) como agente moluscicida, no intuito de combater o hospedeiro intermediário (*Biomphalaria glabrata*) do parasito causador da esquistossomose: *Schistosoma mansoni*. Como este molusco sempre está próximo a mananciais de água, questiona-se o impacto deste produto sobre a fauna aquática. Neste sentido, utilizamos a brânquia do peixe eurialino *Poecilia vivipara* (guaru), já bastante utilizado como bioindicador de poluição aquática, para testar a toxicidade de frações de extratos da folha e casca de caule de pequi. Um conjunto de 30 guarus adultos arranjados em 5 grupos experimentais foram expostos a frações aquosa, acetato de etila e etérea da folha e frações aquosa e acetato de etila da casca de caule de pequi, durante 24 horas. Mensurou-se a área e o perímetro dos filamentos branquiais nas regiões: basal, intermediária e apical. As análises estatísticas demonstraram que a área dos grupos experimentais não difere do controle. Porém, o perímetro das regiões basal e intermediária se diferenciaram significativamente do controle o que, todavia, não promoveu o comprometimento das atividades fisiológicas da brânquia. Assim, sugere-se que nas concentrações de 20 ppm, os extratos testados possam ser utilizados como moluscicidas em mananciais aquáticos, excetuando-se a fração aquosa da folha por ser letal nesta concentração.

PALAVRAS-CHAVES: brânquia; *Caryocar brasiliensis*; moluscicida; morfometria; toxicidade.

MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE LINING EPITHELIUM OF THE GILL FILAMENT OF "GUARU" (*Poecilia vivipara*) EXPOSED TO FRACTIONS OF LEAF AND BARK EXTRACTS OF PEQUI (*Caryocar brasiliensis*)

SILVA, L. D.; ROSA, E. V.; SANTOS, S. C.; SABÓIA - MORAIS, S. M.; Morphometric analysis of the lining epithelium of the gill filament of "Guaru" (*Poecilia vivipora*) exposed to fractions of leaf and bark extracts of pequi (*Caryocar brasiliensis*). Arq. Ciênc. Saúde Unipar, 6 (3): 101-106, 2002.

ABSTRACT: In the last years, the Brazilian Cerrado has been one of the ecological sites most scientifically explored. Recent studies have proposed the use of the leaf and bark extracts of *C. brasiliensis* (pequi) as a mollusk-killing agent with the purpose of fighting the intermediary host (*Biomphalaria glabrata*) of the parasite responsible for schistosomiasis; *Schistosoma mansoni*. As this mollusk is always near water sources, the impact of this product on freshwater animals is being questioned. In this sense, we used the gill of the euryhaline fish *Poecilia vivipara* (guaru), already widely used as a bioindicative of water pollution, to test the toxicity of fractions of leaf and bark extracts of pequi. A sample of 30 adult guarus composing five experimental groups were exposed to aqueous, ethyl-acetate and ethereal fractions of the leaf and to the aqueous and ethyl-acetate fractions of the bark of the pequi, during 24 hours. The area and the perimeter of the gill filaments in the basal, intermediate and apical regions were measured. Statistical analyses demonstrated that the area of the experimental groups did not differ from the control. However, the perimeter of the basal and intermediate regions differed significantly from the control, although not impairing the physiologic activities of the gill. Thus, it is suggested that in concentrations of 20 ppm, the extracts tested can be used as mollusk-killers in water sources, with the exception of the aqueous fraction of the leaf.

KEY WORDS: *Caryocar brasiliensis*; gill; mollusk-killer; morphometry; toxicity.

Introdução

Considerado como o segundo maior domínio ecológico do Brasil (VIEIRA & MARTINS, 1998), o Cerrado tem sido visto como um ambiente promissor para o

desenvolvimento científico e tecnológico do país (BEZERRA *et al*, 2002; ALMEIDA *et al*, 1998; VIEIRA & MARTINS, 1998; CARNEIRO *et al*, 1999; COSTA *et al*, 2000; PASSOS *et al*, 2002).

*Laboratório de Comportamento Celular - ICB - Universidade Federal de Goiás

**Laboratório de Produtos Naturais - IQ - Universidade Federal de Goiás

Endereço: Professora Drª Simone Maria Teixeira Sabóia-Morais, Universidade Federal de Goiás, Campus II ICB I Caixa Postal 131, 74001-970 Goiânia-GO

Entre o imenso número de espécies que compõe o revestimento florístico do Cerrado brasileiro encontra-se o pequi, *Caryocar brasiliensis* (BARRADAS, 1971; BARRADAS, 1972). Este vegetal é uma árvore que pode até ultrapassar 10 m de altura, além disso é ramificada, apresentando tronco e galhos retorcidos e casca espessa, fretada de cor cinza escura (SOUZA, 1954).

Vários estudos têm mostrado aplicações de pequi para o homem como alimentação, fabricação de licores, doces e sabões caseiros, além de seu uso na medicina popular contra afecções do couro cabeludo, dores reumáticas, moléstias bronco-pulmonares, ação analéptica e fortificante (LISBOA, 1931; SILVA, 1939; HIDLTCH, 1941; JOLY, 1970; HELOU, *et al*, 1975). As folhas possuem tanino e fornecem um produto tintorial para tecido de algodão (SILVA, 1939; MEARA, 1947) e são também utilizadas como regulador do fluxo cateminal na medicina popular (LISBOA, 1931; OLIVEIRA *et al*, 1970). O infuso da casca da árvore tem uso na medicina popular como antitérmico e diurético, aconselhado no tratamento das febres intermitentes (SILVA, 1939).

Entre outras aplicações verificou-se a ação moluscicida de extratos da folha e casca do caule de pequi e observou-se que o contato direto do molusco *Biomphalaria glabrata* com os extratos, a partir de 12 horas de exposição, provocou mortalidade de 90% na concentração de 100 ppm. O objetivo deste estudo foi propor a utilização de extratos de pequi para combater o molusco que atua como hospedeiro intermediário do parasito *Schistosoma mansoni*, causador da esquistossomose (BEZERRA *et al*, 2002). Como o nicho ecológico deste molusco está sempre associado a mananciais de água (BOFFI, 1979), questiona-se sobre o impacto ambiental do uso deste moluscicida sobre a flora e a fauna aquática.

Outras espécies do gênero *Caryocar*, presentes no noroeste brasileiro e na Colômbia, vêm sendo testadas para atividades icthiotóxicas, inseticidas, herbicidas, etc. (KAWANISH *et al*, 1986).

No intuito de averiguar a toxicidade de substâncias para células animais de ambientes aquáticos, o peixe eurialino *Poecilia vivipara* (guaru) tem sido utilizado em diversos estudos (ARAÚJO *et al*, 1997; SOUZA *et al*, 1999; SABÓIA-MORAIS *et al*, 1999; ARAÚJO *et al*, 1999; ARAÚJO *et al*, 2001). A brânquia deste peixe, devido à sua constante interação com a água, modula-se morfo e funcionalmente às alterações do meio externo, na intensão de manter a homeostasia do animal (ARAÚJO *et al*, 1997; SOUZA *et al*, 1999; SABÓIA-MORAIS *et al*, 1999; ARAÚJO *et al*, 1999; ARAÚJO, 2001). Dessa forma, propomos utilizar a brânquia de guarus como bioindicador de toxicidade para diferentes frações do extrato da folha e da casca do caule de pequi sugeridas como moluscicidas.

Material e Método

Utilizou-se trinta peixes, de ambos os sexos, adultos, pertencentes à ordem Cyprinodontiforme, família Poeciliidae e espécie *Poecilia vivipara*, os animais foram coletados em uma chácara próxima à cidade de Goiânia - Go (S16° 34' 24"/ W48° 56' 17"; 769m) e transportado em caixa de isopor com capacidade para 14 litros de água para o Laboratório de Comportamento Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, onde os peixes foram readaptados em água mineral e destilada na proporção 1:1, e foram mantidos de acordo com as normas de conduta ética em

experimentação animal (BRASIL, 1979). Os espécimes foram submetidos à exposição de frações aquosa, acetato de etila e etérea da folha e a frações aquosa e acetato de etila da casca do caule para teste de toxicidade sobre peixes. Os animais foram divididos em seis grupos:

- Grupo 1: 5 animais que permaneceram em condições físico-químicas padrões para o cultivo da espécie (Pires, 2002);
- Grupo 2: 5 animais expostos à fração aquosa da folha de pequi (*Caryocar brasiliensis*) a 20 ppm;
- Grupo 3: 5 animais expostos à fração acetato de etila da folha de pequi a 20 ppm;
- Grupo 4: 5 animais expostos à fração etérea da folha de pequi a 20 ppm;
- Grupo 5: 5 animais expostos à fração aquosa da casca do caule de pequi a 20 ppm;
- Grupo 6: 5 animais expostos à fração acetato de etila da casca do caule de pequi a 20 ppm.

O material botânico foi coletado na cidade de Goiânia (GO), (S16° 34' 24"/ W48° 56' 17"; 769m) em 2000. As frações utilizadas foram obtidas no Laboratório de Produtos Naturais do Instituto de Química da Universidade Federal de Goiás. Para tanto, as folhas foram expostas à temperatura ambiente por 2 a 3 dias para secar, enquanto que a casca do caule foi colocada para secar em estufa a 40°C com ventilação forçada e a moagem do material botânico foi efetuada em moinho de faca com granulação definida. Na sequência, sofreram percolação a frio em etanol 96%, sob agitação. Filtração do sobrenadante e evaporação do solvente à pressão reduzida, conduziu ao extrato bruto etanólico. Parte do extrato bruto foi diluído em água destilada, no funil de separação, e acrescentou-se éter etílico resultando em uma proporção 1:1. Separação por polaridade, conduziu à fração etérea, enquanto que a porção aquosa, livre de graxas e clorofilas, foi transferida para outro funil de separação e acrescentou-se aceto de etila (1:1), o que resultou na fração acetato de etila. As frações, etérea, acetato e aquosa, foram evaporadas, submetidas ao congelamento e, finalmente liofilizadas.

Após a exposição de todos os animais durante 24h às frações do extrato de pequi, os mesmos foram decapitados e os arcos branquiais de cada animal foram dissecados e fixados em solução McDowell (solução de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M pH 7,2 adicionada de glutaraldeído a 1%) (BRANCROFT & STEVENS, 1982) durante 2 horas. Todas as peças anatômicas coletadas foram desidratadas e incluídas em historresina (Leica, LKB 2218). Cortes de 4µm foram corados com azul de toluidina a 1%.

Imagens de 15 filamentos branquiais de cada espécime foram capturadas por uma câmera de vídeo acoplada a um microscópio Leica. Devido ao grande comprimento dos filamentos branquiais, os mesmos foram divididos em três regiões distintas: basal, intermediária e apical (Figura 1), perfazendo um total de 45 imagens para cada animal. Desta forma, para cada grupo testado foi obtido 45 (imagens) x 5 (animais), portanto 225 imagens por grupo. Uma vez que o experimento contou com seis grupos no total, foram obtidas e analisadas 1.350 imagens. De cada campo capturado, com área total de 7.405 µm², foram determinados a área e o perímetro das regiões supracitadas dos filamentos branquiais, através de morfometria feita em um analisador de imagens (IMAGELAB

versão 2.3). Estes dados foram analisados quantitativamente utilizando os testes estatísticos: Análise de Variância (ANOVA)

e o teste de comparação de médias de Ducan ($P < 0,05$), através o programa computacional Mstact (FRED, 1990).

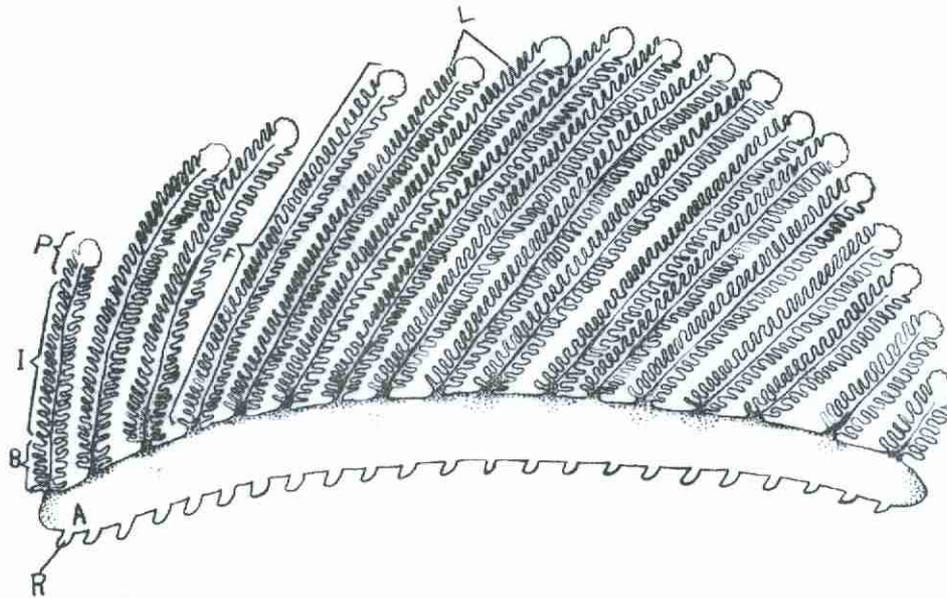


Figura 1 - Esquema evidenciando o arco branquial do guará (*Poecilia vivipara*). Observar rastelo (R); arco (A) dos filamentos branquiais, onde são definidas as regiões: basal (B), intermediária (I) e apical (P) dos filamentos branquiais (F); ao longo dos filamentos são encontradas projeções curtas, lamelas branquiais (L) 15x

Resultados

A média da área e do perímetro das regiões basal, intermediária e apical dos filamentos branquiais utilizados neste experimento, bem como o resultado da análise estatística, estão apresentados nas Tabelas 1 e 2.

Dos 5 animais expostos em cada grupo, todos sobreviveram durante a exposição às frações dos extratos nas 24 horas testadas. Exceto, os animais expostos à fração aquosa da folha (grupo 2), onde se constatou a mortalidade de quase todos os espécimes (80%) antes das 24 horas. Paulatinamente, os animais tornaram-se lentos, ficando estáticos após cerca de 12 horas de exposição, culminando em óbito. Para fim de controle da eficácia do experimento, cada grupo foi testado quatro vezes.

Os filamentos branquiais, bem como suas lamelas na região intermediária, permaneceram íntegros no grupo controle (grupo 1). Observou-se um estreito epitélio na região lamelar, constituído de células pavimentosas, e células do cloro na região interlamelar e na base das lamelas (Figura 2-A). Analisando a região supracitada de filamentos branquiais expostos à fração aquosa da folha (grupo 2), verificou-se frequentes vasodilatações no filamento branquial (Figura 2-B). Já na região intermediária de animais expostos à fração acetato de etila da casca (grupo 6), observou-se lamelas branquiais irregulares, com frequentes vasodilatações. Estas

lamelas estavam revestidas por epitélio simples pavimentoso, verificando-se também células do cloro na região interlamelar e base das lamelas (Figura 2-C).

A média da área nas regiões apical, intermediária e basal dos filamentos branquiais expostos às frações da folha (aquosa, acetato de etila e etérea) ou da casca do caule (aquosa e acetato de etila), não apresentaram diferenças significativas quando comparadas ao grupo controle.

Discussão

A busca de soluções para o controle de doenças tropicais que acometem o homem e outras espécies animais tem sido preocupação de vários autores (EL-SAWY *et al*, 1981; MENDES *et al*, 1984; ARCHIBALD, 1993; AMARAL & PORTO, 1994; HASLAM, 1996; BEZERRA *et al*, 1997; BRACKEMBURY *et al*, 1997; BRACKEMBURY & APPLETON, 1997), sendo que muitos deles têm buscado o controle da esquistossomose através do combate ao seu hospedeiro intermediário, o molusco *Biomphalaria glabrata* que, de acordo com a revisão da literatura, tem-se mostrado resistente a várias formas de combate (CHIFUNDERA *et al*, 1993). Considerando que o nicho ecológico do molusco está sempre associado a mananciais de água (BOFFI, 1979), inclusive nas zonas endêmicas desta moléstia, há que se ter o cuidado de preservar a fauna ao combater o animal. Neste sentido, vale

Tabela 1 - Média da área (μm^2) de três regiões do filamento branquial de guará (*Poecilia vivipara*) expostos a frações da folha ou casca do caule de pequi (*Caryocar brasiliensis*).

Região	Grupo Controle	Grupo Experimental				
		Folha			Casca	
		Aquosa	Acetato de etila	Etérea	Aquosa	Acetato de etila
Apical	4661,0	5897,86 ^a	5784,78 ^a	5523,72 ^a	5154,62 ^a	5929,62 ^a
Intermediária	4664,85	5355,98 ^b	5285,54 ^b	5600,81 ^b	5164,51 ^b	6059,40 ^b
Basal	5479,89	4715,53 ^c	5384,35 ^c	5163,09 ^c	5211,62 ^c	5506,55 ^c

Médias seguidas de letras diferentes numa mesma linha diferem estatisticamente do controle para um nível de significância de 5%

Tabela 2 - Média do perímetro (μm) de três regiões do filamento branquial de guaru (*Poecilia vivipara*) expostos a frações da folha ou casca do caule de pequi (*Caryocar brasiliensis*).

Médias seguidas de asterisco (*) numa mesma linha diferem estatisticamente do grupo controle para um nível de significância de 5%.

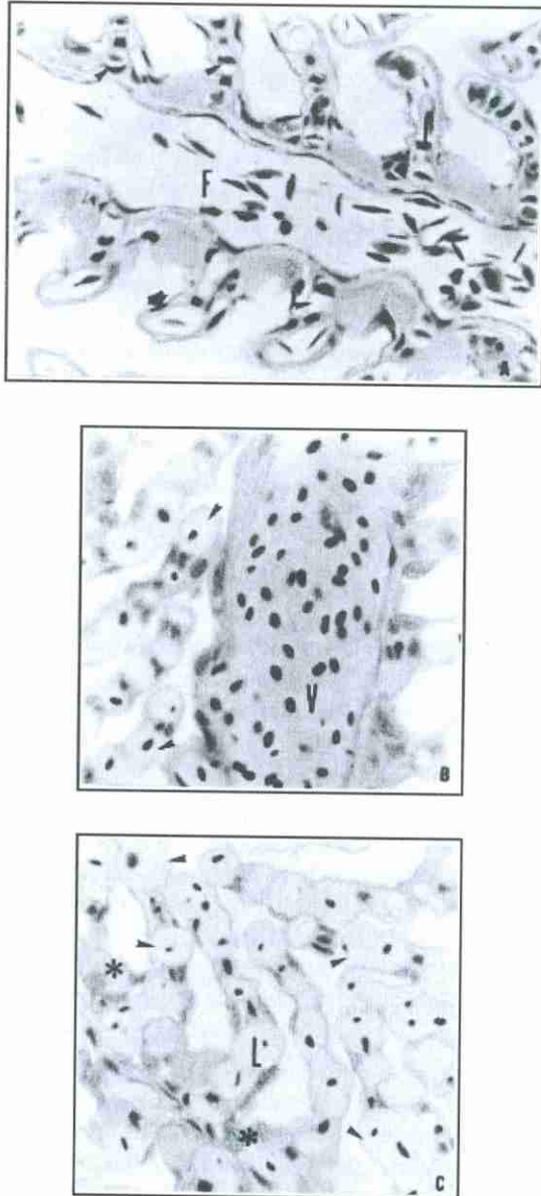


Figura 2 - Fotomicrografias dos filamentos branquiais evidenciando epitélio branquial. em A) Região intermediária do grupo 1 (controle). Observar filamento (F), lamelas (L) revestidas por células pavimentosas (seta), capilares com calibre normal (cabeça de seta) 350X. B) Região intermediária do grupo 2 (fração aquosa da folha). Observar vasodilatação (V) no filamento branquial e capilares com calibre alterado (cabeça de seta) 350X. C) Região intermediária do grupo 6 (fração acetato de etila da casca). Observar lamelas (L) irregulares com frequente vasodilatações (cabeça de seta). As células do cloro (*) permaneceram no epitélio interlamelar e base da lamelas. Azul de toluidina a 1%. 350X.

considerar que o uso de um eficiente moluscicida deve ser não só capaz de levar uma alta taxa de *B. glabrata* à mortalidade, mas também conservar a homeostasia da fauna aquática. LIU *et al.* (1997) e HECKER (1981, 1985) sugeriram não usar moluscicidas em casos duvidosos para não ocorrer o risco de danos ao equilíbrio ambiental. BEZERRA *et al.*, (2002) avaliou a ação moluscicida de extratos da folha e da casca do caule de pequi (*Caryocar brasiliensis*). No seu estudo, observou-se que estes extratos a 200 ppm causaram 100% de morte de *B. glabrata*; a 100 ppm causaram 90% de mortalidade e a 50 ppm observou-se apenas 20% de indivíduos mortos. No intuito de avaliar a toxicidade destes extratos em peixes, CARNEIRO (2002) utilizou as brânquias de guaru (*Poecilia vivipara*), porém, a uma concentração menor do que a utilizada por BEZERRA *et al.*, (2002), mais precisamente a 20 ppm, pois esta é a concentração recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para liberação de substâncias em mananciais (OMS, 1978).

Através de análise morfométrica foi possível verificar que a área do epitélio de revestimento branquial assim como as células mucosas expostas ao extrato bruto da casca do caule, não apresentaram alterações significativas quando comparadas ao controle, enquanto que, os animais expostos ao extrato bruto da folha apresentaram uma redução da área do epitélio de revestimento branquial e também na densidade numérica das células do cloro, presente neste epitélio (CARNEIRO, 2002).

Em nossos estudos, os espécimes submetidos a frações de extratos da folha e casca do caule não apresentaram alterações significativas na área do epitélio de revestimento branquial das três regiões analisadas, mesmo sendo teoricamente, agredida por estas frações. Isto pode significar que estas substâncias desencadearam alterações do comportamento celular do epitélio de revestimento, sem, contudo, alterar significativamente a atividade destes tecidos. Ou ainda que após o fracionamento substâncias tóxicas ou de efeitos sinérgicos dos princípios bioativos foram perdidos e, por isso a ação efetiva tenha diminuído a toxicidade das frações. Portanto, exceto a fração aquosa da folha a qual demonstrou ser tóxica aos guarus, todas as outras poderiam estar sendo utilizadas como efetivo combatedor da esquistossomose, sem, no entanto, ser agente de mortalidade do objeto deste estudo. Assim como o molusco participante do ciclo de vida do *Schistosoma mansoni* (BEZERRA *et al.*, 2002) não foi afetado, pois a concentração de 20 ppm é pouco expressiva como moluscicida, a média da área das regiões basal, intermediária e apical dos filamentos branquiais do guaru não se alteraram em relação ao controle.

Analisando a média do perímetro nas regiões do epitélio de revestimento branquial, verificou-se valores

estatisticamente significativos quando se comparou o grupo controle com as frações: etérea da folha, aquosa e acetato de etila da casca do caule, na região intermediária. O perímetro do epitélio de revestimento sofreu aumento sobre ação destas frações. Na região basal apenas a fração aquosa da folha diferiu do controle, apresentando redução no perímetro desta região, já a região apical não sofreu alteração em relação ao grupo controle conforme demonstrado na Tabela 2. As modificações ocorridas na região basal e intermediária, e leva-se a sugerir que, provavelmente, o animal buscou uma compensação morfofisiológica na tentativa de combater a agressão ambiental.

Isto significa que, mesmo não causando mortalidade ou morbidade dos peixes, estas frações provocaram durante o tempo de exposição, alterações na morfologia das regiões basal e intermediária do epitélio de revestimento branquial como resposta a modificações físico-químicas do meio externo.

A alteração da morfologia branquial frente a agentes ambientais tem sido relatada quando guarus são expostos a salinidade, metais pesados e detergentes, o que demonstra a eficácia da resposta celular às condições adversas do meio, sugerindo grande capacidade adaptativa, elegendo estes animais como um excelente modelo biológico para o estudo do efeito das variações ambientais sobre o organismo dos peixes (SABÓIA-MORAIS *et al*, 1996, ARAÚJO *et al*, 1997; SOUZA *et al*, 1999; SABÓIA-MORAIS *et al*, 1999; ARAÚJO *et al*, 2001).

Embora autores comentem sobre o uso de extratos de plantas, em concentrações semelhantes à utilizada neste estudo, para combater moluscos (MENDES *et al*, 1984; CHIFUNDERA, 1993; HASLAM, 1996), os dados obtidos no presente trabalho poderão servir de parâmetros para acompanhamento de bioatividade de plantas do Cerrado, tendo como base o peixe *Poecilia vivipara*. Extratos etanólicos de algumas espécies de plantas têm sido testados, apresentando toxicidade para peixes e para alguns insetos aquáticos (KAWANISHI, 1986; CHIFUNDERA, 1993). Dados morfométricos teciduais foram apresentados por HUGHES & PERRY (1975) para comparar a capacidade de difusão das brânquias de peixes do grupo controle com as de peixes tratados com águas poluídas, pois, de acordo com esses autores a distância de difusão entre a água e o sangue são medidas juntamente com determinações da área branquial. Estes parâmetros indicam que a resposta de base celular obtida pela exposição aos extratos refletiria em adaptações fisiológicas que mantivessem as condições de homeostase para o animal, mesmo que no caso de exposição às frações houvesse alteração da distância de difusão, o que de fato não houve.

CARNEIRO (2002) relata que guarus expostos ao extrato bruto da folha de pequi a 20ppm por 24h, não apresentaram nenhum sinal de morbidade ou letalidade. Diante da taxa de mortalidade causada pela fração aquosa da folha de *C. brasiliensis*, acredita-se que quando o material botânico passa por processo de fracionamento por polaridade, as substâncias concentram-se em um dos dois solventes utilizados, pelo qual demonstram afinidade, neste caso a água, e quando diluída nos tanques experimentais essas substâncias foram tóxica aos animais.

Conclusão

Frações acetato de etila e etérea da folha de pequi (*Caryocar brasiliensis*), e frações aquosa e acetato de etila da

casca do caule de pequi, utilizadas a 20 ppm, podem ser usadas no intuito de combater o hospedeiro intermediário do verme causador da esquistossomose, *Schistosoma mansoni*, sem comprometimento fisiológico à brânquia do peixe *Poecilia vivipara*, guaru.

A fração aquosa da folha do pequi, *Caryocar brasiliensis* a 20 ppm causou mortalidade de organismos aquáticos (*Poecilia vivipara*), a partir da décima segunda hora de exposição, não sendo recomendado seu uso como agente moluscicida.

Agradecimentos

Este trabalho é produto final de dissertação de mestrado da autora Luciana Damascena Silva, sobre a orientação da Profª. Drª. Simone M. T. Sabóia-Moraes e como colaboradores: Eliane Vieira Rosa, Suzana Costa Santos. Foi defendida junto ao Programa de Mestrado em Biologia – Área de concentração Morfologia – ICB – UFG. Agradecemos pelos recursos financeiros e apoio dados pela CAPES, FUNAPE e CNPq.

Referências

- ALMEIDA, S.P.A. *et al*. Cerrado: espécies vegetais úteis. Planaltina: EMBRAPA/CPAC, 1998, 52p.
- AMARAL, R.S.; PORTO, M.A.S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 27: 73-90, 1994.
- ARAÚJO, E.J.A. *et al*. Efeitos de poluentes químicos cumulativos e mutagênicos durante o desenvolvimento ontogênico de *Poecilia vivipara* (Cyprinodontiformes, Poeciliidae). Acta Scientiarum, 23: 391-399, 2001.
- ARAÚJO, E.J.A. *et al*. Toxic action of heavy metals on the branchial epithelium of guppies (*Poecilia vivipara*). In: XVII CONGRESS OF THE BRAZILIAN SOCIETY FOR MICROSCOPY AND MICROANALYSIS. Santos- SP, 1999. Acta Microscópica, 8(B): 355-356, 1999. Resumo.
- ARAÚJO, E.J.A. *et al*. Effects so irritants agents on surface ultrastructure of gill rays and a filaments of guppy (*Poecilia vivipara*). In: XVI CONGRESS OF THE BRAZILIAN SOCIETY FOR MICROSCOPY AND MICROANALYSIS, Caxambú-MG, 1997. Acta Microscópica, 6(B): 700-701, 1997. Resumo.
- ARCHIBALD, R.J. The use of the fruit of the tree *Balanites aegyptiaca* in the control of schistosomiasis in the Sudan. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 27: 207-211, 1993.
- BARRADAS, M.M. Estrutura do fruto e da semente do piqui *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae). São Paulo: USP, 1971. 61p. Dissertação (Mestrado em Fitopatologia), Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, 1971.
- BARRADAS, M.M. Informação sobre fibração, frutificação e dispersão do piqui *Caryocar brasiliensis* Camb. (Caryocaraceae). Cienc. Cult., 24: 1003-1008, 1972.
- BEZERRA, J.C.B. *et al*. Comparative study of the organic acid content of the hemolymph of *Schistosoma mansoni* resistant and susceptible strain of *Biomphalaria glabrata*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz., 92: 421-425, 1997.
- BEZERRA, J.C.B. *et al*. Molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian Cerrado medicinal plants. Rev. Fitoterapia., 73 (5): 428-430, 2002.

- BOFFI, A.V. Moluscos brasileiros de interesse médico e econômico. São Paulo: Hucitec, 1979. 182p.
- BRACKEMBURY, T.D.; APPLINGTON, C.C. A comprehensive evaluation of *Apodytes dimidiata*, a candidate plant molluscicide in South Africa. *Acta Trop.*, 68: 201-213, 1997.
- BRACKEMBURY, T.D. *et al* Mamal toxicity assessment of the plant molluscicide, *Apodytes dimidiata* (Icacinaceae) In South Africa. *Acta Trop.*, 65: 155-162, 1997.
- BRANCKOFT, J.D.; STEVENS, A. Theory and practice of histological techniques. London: Churchill Livingstone, 1982. 98p.
- BRASIL Normas para a prática didático - científica da viviseção de animais e determinação de outras providências. In: Lei n. 6.638, 8 de maio de 1979. LEX, 43, 1979.
- CARNEIRO, C.E.A. *et al* Avaliação da toxicidade de plantas do Cerrado sobre peixes bioindicadores. In: XXXIX Congresso Brasileiro de Química, 1999, Goiânia-GO: Sociedade Brasileira de Química. Anais... Goiânia- GO, 1999. p. 119.
- CARNEIRO, C.E.A. Efeitos de extratos de plantas do Cerrado com comprovada ação moluscicida testados em peixes (*Poecilia vivipara*) para diagnosticar suas ações e as respostas celulares. Goiânia: UFG. 2002. 95p. Dissertação (Mestrado em Biologia), Instituto de Ciências Biológicas – Universidade Federal de Goiás, 2002.
- CHIFUNDERA, K.; BALUKU, B.; MASHIMANGO, B. Phytochemical screening and molluscicidal potency of some zairean medicinal plants. *Pharmacological research.*, 28: 8-12, 1993.
- COSTA, T.R. *et al* Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *J. Ethnopharm.*, 72: 111-117, 2000.
- EL-SAWY, M.F.; BASSOUNY, K.; MAGDOUB, A.I. Biological combat of schistosomiasis: *Ambrosia maritima* (damsissa) for snail control. *J. Egypt. Soc.Parasitol.*, 11: 99-117, 1981.
- FRED, R.D. Mstact. Crop and soil sciences departament. Version 2.10. Michigan: State University, 1990.
- HASLAM, E. Natural polyphenols (Vegetable Tannins) as drugs and medicines: possible modes of action. *J. Nat. Prod.*, 59: 205-208, 1996.
- HECKER, E. Cocarcinogenesis and tumour promoters of the diterpene ester type as possible carcinogenic risk factors. *J. Cancer Research Clinical Oncology.*, 99: 103-124, 1981.
- HECKER, E. Cell membrane associated protein Kinase C as receptor of diterpene ester co-ester carcinogens of the tumour promoter type and the phenotypic expression of tumours. *Arzneimittel - Forschung.*, 35: 1890-1903, 1985.
- HELOU, J.H. *et al* Farmacotécnica. São Paulo: Artpress, 1975. 293p.
- HILDLTCH, T.P. The chemical constitution of natural fats. New York: John Wiley, 1941. 137p.
- HUGHES, G.M.; PERRY, S.F. Morfometric study of trout gills: a light-microscopic method suitable for the evaluation of pollutant action. *J. Exp. Biol.*, 64: 447-460, 1975.
- JOLY, A.B. Conheça a vegetação brasileira. São Paulo: Polígono, 1970. 42p.
- KAWANISHI, K.; RAFFALF, R.F.; SCHULTES, R.E. The Caryocaraceae as a source of fish poisons in the northwest Amazon. *Bot. Mus. Leafl.*, 30: 247-253, 1986.
- LISBOA, A.O. O pequizeiro. *Bol. Agric. Zootecn. Vet.*, 4: 51-55, 1931.
- LIU, S.Y. *et al* Anthraquinones in *Rheum palmatum* and *Rumex dentatus* (Polygonaceae), and phorbol esters in *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) with molluscicidal activity against the schistosome vector snail *Oncomelania*, *Biomphalaria*, and *Bulinus*. *Trop. Med. and Intern. Health.*, 2: 179-188, 1997.
- MEARA, M.L. The configuration of naturally occurring mixed glycerides. Part III. The configuration of the major component glycerides of Pequi-á fruit – coat fat. *J. Chem. Soc.*, 5: 773-775, 1947.
- MENDES, N.M. *et al* Ensaios preliminares em laboratório para verificar a ação moluscicida de algumas espécies da flora brasileira. *Rev. Saúde Públ.*, 18: 348-354, 1984.
- OLIVEIRA, M.M. *et al* *Caryocar brasiliensis* – Isolamento e identificação de algumas substâncias: atividade biológica sobre o Sarcoma 180. *Arq. Inst. Biol.*, 37: 25-26, 1970.
- OMS. World Health Organization. Principles and methods for evaluating the toxicity for chemicals. Geneva: WHO Publication, v.6. 1978. 200p.
- PASSOS, X.P. *et al* Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (Caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. *Rev. da Soc. Bras. de Med. Tropical* (no prelo), 2002.
- PIRES, D.R. Estudo citotóxico do fígado e do intestino do guará (*Poecilia vivipara*) frente ao extrato de plantas do Cerrado de Goiás. Goiânia: UFG, 2002. 112p. Monografia (Graduação em Biomedicina), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás. 2002.
- SABÓIA-MORAIS, S.M.T. *et al* Evaluation of the effect of extracts of Cerrado plants of gill cells of guppies (*Poecilia vivipara*) used as biomonitors. In: XVII CONGRESS OF THE BRAZILIAN SOCIETY FOR MICROSCOPY AND MICROANALYSIS, Santos-SP, 1999. *Acta Microscópica*, 8(B): 357-358, 1999. Resumo.
- SILVA, R.D. O pequi. Contribuição ao conhecimento das plantas úteis do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMÁCIA, 1939, Belo Horizonte-MG: Conselho Federal de Farmácia. Anais... Belo Horizonte, 1939. p.32.
- SOUZA, P.R. *et al* Cytochemical and morphometric study of chloride cell modulation behavior in the presence of changes In salinity guppies. In: XVII CONGRESS OF THE BRAZILIAN SOCIETY FOR MICROSCOPY AND MICROANALYSIS, Santos-SP, 1999. *Acta Microscópica*, 8(B): 351-352, 1999. Resumo.
- SOUZA, J.S.I. O pequizeiro árvore maravilhosa. *Chácaras Quintais.*, 89: 724-725, 1954.
- VIEIRA, R.F.; MARTINS, M.V.M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no cerrado. In: Proc Int Savana Simposium. Brasília, EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 169-171.

Recebido em: 04/04/01

Aceito em: 23/10/02