

PATRÍCIA NERY SILVA SOUZA

**EFICÁCIA DE EXTRATOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DA
HELMINTOSE OVINA, NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Ciências Agrárias, concentração em Agroecologia, do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Agrárias.

Orientador: Prof^o. Dr. Eduardo Robson Duarte

**Montes Claros
2009**

Souza, Patrícia Nery Silva.
S729e 2009 Eficácia de extratos vegetais para o controle da helmintose ovina, no Norte de Minas Gerais / Patrícia Nery Silva Souza. Montes Claros, MG: ICA/UFMG, 2009.
109 f: il.

Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias, área de concentração em Agroecologia) Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

Orientador: Prof^o Dr. Eduardo Robson Duarte.
Banca examinadora: Eduardo Robson Duarte, Ernane Ronie Martins, João Paulo Viana Leite, Neide Judith de Faria Oliveira.
Inclui bibliografia: f. 94-108.

1. Parasitologia - Ovinos. 2. Plantas medicinais - Anti-helmíntico. I. Duarte, Eduardo Robson. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 633.88

Ficha catalográfica elaborada pela BIBLIOTECA COMUNITÁRIA DO ICA/UFMG

PATRÍCIA NERY SILVA SOUZA

**EFICÁCIA DE EXTRATOS VEGETAIS PARA O CONTROLE DA
HELMINTOSE OVINA, NO NORTE DE MINAS GERAIS**

Aprovada em 17 de fevereiro de 2009.

Prof^o Ernane Ronie Martins
(ICA/UFMG)

Prof^o João Paulo Viana Leite.
(UFV)

Prof^a Neide Judith de Faria Oliveira
(ICA/UFMG)

Prof^o Eduardo Robson Duarte.
(ICA/UFMG)

**Montes Claros
2009**

Aos meus amores,
Manoel, Patrick Emanuel e Maria Luísa.
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus o principal responsável por esta vitória.

Ao meu esposo, filhos e sobrinhas a presença constante, o incentivo e a paciência com a minha ausência.

Aos meus pais e irmãos, alicerces na minha formação pessoal.

Ao Instituto de Ciências Agrárias e ao Programa de Pós-Graduação pela oportunidade;

Ao Prof^o. Eduardo Robson Duarte a paciência e a dedicação na orientação deste trabalho.

Ao Prof^o. Ernane Ronie Martins a colaboração e co-orientação.

À Prof^a. Neide Judith de Faria Oliveira as sugestões e o incentivo.

À minha amiga e colaboradora Francine Souza Alves da Fonseca.

À Flávia Aparecida Nogueira a colaboração, a amizade e a responsabilidade e aos demais bolsistas e voluntários a ajuda na realização deste trabalho.

À CAPES e ao BNB, o auxílio financeiro.

À comunidade rural do Planalto o acolhimento.

E a todos os professores, funcionários e colegas que contribuíram para esta conquista.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

- Quadro 1 -** Plantas avaliadas para a ação anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes em diferentes países..... 31

CAPÍTULO 2 - EFICÁCIA ANTI-HELMÍNTICA DE PLANTAS PRESENTES NO NORTE DE MINAS CONTRA TRICHOSTRONGILÍDEOS DE OVINOS

- Figura 1 -** Valores médios de larvas viáveis de trichostrongilídeos por grama de fezes de ovinos submetidos aos tratamentos 1-tamarindo, 2-tinguí, 3-jatobá, 4-água, 5-panã (folha), 6-panã (semente), 7-ivermectina. Mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott, até 5% de probabilidade..... 46

- Quadro 1 -** Nome científico e comum, locais e data de coleta, parte utilizada, método de extração e concentração final dos extratos das espécies vegetais presentes no Norte de Minas, avaliadas para atividade anti-helmíntica..... 42

CAPÍTULO 3 - *Mangifera indica* COMO ANTI-HELMÍNTICO NO CONTROLE DA HELMINTOSE OVINA

- Figura 1 -** Gráfico da atividade de *Mangifera indica* expressa em probabilidade de sobrevivência de larvas de trichostrongilídeos de ovinos, em contraste com diferentes dosagens do extrato aquoso de frutos imaturos frescos..... 64

CAPÍTULO 4 - EFICÁCIA DE *Genipa americana* L. SOBRE NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

- Figura 1 -** Gráfico da atividade do extrato aquoso de jenipapo sobre o desenvolvimento larval de trichostrongilídeos de ovinos, expresso em probabilidade de sobrevivência de larvas..... 79

Figura 2 - Gráfico da atividade do extrato etanólico de jenipapo sobre eclosão de ovos de trichostrongilídeos de ovinos, expresso em probabilidade de eclosão de larvas..... **79**

CAPÍTULO 5 – EFEITO DE *Caryocar brasiliense* CAMB. SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE NEMATÓIDES OVINOS

Figura 1 - Gráfico da probabilidade de sobrevivência de larvas de helmintos, em função de doses do extrato aquoso de cascas de pequi, por meio da análise *probit*..... **91**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2 - EFICÁCIA ANTI-HELMÍNTICA DE PLANTAS PRESENTES NO NORTE DE MINAS CONTRA TRICHOSTRONGILÍDEOS DE OVINOS

- 1 - Valor médio de larvas por grama de fezes, desvio padrão, em coproculturas tratadas com extratos aquosos e etanólicos de *M. indica*, de *G. americana*, de *A. humile*, de *C. cambessedeanana*, de *H. speciosa*, de *C. brasiliense* e suas eficácias 48

CAPÍTULO 3 - *Mangifera indica* COMO ANTI-HELMÍNTICO NO CONTROLE DA HELMINTOSE OVINA

- 1 - Número médio de larvas por grama de fezes em coproculturas tratadas com extrato aquoso de folhas e frutos verdes de manga e suas respectivas eficácias em reduzir o número de larvas viáveis 62
- 2 - Número médio de larvas por grama de fezes em coproculturas tratadas com extrato aquoso de frutos imaturos frescos de *Mangifera indica* e suas eficácias..... 63
- 3 - Média de OPG e desvio padrão dos grupos de ovinos após sete dias do tratamento com extrato de frutos frescos de *Mangifera indica*, albendazol e do grupo controle..... 64
- 4 - Resultados das reações indicativas de presença ou ausência de taninos, de flavonoides, de saponinas e de alcaloides nos extratos aquosos de folhas e frutos imaturos de *Mangifera indica*..... 65

CAPÍTULO 4 - EFICÁCIA DE *Genipa americana* L. SOBRE NEMATÓIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS

- 1- Resultados das reações indicativas de presença ou ausência de taninos, de flavonoides e de alcaloides nos extratos aquosos e etanólicos de folhas de *Genipa americana*..... 76
- 2 - Número médio de larvas, desvio padrão e eficácia de extratos aquoso e etanólico de *G. americana* sobre o desenvolvimento larval e a eclosão de ovos de helmintos, respectivamente..... 78

**CAPÍTULO 5 – EFEITO DE *Caryocar brasiliense* CAMB.
SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE NEMATOIDES
OVINOS**

- 1 - Número médio por animal e desvio padrão de larvas desenvolvidas por grama de fezes de ovinos (LDPG) em coproculturas tratadas ou não tratadas com extrato aquoso do farelo da casca de pequi (200 mg ml⁻¹)..... **89**
- 2 - Número médio de larvas viáveis, desvio padrão e eficácia do extrato aquoso de cascas dos frutos de *Caryocar brasiliense* sobre o desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos..... **90**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANUALPEC	Anuário da Pecuária Brasileira
CETEA	Comissão de Ética de Experimentação Animal
EMBRAPA -	Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias
FAO	<i>Food Agriculture Organization of The United Nations</i>
FAPEMIG	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais
IBGE -	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICA/UFMG	Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais
OMS	Organização Mundial de Saúde
SAEG	Sistema para Análises Estatísticas
WAAVP	<i>World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology</i>

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 – REFERENCIAL TEÓRICO.....	14
1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1	Importância da ovinocultura.....	16
2.2	Helmintoses gastrintestinais.....	17
2.3	Resistência dos nematoides gastrintestinais aos anti-helmínticos.....	19
2.4	Alternativas de controle das helmintoses.....	21
2.5	Eficácia anti-helmíntica de plantas no controle de helmintos de pequenos ruminantes.....	23
2.6	Eficácia anti-helmíntica de plantas testadas no Brasil.....	27
2.7	Objetivo Geral.....	37
	CAPÍTULO 2 - EFICÁCIA ANTI-HELMÍNTICA DE PLANTAS PRESENTES NO NORTE DE MINAS CONTRA TRICHOSTRONGILÍDEOS DE OVINOS.....	38
	RESUMO.....	38
	ABSTRACT.....	39
1	INTRODUÇÃO.....	40
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	41
2.1	Escolha e amostragem das espécies botânicas utilizadas.....	41
2.2	Obtenção dos Extratos.....	41
2.3	Avaliação <i>in vitro</i> da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos.....	43
2.3.1	Coleta de fezes e exames parasitológicos.....	43

2.3.2	Teste de inibição do desenvolvimento larval.....	43
2.4	Análise estatística.....	44
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4	CONCLUSÃO.....	51
	CAPÍTULO 3 - <i>Mangifera indica</i> COMO ANTI-HELMÍNTICO NO CONTROLE DA HELMINTOSE OVINA.....	52
	RESUMO.....	52
	ABSTRACT.....	53
1	INTRODUÇÃO.....	54
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	56
2.1	Experimento 1 - Frutos imaturos e folhas de <i>M. indica</i>: extrato aquoso a quente.....	56
2.1.1	Coleta do material vegetal.....	56
2.1.2	Obtenção dos extratos.....	56
2.1.3	Avaliação <i>in vitro</i> da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos.....	57
2.2	Experimento 2 – Frutos imaturos de <i>M. indica</i>: extrato aquoso a frio.....	58
2.2.1	Coleta do material vegetal.....	58
2.2.2	Obtenção dos extratos.....	58
2.2.3	Avaliação <i>in vitro</i> da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos.....	58
2.3	Experimento 3 – Frutos imaturos avaliados <i>in vivo</i>.....	59
2.3.1	Teste <i>in vivo</i> de redução da contagem de ovos nas fezes.....	59
2.4	Testes fitoquímicos.....	60
2.5	Análises estatísticas.....	60
2.5.1	Cálculo da porcentagem de redução de ovos nas fezes.....	61

3	RESULTADOS.....	62
4	DISCUSSÃO.....	66
5	CONCLUSÃO.....	68
	CAPÍTULO 4 - EFICÁCIA DE <i>Genipa americana</i> L. SOBRE NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS.....	69
	RESUMO.....	69
	ABSTRACT.....	70
1	INTRODUÇÃO.....	71
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	72
2.1	Coleta do material vegetal e obtenção dos extratos.....	72
2.2	Avaliação <i>in vitro</i> da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos em coproculturas.....	73
2.3	Avaliação <i>in vitro</i> da redução da eclosão de ovos de trichostrongilídeos de ovinos.....	74
2.4	Análise estatística.....	74
2.5	Testes fitoquímicos.....	75
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4	CONCLUSÃO.....	71
	CAPÍTULO 5 – EFEITO DE <i>Caryocar brasiliense</i> Camb. SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE NEMATOIDES OVINOS.....	82
	RESUMO.....	82
	ABSTRACT.....	83
1	INTRODUÇÃO.....	84
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	86
2.1	Avaliação <i>in vitro</i> da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos.....	87
2.2	Análise estatística.....	87

2.3	Testes fitoquímicos.....	88
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	89
4	CONCLUSÃO.....	93
	REFERÊNCIAS.....	94
	ANEXO A – Certificado do CETEA.....	109

CAPÍTULO 1 - REFERENCIAL TEÓRICO

1 INTRODUÇÃO

A ovinocultura é uma atividade econômica explorada em todos os continentes e tem sido estimulada no Brasil, na tentativa de garantir à população rural uma fonte de renda, além de fornecer carne e leite, importantes fontes protéicas na dieta do ser humano.

O Brasil possui grande extensão territorial e clima favorável à criação da espécie ovina, apresentando potencial para tornar-se um dos maiores produtores desses animais. Entretanto, o produtor rural brasileiro ainda não foi devidamente conscientizado a respeito dessa possibilidade, o que torna necessário o desenvolvimento de novas tecnologias e uma melhor organização da cadeia produtiva (VIEIRA, 2003).

Um dos principais problemas encontrados na ovinocultura, que limita a exploração economicamente viável desses animais, são as parasitoses gastrintestinais. Todas as categorias de ovinos podem ser intensamente parasitadas por helmintos, reduzindo não somente o ganho de peso, mas também a produção de leite, lã e pele. O tratamento frequente do rebanho ovino com anti-helmínticos sintéticos tem sido uma das únicas medidas de controle dos nematoides gastrintestinais adotadas pelos criadores de ovinos. Esses medicamentos sintéticos, além de elevarem o custo de produção, comprometem o ecossistema devido à persistência de seus resíduos no ambiente e nos produtos de origem animal e, de forma extremamente efetiva, induzem a seleção de cepas de parasitos resistentes (HERD, 1996).

A alta prevalência e a grande patogenicidade fazem do *Haemonchus contortus* e do *Trichostrongylus colubriformis* as principais espécies de endoparasitas de ovinos no mundo. *H. contortus* é o mais patogênico, pois se fixa à mucosa do abomaso e alimenta-se de sangue durante toda a vida parasitária. Dessa forma, o principal sintoma da haemoncose é a anemia. Os animais podem apresentar edema submandibular. Elevadas taxas de mortalidade em filhotes e em fêmeas parturientes são frequentes.

Dentre as novas e promissoras alternativas que vêm sendo pesquisadas para o controle das helmintoses, a utilização de plantas tem sido apontada como uma das mais relevantes em diferentes países. A Organização Mundial de Saúde (OMS) estima que 25% dos medicamentos modernos são oriundos de plantas inicialmente usadas na medicina popular. Entre 60 a 90% da população dos países não industrializados recorrem a plantas medicinais para solucionar seus problemas de saúde (ADDAE-MENSAH, [2006?])¹. Além disso, a aceitação do mercado consumidor por alimentos orgânicos ou naturais e o aumento do consumo desses produtos têm reforçado o interesse pela busca de alternativas não convencionais para o controle das diversas doenças em animais de produção. Nesse contexto, o presente trabalho busca alternativas regionais eficazes, de baixo custo e de menor impacto ambiental para o controle das helmintoses ovinas. Os resultados e conhecimentos obtidos poderão contribuir para o melhor aproveitamento, valorização e conservação das espécies vegetais com potencial fitoterápico.

¹ http://www.crvp.org/book/Series02/II-5/chapter_vii.htm

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Importância da ovinocultura

A ovinocultura é uma atividade amplamente praticada, visando à produção de carne, de leite e de peles. O interesse pela exploração de ovinos vem aumentando nos países desenvolvidos, onde já é significativo o uso de tecnologias para aumentar a produção (VIEIRA, 2003).

A Austrália e a Nova Zelândia exportaram, respectivamente, 361,8 e 293 mil toneladas de carne em 2005, enquanto o Brasil importou aproximadamente 2,4 mil toneladas, indicando a necessidade de otimização dessa atividade no país (FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO, 2006)². A produção de carne ovina é uma atividade que vem se desenvolvendo gradativamente no Brasil, mudando o foco e crescendo em regiões onde antes a ovinocultura era insignificante, viabilizando sistemas de produção animal em pequenas propriedades e tornando-se mais uma alternativa de investimento no agronegócio. Em 2006, a produção de carne ovina no Brasil foi de 78 mil toneladas e estimou-se um crescimento de 3% para 2007 (FAO, 2006)².

Segundo o Anuário da Pecuária Brasileira ANUALPEC, o rebanho de ovinos correspondeu, em 2005, a 16,05 milhões de cabeças e o de caprinos, a 10,31 milhões. No Brasil, a região Nordeste detém 56,3% dos rebanhos de ovinos, correspondendo a 10.129.739 milhões de animais. O restante do rebanho nacional distribuiu-se em: 4.691.472 na região Sul; 1.051.739 no Centro-Oeste; 678.991 no Sudeste e 554.103 no Norte (ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA – ANUALPEC, 2006).

De acordo com dados preliminares do censo agropecuário do ano de 2006, os ovinos existentes no Brasil estavam distribuídos em 435.697 estabelecimentos. Os dados indicaram ainda que a criação de ovinos é uma atividade exercida principalmente por pequenos produtores e evidenciam a importância social da ovinocultura como fonte de subsistência e para a

² <http://www.fao.org/docrep/009/j8126e/j8126e10.htm>

fixação do pequeno produtor ao campo (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE, 2006).

2.2 Helmintoses gastrintestinais

As helmintoses gastrintestinais constituem o principal fator limitante para a produção de ovinos em todo o mundo (VIEIRA, 2003). As perdas causadas pelas verminoses são determinadas não somente pelos efeitos agudos da doença, que, em muitos casos, resultam em morte do animal infectado, mas, principalmente, pelos danos indiretos causados por infecções crônicas, acarretando desenvolvimento corporal lento, perda de peso, redução na produção de carne e lã e aumento das despesas associadas ao controle de doenças (KRYCHAK-FURTADO, 2006).

Os danos causados pelos helmintos gastrintestinais são crescentes durante a época chuvosa do ano. Conseqüentemente, a criação de pequenos ruminantes, em sistemas de pastagens, pode ser limitada pela ação dos parasitas quando não for adotado um rigoroso esquema de controle (QUADROS *et al.*, 2004).

No ciclo de vida dos helmintos gastrintestinais, os ovos são liberados para o ambiente, juntamente com as fezes dos animais. Após a eclosão desses, as larvas migram pela vegetação, em contato íntimo com um filme d'água e são apreendidas pelos animais durante o pastejo. Essa fase de vida livre pode durar aproximadamente sete dias, dependendo da temperatura e da umidade ambientais. Ao serem ingeridas, as larvas fixam-se no trato gastrintestinal e começam a fase parasitária, seguida da etapa de reprodução. Da ingestão das larvas até o início da ovoposição decorrem, geralmente 21 dias (ANDERSON, 1982).

Sob condições adequadas, 20% dos ovos depositados nas fezes completam o ciclo de vida. Todavia, na estação seca, apenas 1% completa a sua fase livre. Pastagens podem ser manejadas para permitir maior penetração de raios solares nas bases das plantas, reduzindo, assim, o número de larvas infectantes (ANDERSON, 1982).

Um dos vermes mais frequentes em criatórios de ovinos é o *Haemonchus contortus*, que geralmente ocasiona os maiores prejuízos. Esse parasita do abomaso é hematófago durante toda a sua vida parasitária e os animais portadores de carga parasitária elevada podem apresentar anemia e edema submandibular, sendo a mortalidade causada por esse parasita relativamente comum em ovinos (AMARANTE; SALES, 2007). Entretanto, o principal sintoma da infecção por *H. contortus* é a anemia, devido à quantidade de sangue ingerida pelo verme. Adultos desse parasito têm sido observados, sugando o hospedeiro por mais de 12 minutos, seguida de hemorragia local, que ainda pode durar por até sete minutos (LE JAMBRE *et al.*, 1999).

Considerando que cada verme adulto ingere 0,05 ml de sangue por dia, uma ovelha com infecção moderada de 2000 vermes pode perder 5 a 7% de seu volume de sangue diariamente, acarretando anemia, hipo-proteinemia e baixo ganho de peso (ANDERSON, 1982).

Em seguida, em ordem de importância, está a espécie *Trichostrongylus colubriformis*, que parasita o intestino delgado e está presente em praticamente todas as criações de ovinos. Estes helmintos lesam a mucosa intestinal, provocando exsudação local de proteínas séricas. Dessa forma, em infecções maciças, os animais podem apresentar anorexia, diarreia e edema submandibular (URQUHART *et al.*, 1990).

O gênero *Cooperia* é comumente encontrado em criações de ovinos. A sintomatologia consiste em perda de apetite e baixo ganho de peso. *Oesophagostomum* spp. são responsáveis por enterite, que em infecções agudas, provoca grave diarreia, constituindo o principal sinal clínico e há geralmente rápida perda de peso e, às vezes, edema submandibular (URQUHART *et al.*, 1990)

Os fatores predisponentes às parasitoses animais são: idade, sendo os jovens e senis mais sensíveis; estado nutricional inadequado, épocas de maior estresse, como parto, lactação, desmame e nascimento, fatores do animal como raça, tipo de parasita, manejo, superpopulação e a introdução de animais portadores nos rebanhos (ANDERSON, 1982).

No Brasil, Gonçalves (1974) realizou o primeiro trabalho em epidemiologia da helmintose ovina no município de Guaíba (RS). Em Santa Catarina, Ramos *et al.* (1985) coletaram amostras de conteúdos gastrintestinais de ovinos, determinaram a prevalência dos principais gêneros e espécies de helmintos, destacando-se como principais: *Haemonchus contortus* (61,3%), *Trichostrongylus axei* (54,8%), *Ostertagia (Teladorsagia) circumcincta* (25,8%), *Trichostrongylus colubriformis* (48,2%), *Trichostrongylus longispicularis* (25,8%), *Oesophagostomum columbianum* (38,7%), *Oesophagostomum venulosum* e *Trichuris ovis* (32,3%) e *Muellerius* spp. (19,4%).

No mesmo Estado, Souza *et al.* (2000) determinaram o período necessário de descanso de pastagem para ocorrer a redução das larvas de nematoides gastrintestinais de ovinos em campos naturais. Na primavera, são necessários 42 a 56 dias para ocorrer diminuição significativa dessas larvas nas pastagens para a maioria dos gêneros, aumentando para 70 a 84 dias no verão.

Na Bahia, 80 ovinos da raça Santa Inês apresentaram média de ovos por grama de fezes (OPG) igual a 865, indicando a necessidade de cuidados com esses animais. Os principais helmintos gastrintestinais encontrados foram: *Haemonchus* spp., *Trichostrongylus* spp. e *Cooperia* spp. O percentual médio das larvas infectantes encontradas nos capins estudados, nos estratos de 0-15, 15-30 e acima de 30 cm foram: 31, 53 e 16%, respectivamente (QUADROS *et al.*, 2004).

2.3 Resistência dos nematoides gastrintestinais aos anti-helmínticos

A saúde do rebanho ovino depende de um combate eficiente dos parasitas, permitindo a obtenção de animais saudáveis e prontos para a venda (MOLENTO, 2004). O controle dos helmintos tem sido realizado principalmente com produtos químicos, os quais são amplamente utilizados na pecuária de corte e leite, muitas vezes indiscriminadamente, sendo administrados sem critérios epidemiológicos e permitindo o aparecimento de resistência. Quando o uso for intensivo e o intervalo entre tratamentos se

aproximar do período pré-patente dos nematoides, os parasitos resistentes serão capazes de continuar sua reprodução no hospedeiro ininterruptamente, enquanto que aqueles sensíveis terão poucas oportunidades de infectar os animais, alcançar maturidade e produzir ovos antes de serem expostos ao próximo tratamento (RANGEL *et al.*, 2005).

Desde as primeiras descrições de nematoides resistentes aos anti-helmínticos, na década de 1970, esse fenômeno deixou de ser apenas uma curiosidade em parasitologia, para dar origem a um estado de crise em alguns setores da atividade pecuária. Essa situação tornou-se grave, especialmente nas criações de pequenos ruminantes nas regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, onde ocorre resistência à maioria dos grupos de anti-helmínticos de amplo espectro (WALLER, 1997).

O primeiro relato de resistência a anti-helmínticos em ovinos no Brasil foi no Rio Grande do Sul (DOS SANTOS; GONÇALVES, 1967 *apud* FARIA *et al.*, 1997). Estudos posteriores no Nordeste brasileiro indicaram o mesmo perfil em Pernambuco e Bahia (BARRETO; SILVA, 1999). No Ceará, outros relatos de resistência anti-helmíntica em caprinos e em ovinos demonstraram que esse problema está se disseminando (MELO *et al.*, 1998).

Vieira e Cavalcante (1999) realizaram um levantamento sobre resistência anti-helmíntica em 34 rebanhos no Estado do Ceará. Desses, sete (20,6%) apresentaram resistência aos imidatiázóis, seis (17,6%) aos benzimidazóis e doze (35,3%) revelaram resistência múltipla. Apenas em nove rebanhos (26,5%), os nematoides foram sensíveis aos anti-helmínticos avaliados. Detectou-se que 52,9% dos caprinocultores entrevistados usavam anti-helmínticos de amplo espectro. As coproculturas mostraram que os sobreviventes à medicação com oxfendazole foram principalmente *Haemonchus* spp., seguidos em menor frequência por *Oesophagostomum* spp. enquanto que ao cloridrato de levamisole sobreviveram *Haemonchus* spp., *Oesophagostomum* spp. e *Trichostrongylus* spp.

As verminoses, que são controladas basicamente pela utilização de anti-helmínticos, foram agravadas pelo aumento no aparecimento da resistência dos helmintos a essas drogas. Os primeiros estudos se referiam à resistência dos helmintos ao grupo dos benzimidazóis e levamisoles. Em

1981, com o descobrimento de um grupo químico de anti-helmíntico distinto, as avermectinas, surgiu uma alternativa de tratamento que tem sido considerada até hoje, como um princípio ativo potente para o controle das parasitoses de animais domésticos (GOPAL *et al.*, 1999). Entretanto, Echevarria *et al.* (1996) detectaram 13% de resistência à ivermectina em rabanços gaúchos.

O teste de redução do OPG foi utilizado em 42 propriedades produtoras de ovinos, no Estado do Paraná. Os resultados mostraram que a resistência foi alta para todos os anti-helmínticos avaliados, sendo 88,1% para oxfendazole, 78,6% para ivermectina, 56,4% para closantel, 38,7% para closantel, associado ao oxfendazole, 38% para levamisole e 23,6% para moxidectina. Havia resistência múltipla em todas as fazendas estudadas e, na identificação das larvas de helmintos, verificou-se que a maioria pertencia aos gêneros *Haemonchus* e *Trichostrongylus* (THOMAZSOCCOL *et al.*, 2004).

A instalação da resistência decorre do uso frequente e contínuo de bases farmacológicas destinadas ao controle dos parasitos. A pressão de seleção é um processo gradativo e silencioso. Caso não diagnosticado precocemente, somente será evidenciado quando atingir níveis de danos em todos os animais do rebanho (WALLER, 1994).

2.4 Alternativas de controle das helmintoses

Considerando a epidemiologia e a dinâmica populacional dos vermes no rebanho e na pastagem, têm sido desenvolvidas estratégias de controle que visam a eliminar o parasitismo dos animais e, principalmente, prevenir a contaminação no meio ambiente (VIEIRA, 2003).

O controle estratégico é recomendado com base no conhecimento epidemiológico em cada região. Estudos no semi-árido nordestino têm demonstrado que, no período chuvoso, as pastagens estão com alta população de larvas infectantes, enquanto que, no período seco, os parasitos permanecem no sistema gastrointestinal dos animais, muitas vezes sem a manifestação de sintomas. Esse tipo de controle consiste em medicar o

rebanho quando as condições climáticas da região são desfavoráveis ao desenvolvimento e à sobrevivência dos estágios de vida livre no ambiente. Em outros ecossistemas do país, o esquema de vermifugação deverá ser ajustado em consonância com as condições climáticas de cada região, procurando sempre concentrar o tratamento anti-helmíntico no período seco (VIEIRA *et al.*, 1997). Medicações táticas são também recomendadas sempre que as condições ambientais do momento favoreçam o aparecimento de surtos de verminose, antes do início da cobertura ou da inseminação artificial e 30 dias antes do início do período de parição (VIEIRA, 2003).

O controle integrado de parasitos (CIP) é a combinação de métodos químicos e não químicos de controle parasitário disponíveis, com a finalidade de manter níveis aceitáveis de produção, sem a eliminação total do agente causal. Limpar e desinfetar as instalações, manter as fezes em locais distantes dos animais, evitar a superlotação das pastagens, separar os animais por faixa etária, vermifugar os animais ao trocar de área, não introduzir no rebanho animais provenientes de outras propriedades antes de serem vermifugados, manter os animais no aprisco, no mínimo 12 horas após a vermifugação, pastar de forma alternada ou mista com diferentes espécies animais, permitir o descanso da pastagem e a rotação de área de pastejo com áreas de culturas são medidas de manejo que devem ser implementadas na propriedade, visando à prevenção de hemintoses (VIEIRA, 2003).

Em virtude da disseminação de populações de endoparasitos resistentes aos anti-helmínticos (MELO *et al.*, 1998), surgiu um novo enfoque de controle da verminose, por meio do método “famacha”, que consiste em vermifugar o menor número de animais possível e com menor frequência. Nesse método, são medicados apenas os animais que apresentam sintomas clínicos acentuados de verminose. Desta forma, persistirá, no meio ambiente, uma população sensível aos anti-helmínticos. Entretanto, a limitação do método “famacha” é com a sua aplicabilidade, uma vez que se adapta apenas para animais infectados com nematoides hematófagos, como é o caso do *H. contortus* (MOLENTO *et al.*, 2004).

Os estágios, ovos e larvas, não parasitários dos nematoides gastrintestinais no meio ambiente sofrem influência de vários inimigos naturais. Dentre esses, os fungos têm sido mencionados como os mais importantes agentes na redução da densidade populacional de larvas infectantes na pastagem (ASSIS *et al.*, 2003a). Araújo (1996) observou que fungos nematófagos passaram intactos pelo trato gastrintestinal de bovinos e se reproduziram no meio ambiente, reduzindo o nível de contaminação das pastagens por larvas de nematoides gastrintestinais de bovinos.

Outra importante alternativa de controle seria a seleção de animais tolerantes, que são capazes de suprimir o estabelecimento dos parasitas e/ou de eliminar nematoides já estabelecidos. Ovinos com essa característica toleram melhor os efeitos de infecções helmínticas e promovem menor contaminação da pastagem, reduzindo o número de vermifugações, retardando, assim, o aparecimento de resistência anti-helmíntica (AMARANTE *et al.*, 2007). No Brasil, a primeira investigação nesse sentido foi realizada por Costa *et al.* (1986), onde a raça Santa Inês apresentou melhor resposta ao parasitismo que a raça Somalis.

A importância de novas pesquisas para o controle alternativo é também respaldada pelo grande investimento econômico com os tratamentos anti-helmínticos convencionais, além da elevada prevalência de populações de helmintos resistentes. Fator também primordial e pouco considerado é o risco de resíduos de anti-helmínticos na carne, no leite e no meio ambiente (KRYCHAK-FURTADO, 2006).

2.5 Eficácia anti-helmíntica de plantas no controle de helmintos de pequenos ruminantes

Na tentativa de contribuir para um controle alternativo efetivo de nematoides gastrintestinais em pequenos ruminantes, vários pesquisadores têm se empenhado em testar plantas usadas na medicina popular, avaliando a eficácia e a segurança das mesmas (AL-QARAWI *et al.*, 2001; GITHIORI *et al.*, 2003; MACIEL *et al.*, 2006).

Nos EUA, Ketzis *et al.* (2002), trabalhando com óleo essencial de *Chenopodium ambrosioides* (0,2 ml kg⁻¹ de peso corporal), observaram eficácia igual ao tiabendazole, promovendo a inviabilização de todas as larvas eclodidas de *H. contortus*.

Min *et al.* (2004) avaliaram o efeito de uma pastagem de *Lespedeza cuneata*, sobre a média de OPG e o total de produção de ovos em caprinos naturalmente infectados. Houve redução nos dois parâmetros avaliados e a porcentagem de ovos que passaram a larvas de terceiro estágio caiu de 99,0 para 58,2%. Lange *et al.* (2006) avaliaram a mesma forragem, sobre infecções de *H. contortus* em ovinos. O grupo tratado teve redução de 98% no OPG no sétimo dia de tratamento. Terrill *et al.* (2007) observaram que a peletização dessa planta reforça a sua eficácia contra nematoides de caprinos e pode facilitar a ampla utilização dessa forrageira em pequenos ruminantes.

No Kênia, Gathuma *et al.* (2004) observaram 77% de eficácia *in vitro* do extrato aquoso a quente (24 mg ml⁻¹) de frutos e folhas de *Myrsine africana* sobre vários nematoides de ovinos. Entretanto, Githiori *et al.* (2002) não observaram redução significativa no OPG em carneiros, utilizando folhas e frutos da mesma planta. É bem conhecido que os princípios ativos variam entre as partes vegetais, a localização, a idade e a fase de desenvolvimento da planta. Além disso, o teste *in vivo* realizado por Githiori *et al.* (2002) é por si só mais rigoroso na avaliação da eficácia do extrato.

Os extratos aquosos de raízes de *Albizia anthelmintica* e *Hilderbrandtia sepalosae*, avaliados separadamente, apresentaram ação anti-helmíntica com eficácias superiores a 90% (GITHIORI *et al.*, 2003; GATHUMA *et al.*, 2004). Já o extrato aquoso de *Jasminum abyssinicum* (0,3l/animal) reduziu em 69% o OPG de ovinos (KOMEN *et al.*, 2005).

No Zimbábwe, Kahiya *et al.* (2003) relataram redução de 34% no OPG de caprinos infectados artificialmente com larvas de *H. contortus* e alimentados com folhas desidratadas de *Acacia karoo*, que constituíram 40% da dieta.

Na Nigéria, o D-3-O-methylchiroinositol, isolado do caule de *Piliostigma thonningii* promoveu a paralisia de 60% das larvas de nematoides (ASUZU *et*

al., 1999). Também nesse país, os extratos aquoso e etanólico de *Nauclea latifolia* foram eficazes na redução do OPG (93,8%) em ovinos e diminuíram a sobrevivência de larvas (ADEMOLA *et al.*, 2007b; ONYEYILI *et al.*, 2001). Já Alawa *et al.* (2003) observaram que o extrato aquoso de *Annona senegalensis*, na concentração 7,1 mg mL⁻¹, reduziu a eclodibilidade dos ovos em 88,5%. O mesmo procedimento foi utilizado para *Vernonia amigdalina*, que foi ineficiente nas concentrações avaliadas.

Também na Nigéria, os extratos etanólico e aquoso de *Spondias mombin* (ADEMOLA *et al.*, 2005) e *Spigelia anthelmia* (ADEMOLA *et al.*, 2007a), na concentração de 500 mg kg⁻¹ p.c., foram eficazes na redução do OPG (até 65%) de ovinos. Em testes *in vitro*, os extratos etanólico e aquoso de *Khaya senegalensis* inviabilizaram larvas de 1º estágio. Nos testes *in vivo*, 500 mg kg⁻¹ p.c. reduziram 71,5% do OPG de *H. contortus* e 72,3% de *Trichostrongylus colubriformis*. Para *Oesphagostomum* spp., *Strongyloides* spp. e *Trichuris* spp., observaram 100% de inibição na mesma concentração (ADEMOLA *et al.*, 2004).

Na África do Sul, Bizimenyera *et al.* (2006) avaliaram a eficácia de extrato acetônico de folhas, caule e raiz de *Peltophorum africanum* contra *T. colubriformis* e nas concentrações cinco e 25 mg mL⁻¹, ocorreu inibição total da eclosão de ovos e do desenvolvimento das larvas. Na Arábia Saudita, Al-Qarawi *et al.* (2001), utilizando extratos de *Calotropis procera*, obtiveram 49% de redução do OPG. Nos testes *in vitro*, as diluições 1/5 e 1/10 foram letais, após 20 minutos de administração.

No Paquistão, extratos de *C. procera*, *Artemisia brevifolia*, *Swertia chirata* e *Butea monosperma* apresentaram eficácia acima de 60% sobre *H. Contortus* em testes *in vitro*. No testes *in vivo*, todas as espécies provocaram redução no OPG acima de 50% (IQBAL *et al.*, 2004; IQBAL *et al.*, 2005; IQBAL *et al.*, 2006a; IQBAL *et al.*, 2006b). A espécie *Trachyspermum ammi* apresentou bom efeito anti-helmíntico em ovinos naturalmente infectados, reduzindo o OPG em 78% (LATEEF *et al.*, 2006; JABBAR *et al.*, 2006). A ação *in vitro* e *in vivo* de um produto comercial contendo taninos foi avaliada contra *H. contortus* e houve redução dose dependente da eclosão de ovos, redução do OPG e melhora na utilização dos nutrientes (IQBAL *et al.*, 2007).

Na Etiópia, o pó da raiz de *Halothamnus somalensis*, na dose 2g kg⁻¹ p.c., apresentou 50% de redução do OPG (DAWO; TIBBO, 2005)³. Já os extratos aquosos e hidroalcólicos de *Croton macrostachyus* e *Ekebergia capensis*, bem como o extrato aquoso de *Acacia nilotica* induziram completa inibição da eclosão dos ovos de *H. contortus* em concentração igual ou inferior a dois mg ml⁻¹ (EGUALE *et al.*, 2006). Eguale *et al.* (2007) também observaram inibição completa da eclosão de ovos tratados com extratos aquoso e hidroalcólico de *Coriandrum sativum*.

Na Suíça, Hördegen *et al.* (2003) avaliaram os efeitos da administração de extratos de sete plantas: nim (*Azadirachta indica*), lírio (*Melia azedarach*), abacaxi (*Ananas comosus*), *vernonia anthelmintica*, *embelia ribes*, *fumaria parviflora* e *caesalpinia crista*, na redução do OPG e de larvas de *H. contortus* e *Trichostrongylus colubriformis*. Somente o extrato etílico de *F. parviflora*, na dose de 183 mg kg⁻¹ p.c., promoveu significativa redução no OPG (100%) e 78,2 e 88,8% de redução de adultos de *H. contortus* e *T. colubriformis*. Utilizando o teste de redução modificado *methyl-thiazolyltetrazolium* (MTT), Hördegen *et al.* (2006) testaram a atividade anti-helmíntica de seis das plantas citadas anteriormente e os resultados mostraram redução significativa no desenvolvimento larval, chegando a 93% de inibição, com extrato de *A. indica*.

Heckendorn *et al.* (2007) avaliaram os efeitos da administração de *Cichorium intybus*, *Lotus corniculatus*, *Onobrychis viciifolia* sobre carneiros infectados artificialmente com *H. contortus* e *Cooperia curticei* e todas as forragens apresentaram redução significativa no OPG.

Hounzangbe-Adote *et al.* (2005a), na França, avaliaram o efeito de *Zanthoxylum zanthoxyloides* (fagara) administrada na dose de 4g kg⁻¹ p.c., observando redução de 57,8 % na eliminação de ovos e diminuição na fertilidade das fêmeas dos helmintos. O número médio de ovos por útero no grupo controle foi de 573,1 e, no grupo tratado, foi de 384,3. Avaliando o efeito dessa mesma planta e de *Newbouldia laevis*, *Morinda lucida* e *Carica papaya* sobre três estágios de vida de *H. contortus*, Hounzangbe-Adote *et al.*

³ <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/6/dawo17068.htm>.

(2005b) observaram que essas quatro plantas possuem propriedades anti-helmínticas, sendo demonstrada a redução da motilidade dos adultos desse verme.

Paolini *et al.* (2003) administraram extrato de quebracho (*Schinopsis* sp.) para caprinos e obtiveram 64% de redução do OPG. Com relação à fecundidade das fêmeas de nematoides, o grupo tratado apresentou redução de 57%.

No Reino Unido, Marley *et al.* (2003) estudaram a helmintose de ovinos naturalmente infectados manejados em piquetes das seguintes forragens: *C. intybus*, *L. corniculatus* e *Lolium perenne/Trifolium repens*. Após 35 dias, nos ovinos que pastaram *L. corniculatus*, foram encontrados, em média, 7,6 helmintos e no *L. perenne/ T.repens*, foram encontrados 16,0.

Athanasiadou *et al.* (2005) avaliaram o efeito anti-helmíntico direto das forragens, *Lotus pedunculatus*, *Hedysarium coronarium*, *O. viciifolia*, *C. intybus* e uma mistura de *L. perenne/T. repens* (controle) contra *T. colubriformis*. e não houve evidência de efeito anti-helmíntico direto dessas forragens sobre os helmintos. Vale ressaltar que o teor de metabólitos secundários pode variar de acordo com as condições ambientais e que a suscetibilidade dos helmintos também varia de espécie para espécie.

Os extratos de taninos condensados de quebracho foram utilizados em teste de desenvolvimento larval sobre *H. contortus*, *Teladorsagia circumcincta*, *T. colubriformis* e *Nematodirus battus*. Observou-se efeito sobre a motilidade das larvas de terceiro estágio de todas as espécies testadas, sendo esse dose dependente. O extrato de quebracho utilizado *in vivo* foi eficiente contra *T. colubriformis* e *N. battus* (ATHANASIADOU *et al.*, 2001).

2.6 Eficácia anti-helmíntica de plantas testadas no Brasil

Apesar de muitas plantas já terem sido descritas como possuidoras de atividade anti-helmíntica, poucas foram avaliadas cientificamente. Em um levantamento realizado por Krychak-Furtado (2006), 106 espécies foram citadas com ação anti-helmíntica, entretanto menos de 17% dessas tiveram suas eficácias comprovadas e das plantas identificadas, apenas 17,9%

possuíam indicação para tratamento de nematoides de ruminantes.

Nos estudos de Krychak-Furtado (2006), 35 extratos vegetais foram avaliados *in vitro* contra nematoides gastrintestinais de ovinos. Desses, 13 extratos apresentaram eficiência superior a 80%, sendo das espécies: coraçãozinho (*Melochia villosa*), aster (*Aster lanceolatus*), capim arroz (*Oryza latifolia*), roseira do brejo (*Pavonia angustifolia*), pitomba (*Trichilia pallida*), guiné (*Petiveria alliacea*), jenipapo (*Genipa americana*), xaxim (*Dicksonia sellowiana*), *Pterocaulon interruptum*. Nos testes *in vivo* em ovinos, o extrato de *P. interruptum* foi administrado por via oral, na dosagem de 33,34 mg kg⁻¹ de peso corporal e obteve-se redução de 47% no número de ovos de trichostrongilídeos eliminados nas fezes. Já a administração de *D. sellowiana* em forma de pó seco, na dose de cinco g kg⁻¹ p.c., determinou 86,6% de redução de ovos dos nematoides gastrintestinais (KRYCHAK-FURTADO 2006).

Melia azedarach, conhecida popularmente como lírio, foi introduzida no Brasil durante a década de 1980 (MACIEL *et al.*, 2006). Testes *in vivo*, utilizando essa planta na dosagem de dois e três gramas de frutos secos e triturados por kg de p.c., via oral, demonstraram 59 e 54% de eficácia anti-helmíntica em caprinos, respectivamente (GIRÃO *et al.*, 1998).

Maciel *et al.* (2006), avaliando extratos hexânico, etanólico e clorofórmico de folhas e sementes de *M. azedarach* sobre *H. contortus* observaram 100% de inibição da eclosão de ovos para o extrato etanólico das folhas, nas concentrações de 25 e 50 mg ml⁻¹. O extrato etanólico das sementes inibiu 100% da eclosão de ovos em todas as concentrações testadas. O extrato clorofórmico das sementes inibiu 92,4% da eclosão de ovos e 93,5% do desenvolvimento larval na concentração 50 mg ml⁻¹, enquanto o extrato hexânico não foi eficiente. Os testes fitoquímicos das folhas indicaram a presença de taninos condensados, triterpenoides, esteroides e alcaloides.

Oliveira *et al.* (1997) observaram redução da infecção por nematoides gastrintestinais em caprinos que receberam, diariamente, folhas de bananeiras (*Musa sp.*) por um período de 25 dias, quando comparados com o grupo controle. A eficácia da folha de bananeira foi de 57,1% para

Haemonchus sp., 70,4% para *Oesophagostomum* sp., 65,4% para *Trichostrongylus* sp. e de 59,5% para *Cooperia* sp. Por outro lado, Krychak-Furtado *et al.* (2005) testaram o extrato etanólico e o látex puro de flores de *M. paradisiaca* sobre ovos de nematoides gastrintestinais de ovinos e constataram que nenhum dos tratamentos inibiu o desenvolvimento larval.

Sementes de *Carica papaya*, trituradas em água e administradas para cabras, reduziram em 32,2% a contagem de ovos de *H. contortus* e não foi observada mortalidade de nematoides adultos (VIEIRA *et al.*, 1999). Krychak-Furtado *et al.* (2005) testaram o extrato aquoso e o óleo essencial de sementes dessa planta sobre ovos de nematoides de ovinos, porém nenhum dos tratamentos inibiu o desenvolvimento dos ovos desses parasitos.

O extrato aquoso de erva lombrigueira (*Spigelia anthelmia*) foi testado na dose de 0,17 mg mL⁻¹ sobre a eclosão de ovos de *H. contortus*, obtendo inibição de 50% dos ovos (BATISTA *et al.*, 1999). Em outro estudo, as frações com acetato de etila e metanol, na concentração de 50 mg mL⁻¹, inibiram 100 e 97,4% da eclosão dos ovos, respectivamente (ASSIS *et al.*, 2003b). Já os extratos aquoso e etanólico de caferana (*Picrolemma sprucei*) inibiram de 85 a 90% do desenvolvimento de larvas desse nematoide (NUNOMURA *et al.*, 2006).

Utilizando extrato aquoso de *Momordica charantia*, (melão-de-São-Caetano), na concentração 0,10 mg mL⁻¹, Batista *et al.* (1999) observaram 50% de inibição da eclosão de ovos de *H. contortus*. Posteriormente, Almeida (2005) observou redução média no OPG de 63,1% em caprinos naturalmente infectados e tratados com folhas dessa planta.

O óleo essencial de alfavaca (*Ocimum gratissimum*) e seu componente, o eugenol, nas concentrações 0,5 e 1,0% apresentou 100% de inibição da eclosão dos ovos de helmintos. O óleo essencial apresentou 14 componentes, sendo encontrado em maior quantidade o eugenol (43,7%) e o 1,8-Cineol (32,71%) (PESSOA *et al.*, 2002).

O extrato hexânico de manga (*Mangifera indica*) não apresentou efeito ovicida, mas a fração etanólica do extrato hexânico inibiu 95,7% da eclosão de ovos de *H. contortus*, na concentração 50 mg mL⁻¹. Os testes fitoquímicos realizados nessa última fração detectaram proantocianidinas, taninos

hidrolisáveis, triterpenos, incluindo saponinas (COSTA *et al.*, 2002).

Os estudos *in vitro* dos extratos aquosos de *Cymbopogon citratus* (capim-santo) e *Digitaria insularis* (capim-açu) sobre culturas de larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos revelaram uma redução de 97,79% do número de larvas de *H. contortus*, na concentração de 224 mg mL⁻¹ para o extrato de capim-santo e de 98,94% para o extrato de capim-açu, na concentração 138,75 mg mL⁻¹ (ALMEIDA *et al.*, 2003). Já o suco de alho (*Allium sativum*) não foi eficaz sobre o desenvolvimento de ovos e larvas de Strongyloidea em caprinos (BATATINHA *et al.*, 2004).

Três plantas citadas como anti-helmínticas, *Luffa operculata* (bucha-paulista), *Operculina* sp. (batata-de-purga) e *Senecio brasiliensis* (maria-mole), foram avaliadas *in vitro* e a batata-de-purga apresentou os melhores resultados na inibição da eclosão de ovos de nematoides (GIRÃO *et al.*, 1998). O farelo de batata-de-purga apresentou uma redução média 72,3% no OPG, 60 dias pós-tratamento de caprinos naturalmente infectados. Animais tratados com semente de jerimum (*Cucurbita pepo* L.) apresentaram redução média do OPG de 87,3% (ALMEIDA, 2005).

O efeito inibitório do óleo essencial de alecrim pimenta (*Lippia sidoides*) na concentração de 0,02 mg mL⁻¹ foi de 94,84% ± 2,3, similar ao tiabendazol. A atividade ovicida do óleo essencial de canelinha (*Croton zehntneri*) e seu principal constituinte, o anetol, foi de 58% e 26,6% sobre *H. contortus* (VASCONCELOS, 2006). Os óleos essenciais de *L. sidoides*, *C. zehntneri* e seus constituintes majoritários reduziram 98% da eclosão de ovos e inibiram 90% do desenvolvimento larval do *H. contortus* (CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2007). O óleo essencial de *L. sidoides*, administrado *in vivo*, na concentração de 283 mg kg⁻¹ apresentou eficácia de 54%, 14 dias após o tratamento (CAMURÇA-VASCONCELOS *et al.*, 2008). Devido ao grande número de referências sobre plantas empregadas como anti-helmínticos, os nomes científicos, comuns, parte utilizada, eficácia das plantas avaliadas para a ação anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes em diferentes países estão apresentados no QUADRO 1.

QUADRO 1

Plantas avaliadas para a ação anti-helmíntica em nematoides gastrintestinais de pequenos ruminantes em diferentes países

Nome científico	Nome vulgar	Parte utilizada	Teste	Animal	Concentração/Dose	Eficácia	País	Autor
<i>Acacia karoo</i>	NC ⁴	Folhas	<i>In vivo</i>	Caprino	40% da ração diária	Redução de 34% nos ovos de <i>H. contortus</i>	Zimbabwe	Kahiya et al. (2003)
<i>Acácia mearnsii</i>	Acácia negra	NC	<i>In vivo</i>	Ovino	18g/animal	Eficaz sobre nematoides de ovinos	Brasil	Cenci et al. (2007)
<i>Acácia mearnsii</i>	Acácia negra	NC	<i>In vitro</i>	Ovino	1,25 mg ml ⁻¹	Eficácia de 100% para <i>H. contortus</i> , <i>T. vitrinus</i> e <i>T. circumcincta</i>	Brasil	Minho (2006)
<i>Acacia nilotica</i>	NC	Folhas	<i>In vivo</i>	Caprino	40% da ração diária	Redução de 10% para <i>H. contortus</i>	Zimbabwe	Kahiya et al. (2003)
<i>Acacia nilotica</i>	NC	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	2 mg ml ⁻¹	Eficácia de 100% sobre ovos de <i>H. contortus</i>	Etiópia	Eguala et al. (2006)
<i>Albizia anthelmintica</i>	NC	Raiz	<i>In vivo</i>	Ovino	330 mg ml ⁻¹	Redução de 34% para <i>H. contortus</i>	Kênia	Githiori et al. (2003)
<i>Albizia anthelmintica</i>	NC	Raiz	<i>In vivo</i>	Ovino	83 mg ml ⁻¹	Eficácia de 89,8% para Trichostrongilídeos	Kênia	Gathuma et al. (2004)
<i>Allium sativum</i>	Alho	Bulbo	<i>In vitro</i>	Caprino	1g kg ⁻¹ de peso corporal	Não foi eficaz contra Trichostrongilídeos	Brasil	Batatinha et al. (2004)
<i>Ananas comosus</i>	Abacaxi	Enzima	<i>In vitro</i>	Ovino	10 mg ml ⁻¹	Eficácia de 88% contra <i>H. contortus</i>	Suíça	Hordegen et al. (2006)
<i>Annona senegalensis</i>	NC	Hastes	<i>In vitro</i>	Ovino	7,1 mg ml ⁻¹	Eficácia de 88,5% contra <i>H. contortus</i>	Nigéria	Alawa et al. (2003)
<i>Artemisia brevifolia</i>	Artemísia	Parte aérea	<i>In vitro</i> e <i>In vivo</i>	Ovino	3 g kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 67% contra <i>H. contortus</i>	Paquistão	Iqbal et al. (2004)
<i>Aster lanceolatus</i>	Aster	Flores, caules e folhas	<i>In vitro</i>	Ovino	0,0785 e 0,0475 g ml ⁻¹	Eficácia de 96% para trichostrongilídeos	Brasil	Krychak-Furtado (2006)
<i>Azadirachta indica</i>	Nim indiano	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	10 mg ml ⁻¹	Eficácia de 93% contra <i>H. contortus</i>	Suíça	Hordegen et al. (2006)

⁴ Não Consta

continua

<i>Azadirachta indica</i>	Nim indiano	Folhas	<i>In vivo</i>	Ovino	0,2 g kg ⁻¹ p.c.	Não foi eficaz contra <i>H. contortus</i> e <i>C. curticei</i>	Brasil	Costa et al. (2006)
<i>Butea monosperma</i>	NC ⁵	Sementes	<i>In vivo</i>	Ovino	3 g kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 78,4% para trichostrongilídeos	Paquistão	Iqbal et al. (2006)
<i>Caesalpinia crista</i>	NC	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	10 mg ml ⁻¹	Eficácia de 92,1% contra <i>H. contortus</i>	Suíça	Hordegen et al. (2006)
<i>Calotropis procera</i>	Vaqueta	latex	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	0,02 ml kg ⁻¹	Eficácia de 100% sobre larvas de <i>H. contortus</i>	Arábia Saudita	Al-Qarawi et al. (2001)
<i>Calotropis procera</i>	Vaqueta	Flores	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	3 g kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 88,4% contra <i>H. contortus</i>	Paquistão	Iqbal et al. (2005)
<i>Carica papaya</i>	Mamão	Sementes	<i>In vivo</i>	Caprino	2 g kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 32,2% contra <i>H. contortus</i>	Brasil	Vieira et al. (1999)
<i>Carica papaya</i>	Mamão	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	4,5 mg ml ⁻¹	Não foi eficaz contra trichostrongilídeos	Brasil	Krychak-Furtado et al. (2005)
<i>Chenopodium ambrosioides</i>	Mastruz	Óleo essencial e folhas	<i>In vitro</i>	Caprino	3,33 µl ml ⁻¹	Inviabilizou 100% das larvas de <i>H. contortus</i>	EUA	Ketzis et al. (2002)
<i>Chicorium intybus</i>	Chicória	Folhas	<i>In vivo</i>	Ovino	NC	Não foi eficaz contra <i>T. colubriformes</i>	Reino Unido	Athanasiadou et al. (2005)
<i>Chicorium intybus</i>	Chicória	Folhas	<i>In vivo</i>	Ovino	NC	Não foi eficaz contra nematoides de ovinos	Reino Unido	Marley et al. (2003)
<i>Chicorium intybus</i>	Chicória	Folhas	<i>In vivo</i>	Ovino	3 g TC kg ⁻¹ matéria seca	Redução de 89% no OPG para <i>H. contortus</i>	Suíça	Heckendorn et al. (2007)
<i>Coriandrum sativum</i>	Coentro	Sementes	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	0,5 mg ml ⁻¹	Eficácia de 100% contra <i>H. contortus</i>	Etiopia	Egual et al. (2007)
<i>Croton macrostachyus</i>	NC	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	2 mg ml ⁻¹	Inibiu 100% da eclosão de ovos de <i>H. contortus</i>	Etiopia	Egual et al. (2006)
<i>Croton zehntneri</i>	Canelinha	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,62 mg ml ⁻¹	Eficácia de 58% contra <i>H. contortus</i>	Brasil	Vasconcelos (2006)
<i>Croton zehntneri</i>	Canelinha	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	1,25 mg ml ⁻¹	Eficácia de 99% contra <i>H. contortus</i>	Brasil	Camurça-Vasconcelos (2007)

⁵ Não Consta

<i>Cymbopogon citratus</i>	Capim-santo	Folhas	<i>In vitro</i>	Caprino	224 mg ml ⁻¹	Eficácia de 97% em larvas de <i>H. contortus</i>	Brasil	Almeida et al. (2003)
<i>Dicksonia sellowiana</i>	Xaxim	Folhas, caules e tronco	<i>In vitro e In vivo</i>	Ovino	0,1292 g ml ⁻¹	Eficácia de 100% <i>in vitro</i> e 86,59% <i>in vivo</i> sobre trichostrongilídeos	Brasil	Krychak-Furtado, (2006)
<i>Digitaria insularis</i>	Capim-açu	Folhas	<i>In vitro</i>	Caprino	355 mg ml ⁻¹	Eficácia de 99% sobre larvas de <i>H. contortus</i>	Brasil	Almeida et al. (2003)
<i>Ekebergia capensis</i>	NC ⁶	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	2 mg ml ⁻¹	Inibiu 100% da eclosão de ovos de <i>H. contortus</i>	Etiópia	Egualé et al. (2006)
<i>Embelia ribes</i>	NC	Fruto	<i>In vitro</i>	Ovino	10 mg ml ⁻¹	Eficácia de 85% em larvas de <i>H. contortus</i>	Suíça	Hordegen et al. (2006)
<i>Fumaria parviflora</i>	NC	Toda planta	<i>In vitro</i>	Ovino	10 mg ml ⁻¹	Eficácia de 74% em larvas de <i>H. contortus</i>	Suíça	Hordegen et al. (2006)
<i>Genipa americana</i>	Jenipapo	Folhas	<i>In vitro</i>	Ovino	0,0501 g ml ⁻¹	Eficácia de 100% ovos de trichostrongilídeos	Brasil	Krychak-Furtado (2006)
<i>Halothamnus somalensis</i>	NC	Raiz	<i>In vivo</i>	Caprino	2 g kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 50% para nematoides de caprinos	Etiópia	Dawo e Tibbo (2005)
<i>Hedysarium coronarium</i>	Sulla	FORAGEM	<i>In vivo</i>	Ovino	NC	Não foi eficaz contra <i>T. colubriformes</i>	Reino Unido	Athanasiadou et al. (2005)
<i>Hilderbrandtia sepalosa</i>	NC	Raiz	<i>In vivo</i>	Ovino	128 mg ml ⁻¹	Eficácia de 90% sobre trichostrongilídeos.	Kenia	Gathuma et al. (2004)
<i>Khaya senegalensis</i>	NC	Casca	<i>In vitro e In vivo</i>	Ovino	500 mg kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 71% sobre <i>H. contortus</i>	Nigéria	Ademola et al. (2004)
<i>Lespedeza cuneata</i>	NC	FORAGEM	<i>In vivo</i>	Caprino	46 g TC kg ⁻¹ Matéria Seca	Redução de 42% no OPG (<i>H. contortus</i>)	EUA	Min et al. (2004)
<i>Lespedeza cuneata</i>	NC	FORAGEM	<i>In vivo</i>	Ovino	3,6% TC na forragem	Redução de 98% do OPG de <i>H. contortus</i>	EUA	Lange et al. (2006)
<i>Lippia sidoides</i>	Alecrim-pimenta	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	1,25 mg ml ⁻¹	Redução de 98% no OPG de <i>H. contortus</i>	Brasil	Camurça-Vasconcelos et al. (2007)
<i>Lippia sidoides</i>	Alecrim-pimenta	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,62 mg ml ⁻¹	Redução de 94,8% no OPG de <i>H. contortus</i>	Brasil	Vasconcelos (2006)
<i>Lotus corniculatus</i>	NC	FORAGEM	<i>In vivo</i>	Ovino	15,2g TC kg ⁻¹ MS	Redução de 63% no OPG para <i>H. contortus</i>	Suíça	Heckendorn et al. (2007)

⁶ Não Conta

<i>Lotus corniculatus</i>	NC	Forragem	<i>In vivo</i>	Ovino	NC	Reduziu 9% das larvas de nematoides de ovinos	Reino Unido	Marley et al. (2003)
<i>Lotus pedunculatos</i>	Lotus	Forragem	<i>In vivo</i>	Ovino	NC	Não foi eficaz contra <i>T. colubriformes</i>	Reino Unido	Athanasiadou et al. (2005)
<i>Mangifera indica</i>	Manga	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	50 mg ml ⁻¹	Redução de 95,66% no OPG (<i>H. contortus</i>)	Brasil	Costa et al. (2002)
<i>Melia azedarach</i>	Lírio	Folhas e sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	50 mg ml ⁻¹	Eficácia de 100% sobre ovos de <i>H. contortus</i>	Brasil	Maciel et al. (2006)
<i>Melia azedarach</i>	Lírio	Frutos	<i>In vivo</i>	Caprino	2 g kg ⁻¹ p.c.	Redução de 59% no OPG nematoides de ovinos	Brasil	Girão et al. (1998)
<i>Melochia villosa</i>	Coraçãozinho	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,01 g ml ⁻¹	Eficácia de 91% em ovos de trichostrongilídeos	Brasil	Krychak-Furtado (2006)
<i>Momordica charantia</i>	Melão de São Caetano	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,101 mg ml ⁻¹	Redução de 50% no OPG (<i>H. contortus</i>)	Brasil	Batista et al. (1999)
<i>Musa paradisiaca</i>	Bananeira	Latex e flores	<i>In vitro</i>	Ovino	0,15 mg ml ⁻¹	Não foi eficaz contra trichostrongilídeos	Brasil	Krychak-Furtado et al. (2005)
<i>Musa sp</i>	Bananeira	Folhas	<i>In vivo</i>	Caprino	NC	Reduziu 70,4% de <i>Oesophagostomum sp.</i>	Brasil	Oliveira et al. (1997)
<i>Myrsine africana</i>	Tamujo	Folhas e frutos	<i>In vitro</i>	Ovino	24 mg ml ⁻¹	Redução de 77% no OPG de nematoides de ovinos	Kênia	Gathuma et al. (2004)
<i>Myrsine africana</i>	Tamujo	Folhas e frutos	<i>In vitro</i>	Ovino	125 e 50g por animal	Não foi eficaz contra <i>H. contortus</i>	Kênia	Ghitiori et al. (2002)
<i>Nauclea latifolia</i>	NC ⁷	Casca	<i>In vivo</i>	Ovino	1600 mg kg ⁻¹ p.c.	Reduziu 93% no OPG de nematoides de ovinos	Nigéria	Onyeyili et al. (2001)
<i>Nauclea latifolia</i>	NC	Folhas	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	500 mg kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 100% para Trichostrongilídeos	Nigéria	Ademola et al. (2007)
<i>Ocimum gratissimum</i>	Alfavaca	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	Diluição de 0,5%	Eficácia de 100% sobre ovos de <i>H. contortus</i>	Brasil	Pessoa et al. (2002)
<i>Onobrychis viciifolia</i>	NC	Forragem	<i>In vivo</i>	Ovino	26,1g TC kg ⁻¹ MS	Redução de 35% no OPG de <i>H. contortus</i>	Suíça	Heckendorn et al. (2007)
<i>Onobrychis viciifolia</i>	NC	Forragem	<i>In vivo</i>	Ovino	NC	Não foi eficaz contra <i>H. contortus</i>	Reino Unido	Athanasiadou et al. (2005)

⁷ Não consta

<i>Oryza latifolia</i>	Capim arroz	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,103 g ml ⁻¹	Eficácia de 96% em ovos de <i>H. contortus</i>	Brasil	Krychak-Furtado, (2006)
<i>Pavonia angustifolia</i>	Roseira do brejo	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,101 g ml ⁻¹	Eficácia de 97% sobre ovos de <i>H. contortus</i>	Brasil	Krychak-Furtado, (2006)
<i>Peltophorum africanum</i>	NC ⁸	Folha, caule e raiz	<i>In vitro</i>	Ovino	25 mg ml ⁻¹	Inibiu 100% a eclosão e desenvolvimento larval	África do Sul	Bizimenyera et al. (2006)
<i>Petiveria alliacea</i>	Guiné	Folhas	<i>In vitro</i>	Ovino	0,0146 g ml ⁻¹	Eficácia de 99,8% em ovos de <i>H. contortus</i>	Brasil	Krychak-Furtado, (2006)
<i>Picrolemma sprucei</i>	Caferana	Caules e raízes	<i>In vitro</i>	Ovino	1,3 g l ⁻¹	Eficácia de 85% sobre larvas de <i>H. contortus</i>	Brasil	Nunomura et al. (2006)
<i>Piliostigma thonningii</i>	Muçaqueça	Caule	<i>In vitro</i>	Ovino	4,4 mg ml ⁻¹	Paralisia de 60% em larvas de <i>H. contortus</i>	Nigéria	Asuzu et al. (1999)
<i>Pterocaulon interruptum</i>	NC	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	3,8 g ml ⁻¹	Eficácia de 100% contra <i>H. contortus</i>	Brasil	Krychak-Furtado (2006)
<i>Rapanea melanophloeos</i>	NC	Frutos	<i>In vivo</i>	Ovino	50 g por animal	Não foi eficaz contra <i>H. contortus</i>	Kênia	Ghitori et al. (2002)
<i>Schinopsis sp</i>	Quebracho	casca	<i>In vivo</i>	Caprino	5% da MS da dieta	Reduziu 64% do OPG e 57% da fecundidade de <i>H. contortus</i>	França	Paolini et al. (2003)
<i>Schinopsis sp</i>	Quebracho	casca	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	Extrato comercial 73% de TC 50 mg ml ⁻¹	Reduziu 100% o OPG (<i>T. colubriformis</i> e <i>N. battus</i>)	Reino Unido	Athanasiadou et al. (2001)
<i>Spigelia anthelmia</i>	Erva lombrigueira	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino		Inibiu 100% o OPG de <i>H. contortus</i>	Brasil	Assis et al. (2003)
<i>Spigelia anthelmia</i>	Erva lombrigueira	Parte aérea	<i>In vitro</i>	Ovino	0,173 mg ml ⁻¹	Redução de 50% no OPG (<i>H. contortus</i>)	Brasil	Batista et al. (1999)
<i>Spigelia anthelmia</i>	Erva lombrigueira	Parte aérea	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	500 mg kg ⁻¹ p.c.	Eficácia de 100% para trichostrongilídeos e <i>Oesophagostomum</i> sp.	Nigéria	Ademola et al. (2007)
<i>Spondias mombin</i>	Cajá-manga	Folhas	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	500 mg kg ⁻¹ p.c.	Reduziu 65% do OPG de nematoides de ovinos	Nigéria	Ademola et al. (2005)
<i>Swertia chirata</i>	NC	Flores	<i>In vitro e in vivo</i>	Ovino	3 g kg ⁻¹ p.c.	Redução de 58,8% no OPG (<i>H. contortus</i>)	Paquistão	Iqbal et al. (2006)

⁸ Não Consta

<i>Trachyspermum ammi</i>	NC ⁹	Sementes	<i>In vivo</i>	Ovino	3 g kg ⁻¹ p.c.	Reduziu em 78% o OPG para nematoides de ovinos	Paquistão	Lateef et al. (2006)
<i>Trichilia pallida</i>	Pitomba	Folhas e sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	0,1722 g ml ⁻¹	Inibição de 99,81% sobre ovos de <i>H. contortus</i>	Brasil	Krychak-Furtado (2006)
<i>Vernonia amygdalina</i>	Mululu	Folhas	<i>In vitro</i>	Ovino	11,2 mg ml ⁻¹	Não foi eficaz contra <i>H. contortus</i>	Nigéria	Alawa et al. (2003)
<i>Vernonia anthelmintica</i>	NC	Sementes	<i>In vitro</i>	Ovino	10 mg ml ⁻¹	Eficácia de 65% sobre larvas de <i>H. contortus</i>	Suíça	Hordegen et al. (2006)
<i>Zanthoxylum zanthoxyloides</i>	Fagara	Folhas	<i>In vivo</i>	Ovino	4 g kg ⁻¹ p.c.	Reduziu 57,8% na excreção de ovos de <i>H. contortus</i>	França	Hounzangbe-Adote et al. (2005b)

⁹ Não consta

2.7 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo geral verificar a eficácia de extratos de plantas presentes no Norte de Minas Gerais para controle alternativo da helmintose ovina.

CAPÍTULO 2 - EFICÁCIA ANTI-HELMÍNTICA DE PLANTAS PRESENTES NO NORTE DE MINAS CONTRA TRICHOSTRONGILÍDEOS DE OVINOS

RESUMO

A rápida seleção de nematoides resistentes a anti-helmínticos tem limitado o sucesso do controle das helmintoses gastrintestinais de pequenos ruminantes em vários países, fomentando a busca de novas alternativas. Pesquisas utilizando extratos de plantas para esse controle têm demonstrado resultados promissores. O objetivo desse trabalho foi avaliar a atividade anti-helmíntica de diferentes plantas, frequentemente encontradas no Norte de Minas Gerais, Brasil, sobre trichostrongilídeos de ovinos. As espécies *Anacardium humile*, *Annona crassiflora*, *Campomanesia cambessedeana*, *Caryocar brasiliense*, *Genipa americana*, *Hancornia* spp., *Hymenaea stigonocarpa*, *Mangifera indica*, *Magonia pubescens* e *Tamarindus indica* foram avaliadas *in vitro* sobre o desenvolvimento larval de trichostrongilídeos de ovinos. Foram identificadas larvas dos gêneros *Haemonchus* (68%), *Strongyloides* (31%) e *Trichostrongylus* (1%) nas coproculturas dos grupos controle com água destilada. O extrato aquoso de sementes de *A. crassiflora*, panã, aquoso e etanólico de *Caryocar brasiliense*, pequi e os extratos etanólicos de *Genipa americana*, jenipapo e de frutos de *Mangifera indica* apresentaram eficácias (%) de 99,4; 99,8; 98,5; 100 e 100, respectivamente. Esses extratos não diferiram estatisticamente do grupo de coproculturas tratadas com ivermectina ($p < 0,01$). Os resultados obtidos neste estudo indicam o potencial anti-helmíntico promissor dessas quatro espécies vegetais, presentes no Norte de Minas, como uma possível alternativa aos anti-helmínticos sintéticos.

Palavras-chave: Plantas medicinais. Nematoides gastrintestinais - Controle. Ovinocultura. Coprocultura quantitativa.

CHAPTER 2 – ANTHELMINTIC EFFICACY OF PLANTS EXISTING IN THE NORTH OF MINAS GERAIS AGAINST SHEEP TRICHOSTRONGYLIDES

ABSTRACT

The quick selection of nematodes resistant to anthelmintics has reduced the success of gastrointestinal helminthiasis control in small ruminants in several countries, demanding the search of new alternative treatments. Researches using plant extracts for this control have demonstrated promising results. The aim of this work was to evaluate anthelmintic properties against sheep nematodes from different plant species frequently found in the North of Minas Gerais, Brazil. The species *Anacardium humile*, *Annona crassiflora*, *Campomanesia cambessedeanana*, *Caryocar brasiliense*, *Genipa americana*, *Hancornia* spp., *Hymenaea stigonocarpa*, *Mangifera indica*, *Magonia pubescens* and *Tamarindus indica* were tested *in vitro* on the larval development of sheep trichostrongylides. Larvae of *Haemonchus* (68%), *Strongyloides* (31%) e *Trichostrongylus* (1%) were identified in the coproculture of the control group with distilled water. The water extract of the seeds *A. crassiflora*, panã, aqueous and ethanolic extracts of *Caryocar brasiliense*, pequi and the ethanolic extracts of *Genipa americana*, genipap and fruit of *Mangifera indica* showed efficacy (%) of 99,4, 99,8, 98,5, 100 and 100 respectively. These extracts did not differ statistically from the coproculture group treated with ivermectin ($p < 0.01$). The results obtained in this study indicate the promising anthelmintic potential of these four vegetal species (*A. crassiflora*, *C. brasiliense*, *G. americana* and *M. indica*), present in the North Minas, as a possible alternative to synthetic anthelmintics.

Keywords: Medicinal plants. Gastrointestinal nematodes. Control. Sheep breeding. Quantitative coproculture.

INTRODUÇÃO

Dentre os problemas sanitários que acometem os ovinos, as helmintoses gastrintestinais têm se apresentado como uma das principais causas de redução da produtividade dos rebanhos (PINHEIRO *et al.*, 2000). A maioria das perdas associadas às infecções parasitárias é devido ao aumento na mortalidade e à redução na taxa de crescimento e na produtividade desses animais (GITHIORI *et al.*, 2002).

Um dos mais importantes problemas do controle de parasitoses é o desenvolvimento de populações resistentes a anti-helmínticos, pois o controle dos nematoides é feito basicamente pela utilização de anti-helmínticos sintéticos. Além disso, as bases para tratamento disponíveis no mercado possuem algumas limitações, tais como: alto custo, possibilidade de resíduos nos alimentos e risco de poluição ambiental (HERD, 1996; WALLER, 1997). A combinação desses fatores estimulou a busca de novas estratégias para o controle da verminose. Dentre essas, antiparasitários produzidos a partir de plantas que podem oferecer uma alternativa para minimizar alguns desses problemas (ADEMOLA *et al.*, 2007a; IQBAL *et al.*, 2006a).

O Cerrado é um dos mais importantes biomas do país, ocupando 22% do território nacional. Possui muitos tipos fisionômicos de vegetação e uma grande biodiversidade. Entretanto, é nessa área que se encontram os maiores produtores de grãos, de celulose e de carne bovina do país. Em consequência desse apelo econômico, boa parte da vegetação nativa foi derrubada, existindo, hoje, poucas unidades de conservação (POZO, 1997).

A conservação da biodiversidade passa pelo conhecimento científico de cada espécie e testes *in vitro* com extratos de plantas, presentes na região do Norte de Minas, possivelmente, permitirão uma avaliação preliminar da existência de propriedades anti-helmínticas nesses materiais. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar a eficácia de extratos de *Anacardium humile*, *Annona crassiflora*, *Campomanesia cambessedeanana*, *Caryocar brasiliense*, *Genipa americana*, *Hancornia speciosa*, *Hymenaea stigonocarpa*, *Magonia pubescens*, *Mangifera indica* e *Tamarindus indica* na inibição do desenvolvimento larval de trichostrongilídeos de ovinos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Escolha e amostragem das espécies botânicas utilizadas

O critério para a escolha das espécies a serem testadas incluiu plantas referenciadas como possuidoras de atividade antiparasitária e a disponibilidade e/ou facilidade de obtenção na região. Optou-se também pela realização de testes buscando atividade anti-helmíntica em plantas nativas que não apresentavam indicação antiparasitária, mas que produziam frutos comestíveis como possível forma de agregar valor, aumentando o aproveitamento da espécie.

As plantas selecionadas foram coletadas no Instituto de Ciências Agrárias da UFMG e na comunidade rural do Planalto (16°55'18" S e 43°52'11" O), no município de Montes Claros, Norte de Minas Gerais, de acordo com sua distribuição natural e disponibilidade local. A identificação do material coletado seguiu os padrões da taxonomia clássica com consulta a Lorenzi (1998) e a Almeida *et al.* (1998).

2.2 Obtenção dos Extratos

As amostras dos vegetais coletados foram minuciosamente vistoriadas e os materiais que apresentavam lesões macroscópicas ou deteriorações foram descartados. A metodologia de obtenção dos extratos foi adaptada de Krychak-Furtado (2006). Os materiais submetidos à dessecação em estufa com circulação forçada de ar, em temperatura de 40°C ± 5, até atingirem peso constante, foram triturados em moinho martelo, identificados e conservados à temperatura de aproximadamente 4°C. Ao todo foram preparados extratos de 10 espécies vegetais diferentes, entretanto em alguns casos foram obtidos dois extratos diferentes para uma mesma espécie e/ou duas partes vegetais da mesma espécie, totalizando 19 extratos avaliados (QUADRO 1).

QUADRO 1.

Nome científico e comum, locais e data de coleta, parte utilizada, método de extração e concentração final dos extratos das espécies vegetais presentes no Norte de Minas, avaliadas para atividade anti-helmíntica

Nome científico	Nome comum	Local/data	Parte utilizada	Método de extração	Concentração (mg ml ⁻¹)
<i>Anacardium humile</i>	Cajuzinho do Cerrado	Comunidade Planalto 06/11/07	Folhas	Aquosa e etanólica	100 e 200
<i>Annona crassiflora</i>	Panã	Comunidade Planalto 31/03/08	Folhas e Sementes	Aquosa	100
<i>Campomanesia cambessedeanana</i>	Gabirola	Comunidade Planalto 06/11/07	Folhas	Aquosa e etanólica	100 e 200
<i>Caryocar brasiliense</i>	Pequi	Comunidade Planalto 05/03/08	Epicarpo e mesocarpo externo	Aquosa e etanólica	100 e 200
<i>Genipa americana</i>	Jenipapo	Comunidade Planalto 11/02/08	Folhas	Aquosa e etanólica	100 e 200
<i>Hancornia</i> spp.	Mangaba	Comunidade Planalto 06/11/07	Folhas	Aquosa e etanólica	100 e 200
<i>Hymenaea stigonocarpa</i>	Jatobá	ICA/UFMG 31/03/08	Folhas	Aquosa	100
<i>Mangifera indica</i>	Manga	Comunidade Planalto 06/11/07	Folhas e Frutos verdes	Aquosa e etanólica	100 e 200
<i>Magonia pubescens</i>	Tingul	ICA/UFMG 31/03/08	Folhas	Aquosa	100
<i>Tamarindus indica</i>	Tamarindo	ICA/UFMG 31/03/08	Folhas	Aquosa	100

Os extratos aquosos foram produzidos, adicionando-se 100 ml de água destilada a 10 mg de cada material vegetal moído, sendo aquecidos em banho-maria a 60°C, durante 60 minutos. Após esse período, os extratos foram filtrados a quente em funil com gaze e utilizados na concentração 100 mg ml⁻¹.

Os extratos etanólicos foram obtidos submergindo os materiais vegetais em etanol PA. em recipientes de vidro âmbar, conservados em local escuro e seco por tempo superior a 7 dias. Após essa extração, foi realizada filtração em funil, com papel de filtro qualitativo. Os extratos foram levados à estufa de circulação forçada de ar a 40°C ± 5 até a obtenção de peso constante. Posteriormente, foram ressuspensos em água destilada estéril e utilizados na concentração de 200 mg ml⁻¹.

Realizaram-se todos os procedimentos de acordo com os princípios éticos na experimentação animal e aprovados pela Comissão de Ética de Experimentação Animal (CETEA – UFMG), sob Protocolo n°.042-2/08.

2.3 Avaliação *in vitro* da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos

2.3.1 Coleta de fezes e exames parasitológicos

Após a quantificação do OPG, utilizando solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e leitura no microscópio em câmara de *Mc-Master* (UENO E GONÇALVES, 1998), amostras de cinco a 10 gramas de fezes foram coletadas diretamente da ampola do reto de ovinos mestiços Santa Inês, naturalmente infectados e imediatamente transportadas ao laboratório de parasitologia do ICA/UFMG, em Montes Claros. Quatro ovinos com idade entre seis e dez meses, com contaminação parasitária superior a 500 ovos por grama de fezes (OPG) foram selecionados para a coleta de fezes. Esses animais foram criados na comunidade rural do Planalto, zona rural de Montes Claros e cedidos ao Instituto de Ciências Agrárias por um período de seis meses para a realização do trabalho.

A identificação dos principais gêneros de nematoides presentes nos animais selecionados foi realizada após a visualização microscópica de larvas de terceiro estágio. As coproculturas e a identificação dessas larvas foram realizadas segundo o método e as características descritas em Ueno e Gonçalves (1998).

2.3.2 Teste de inibição do desenvolvimento larval

Realizou-se teste de inibição do desenvolvimento larval entre os dias 09/04/08 e 24/06/08 pelo método descrito por Borges (2003), adaptado da técnica de coprocultura quantitativa, proposta por Ueno (1995).

Coletaram-se de cinco a 15 gramas de fezes frescas, diretamente da ampola retal de cada um dos animais selecionados. Após serem

transportadas ao Laboratório de Parasitologia do ICA/UFMG em Montes Claros, procedeu-se à homogeneização e amostras de dois gramas foram distribuídas em copos plásticos descartáveis, livres de contaminação parasitária. Posteriormente, 2 ml de cada extrato ou dos controles, positivo com ivermectina¹⁰ na concentração 16 µg ml⁻¹ e negativo água destilada estéril, foram adicionados às fezes.

As coproculturas foram agrupadas por tratamento e acondicionadas em caixas plásticas, mantidas à temperatura ambiente durante uma hora. Após esse período, em cada amostra adicionaram-se dois gramas de serragem lavada e esterilizada, homogeneizando-se o material. Posteriormente, cada amostra foi coberta com filme plástico, sendo efetuados pequenos orifícios para aeração dos cultivos. Para manter a umidade, as coproculturas foram revestidas com toalhas de papel umedecidas frequentemente. Os cultivos foram incubados em estufa BOD a 34°C, durante sete dias.

Para a leitura das coproculturas, o filme plástico foi removido e adicionou-se água destilada estéril até a borda dos copinhos. Cada cultivo foi coberto com uma placa de *Petri* estéril e virado bruscamente. Em seguida, foram adicionados 10 ml de água à placa para permitir a migração das larvas infectantes (L3) para fora dos copinhos. Após duas horas, os conteúdos das placas foram observados em microscópio estereoscópio e as larvas presentes coletadas em tubos de ensaio e armazenadas sob refrigeração a 4°C, até o momento da contagem e da identificação. A quantificação das larvas foi possível, utilizando-se uma câmara de *Sedgewick*, após a inativação das mesmas com lugol. O número total das larvas observadas foi então dividido por dois e o resultado expresso em larvas desenvolvidas por grama de fezes (LDPG).

2.4 Análise estatística

Os extratos foram avaliados em dois experimentos distintos, sendo que o primeiro contou com os seguintes tratamentos: extratos aquosos a 100 mg

¹⁰ Ranger LA, Vallée, Montes Claros, MG, Brasil.

$\text{m}\ell^{-1}$ de sementes de panã, folhas de panã, jatobá, tamarindo e tinguí, juntamente com os controles negativo, com água destilada e positivo, com ivermectina ($16 \mu\text{g m}\ell^{-1}$). Esse experimento contou com cinco repetições.

O segundo experimento foi constituído por 14 tratamentos compostos por extratos aquosos e etanólicos de frutos verdes de manga, folhas de manga, jenipapo, cajuzinho, gabioba, mangaba e cascas do fruto de pequi, completando-se os tratamentos com os controles negativo, com água destilada, positivo, com ivermectina ($16 \mu\text{g m}\ell^{-1}$) e quatro repetições.

A fórmula abaixo descrita, adaptada de Borges (2003), foi empregada na determinação da porcentagem de redução do número de larvas dos parasitas por grama de fezes:

$$\% \text{ Eficácia} = 100 - \frac{(\text{LDPG do grupo tratado} \times 100)}{\text{LDPG do grupo controle}}$$

Para análise estatística, o número de LDPG foi transformado por meio da equação $Y = \log (y+1)$, submetido à análise de variância e comparado, utilizando-se o teste de Scott-Knott, sendo considerado o nível de significância de até 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No primeiro experimento em que se avaliou a atividade dos extratos aquosos de tamarindo, tinguí, jatobá, folhas e sementes de panã sobre o desenvolvimento de larvas de trichostrongilídeos, somente os extratos obtidos a partir do panã apresentaram eficácia expressiva, de acordo com a *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP). O tratamento dos cultivos de larvas com extrato de sementes e folhas dessa planta apresentou 99,43% e 89,81% de eficácia anti-helmíntica, respectivamente. Na FIG. 1, estão apresentados os valores médios de larvas viáveis por grama de fezes encontradas nos respectivos tratamentos avaliados:

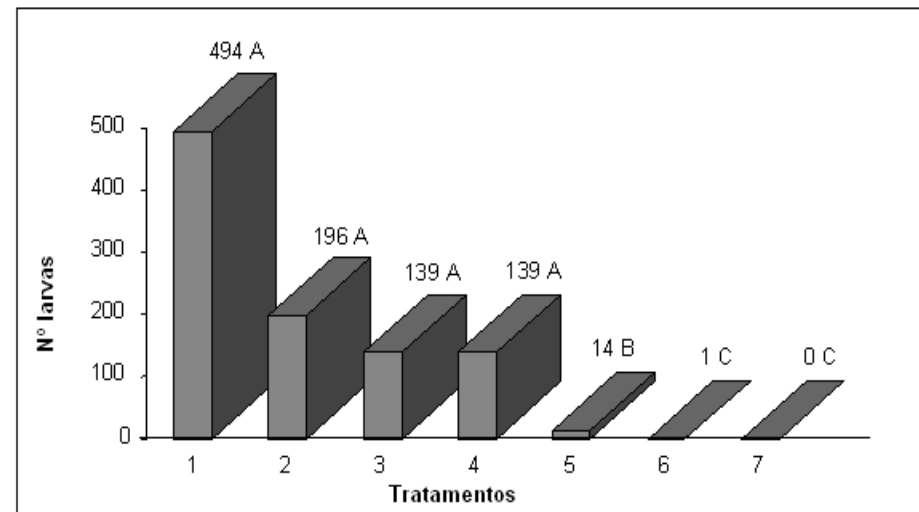


FIGURA 1 - Valores médios de larvas viáveis de trichostrongilídeos por grama de fezes de ovinos submetidos aos tratamentos 1-tamarindo, 2-tinguí, 3-jatobá, 4-água, 5-panã (folha), 6-panã (semente), 7-ivermectina. Mesmas letras não diferem estatisticamente entre si pelo teste de médias Scott-Knott, até 5% de probabilidade

Segundo a classificação do índice de eficácia proposto pela WAAVP, um produto seria efetivo quando promovesse acima de 90% de ação anti-helmíntica; moderadamente efetivo quando atuasse entre 80 a 90%; pouco efetivo quando a ação fosse entre 60 e 80% e não efetivo em níveis abaixo de 60% (POWERS *et al.*, 1982).

Neste estudo, os extratos das folhas e sementes de panã diferiram estatisticamente do controle negativo, demonstrando efeito anti-helmíntico. O extrato da semente dessa planta demonstrou atividade anti-helmíntica similar ao do controle com ivermectina (16 µg mL⁻¹) (p<0,01).

De forma semelhante ao obtido neste estudo, Eguale *et al.* (2006) observaram inibição total da eclosão de ovos tratados com extratos aquosos de sementes de *Acacia nilotica*, *Croton macrostachyus* e *Ekebergia capensis*. Hordegen *et al.* (2006) obtiveram 93 e 92% de eficácia anti-helmíntica para *H. contortus*, com extrato etanólico de sementes de *Azadirachta indica* e *Caesalpinia crista*, respectivamente.

A família Annonaceae, à qual pertence o panã, apresenta propriedades citotóxica, antitumoral, antibactericida, antifúngica (LEBOEUF *et al.*, 1982), e anti-helmíntica (DURET *et al.* 1998). Alawa *et al.* (2003), utilizando coproculturas tratadas com extrato aquoso de cascas de *Annona senegalensis*, observaram 92% de redução de larvas na concentração de 7,5 mg mL⁻¹. Souza *et al.* (2008) avaliaram o efeito dos extratos e de uma acetogenina isolada de sementes de *Annona squamosa* sobre a eclosão de ovos de *H. contortus*. Na concentração 25 mg mL⁻¹, o extrato acetato de etila e a acetogenina inibiram 100% da eclosão dos ovos, entretanto a eficácia do extrato aquoso foi de 52%.

O extrato aquoso de sementes de *A. crassiflora* (panã), obtido nas condições deste estudo foi significativamente eficaz na concentração de 100 mg mL⁻¹, diferentemente dos resultados obtidos por Souza *et al.* (2008). Entretanto, esses autores utilizaram o extrato aquoso de outra espécie do mesmo gênero. A atividade anti-helmíntica dos vegetais do gênero *Annona*, até agora estudados, poderia estar relacionada às acetogeninas, metabólitos secundários exclusivos da família Annonaceae (LIMA, 2007).

No segundo experimento, sete dos extratos avaliados diferiram estatisticamente do controle negativo (TAB. 1). Ambos os extratos de pequi se igualaram estatisticamente ao anti-helmíntico convencional, diferentemente dos demais extratos. Esse resultado poderia ser atribuído ao elevado teor e efeito sinérgico dos metabólitos responsáveis pela ação anti-helmíntica nessa espécie vegetal.

As maiores eficácias anti-helmínticas foram observadas com a utilização dos extratos etanólicos de jenipapo, de pequi, de frutos imaturos de manga e também com o extrato aquoso de pequi. Esses tratamentos foram similares ao controle positivo. Os extratos aquosos de gabirola, de jatobá, de tamarindo, de tingui e os extratos aquosos e etanólicos de mangaba não demonstraram efeito deletério sobre os vermes. Os extratos dessas plantas podem não conter compostos anti-helmínticos, contê-los em quantidade insuficiente ou atuarem como substrato para o desenvolvimento das larvas.

Nas coproculturas obtidas para os grupos controles negativos dos dois experimentos foram identificadas larvas dos gêneros *Haemonchus* (68%), *Strongyloides* (31%) e *Trichostrongylus* (1%). Esses dados sugerem que os extratos com atividades anti-helmínticas, observadas neste estudo, atuaram sobre esses três gêneros de nematoides, considerados os mais patogênicos e prevalentes para os rebanhos ovinos (URQUHART *et al.*, 1990).

TABELA 1

Valor médio de larvas por grama de fezes, desvio padrão, em coproculturas tratadas com extratos aquosos e etanólicos de *M. indica*, de *G. americana*, de *A. humile*, de *C. cambessedeani*, de *H. speciosa*, de *C. brasiliense* e suas eficácias

	Extrato aquoso		Extrato etanólico	
	Larvas viáveis	Eficácia (%)	Larvas viáveis	Eficácia (%)
Manga (folha)	71,1 ± 47,1 A	7,6	16,6 ± 15,8 B	78,4
Manga (fruto)	56,5 ± 19,8 A	26,6	0 ± 0,0 C	100
Jenipapo	29,6 ± 25,4 B	61,5	0 ± 0,0 C	100
Cajuzinho	70,4 ± 45,6 A	8,6	17,9 ± 15,7 B	76,8
Gabirola	117,6 ± 14,9 A	-52,7	48,0 ± 15,5 A	37,6
Mangaba	209,9 ± 177,3 A	-172,5	83,0 ± 6,4 A	-7,8
Pequi	0,1 ± 0,2 C	99,8	1,1 ± 2,2 C	98,5
Água	77 ± 15,5 A	-	77 ± 15,5 A	-
Ivermectina (16 µg mL ⁻¹)	0 ± 0,0 C	100	0 ± 0,0 C	100

Mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott até 5% de probabilidade.

A pesquisa por anti-helmínticos naturais se inicia pelos testes *in vitro*, empregando os extratos totais das plantas. Nesses testes, os extratos são colocados em contato com os ovos ou larvas do parasito para avaliar o efeito sobre a eclosão dos ovos ou o desenvolvimento larval (HAMMOND *et al.*, 1997). O presente trabalho utilizou uma metodologia diferente, que preconiza a mistura do extrato às fezes, ambiente natural para a incubação, a eclosão e o desenvolvimento das larvas. Buscou-se verificar a atividade de 19 extratos vegetais brutos, sendo doze extratos aquosos na concentração de 100 mg mL⁻¹ e sete etanólicos na concentração de 200 mg mL⁻¹ como meio de se fazer uma triagem do potencial anti-helmíntico de algumas das diferentes plantas disponíveis no meio rural do Norte de Minas, frente ao desenvolvimento de larvas de trichostrongilídeos de ovinos. Os extratos etanólicos de jenipapo, manga (fruto imaturo), pequi e os extratos aquosos de pequi e panã apresentaram eficácias anti-helmínticas compatíveis com aquelas preconizadas para produtos comerciais.

As eficácias obtidas neste trabalho corroboram outros estudos da literatura, envolvendo extratos do jenipapo e da manga. Krychak-Furtado (2006) utilizou o extrato hidroalcolólico de folhas de jenipapo. Por sua vez, Costa *et al.* (2002) avaliaram o efeito da fração etanólica do extrato hexânico de sementes de manga. Entretanto, os extratos foram avaliados quanto à capacidade de reduzir a eclosão de ovos e neste estudo conduzido no Norte de Minas foi utilizada uma metodologia alternativa, além da água como solvente, devido à facilidade de obtenção pelos produtores e aos baixos custos, além de não apresentar riscos toxicológicos às pessoas e ao meio ambiente.

Os resultados demonstraram que tanto o extrato aquoso quanto o etanólico da casca do pequi possuem atividade anti-helmíntica. Isto pode estar relacionado ao elevado número de compostos fenólicos presentes na composição química do extrato utilizado. O pequi é referenciado na literatura ainda por ser rico em taninos (PAULA-JUNIOR *et al.*, 2006). Esse composto possui capacidade de se complexar com proteínas, polissacarídeos, alcaloides e íons metálicos (SALUNKHE *et al.*, 1990). Na literatura científica, grande número de pesquisas tem relatado a redução do número de ovos de

nematoides em fezes de ovinos, alimentados com plantas taníferas, como, por exemplo, *Lespedeza cuneata*, *Lotus corniculatus* e *Cichorium intybus* (LANGE *et al.*, 2006; MARLEY *et al.*, 2003).

Os resultados obtidos para as espécies *A. crassiflora*, *C. brasiliense*, *G. americana* e *M. indica* podem sugerir que a utilização dessas plantas seja uma alternativa viável no controle das helmintoses gastrintestinais de ovinos. Na literatura científica, não se encontram registros de toxicidez sistêmica para a manga. Vieira (2007) não observou efeitos tóxicos do farelo de resíduos de manga e esse pode ser incluído na ração para frangos de corte até o nível de 5%. Além disso, a manga tem sido utilizada como conservante de alimentos devido às propriedades antioxidantes (KABUKI *et al.*, 2000).

O farelo da casca do pequi tem sido utilizado na alimentação animal sem evidências de ação toxigênica (RIBEIRO *et al.*, 2007). O fruto do jenipapeiro é utilizado para a alimentação humana, enquanto folhas e frutos são utilizados na alimentação animal (EPISTEIN, 2001). Estudos realizados por Roesler *et al.* (2006) demonstraram que os extratos etanólicos de sementes de panã apresentam ação antioxidante *in vitro* e sugerem a sua eventual aplicação como antioxidante natural.

4 CONCLUSÃO

Os extratos de semente de *A. crassiflora*, do farelo da casca de *C. brasiliense*, das folhas de *G. americana* e dos frutos imaturos de *M. indica* apresentaram eficácia anti-helmíntica de 99,43%, 99,8%, 100% e 100%, respectivamente.

Esses resultados representam alternativas promissoras para o controle das helmintoses de ovinos, que poderão ser confirmadas após a determinação das dosagens adequadas, testes de toxicidade e avaliações *in vivo*, para a obtenção de anti-helmínticos naturais, de fácil aquisição, baixo custo e com menores impactos ambientais negativos.

CAPÍTULO 3 - *Mangifera indica* COMO ANTI-HELMÍNTICO NO CONTROLE DA HELMINTOSE OVINA**RESUMO**

O rápido desenvolvimento de resistência a anti-helmínticos, associado ao alto custo das drogas disponíveis, tem limitado o sucesso do controle das helmintoses gastrintestinais de pequenos ruminantes, contribuindo com a inviabilização de criatórios em diferentes continentes. Uma das alternativas promissoras, sugerida na literatura científica, tem sido a utilização de extratos de plantas como fontes de anti-helmínticos. Extratos aquosos de folhas e de frutos de *Mangifera indica* var. Ubá foram avaliados *in vitro*, por meio do teste de inibição do desenvolvimento larval. Posteriormente, o extrato aquoso dos frutos frescos foi avaliado *in vivo* pelo teste de redução da contagem de ovos nas fezes de ovinos naturalmente infectados. Nas análises fitoquímicas, os principais metabólitos secundários identificados nos extratos obtidos foram taninos e flavonoides. Na concentração de 100 mg mL⁻¹, os extratos de folhas e de frutos de *M. indica* demonstraram 88,7 e 100% de inibição do desenvolvimento larval, respectivamente. *In vivo*, identificou-se que 99,8% das larvas eram *Haemonchus* spp. e a eficácia de redução de ovos de helmintos nas fezes foi de 52,9%. Os resultados *in vitro* e *in vivo* demonstraram a aplicabilidade desse vegetal no controle de nematoides em ovinos. Entretanto, estudos futuros devem ser realizados para a verificação das melhores estratégias de utilização nos diferentes sistemas de produção.

Palavras-chave: *Mangifera indica*. Extrato vegetal. Anti-helmíntico. Ovinos - Norte de Minas.

**CHAPTER 3 - *Mangifera indica* AS ANTHELMINTIC TO SHEEP
HELMINTHIASIS CONTROL****ABSTRACT**

The quick development of resistance to anthelmintics associated with the high cost of available drugs has limited the success over the control of gastrointestinal helminthiasis in small ruminants, often contributing to failure of animal breeding in different continents. One of the promising alternatives suggested in the scientific literature is the use plant extracts as a source of anthelmintics. Aqueous extracts of leaves and fruit of *Mangifera indica* var. Ubá were evaluated in vitro through the test of inhibition of the larval development. Later, the fresh fruit aqueous extract was tested in vivo through the fecal egg-count reduction test in naturally infected sheep. In the Phytochemical analyses, the main secondary metabolites identified in the obtained extracts were tannins and flavonoids. In the concentration of 100 mg mL⁻¹, the leaves' and fruit extracts of *M. indica* showed 88,7% and 100% of inhibition in the larval development, respectively. In vivo test demonstrated that 99,8% of the larvae were *Haemonchus* spp. and the efficacy of helminthiasis egg reduction in the feces was 52,9%. In vitro and in vivo results showed that this plant could help control sheep nematodes. However, future studies have to be conducted to verify other strategies in the use of different production systems.

Keywords: *Mangifera indica*. Plant extract. Anthelmintic. Sheep. North of Minas Gerais.

1 INTRODUÇÃO

Pesquisas para a descoberta de novas substâncias que possam ser empregadas no manejo integrado de doenças, têm sido extremamente importantes pela procura em reduzir efeitos negativos sobre o meio ambiente. A utilização de plantas medicinais no controle da verminose pode reduzir o custo com a aquisição de anti-helmínticos, retardar o aparecimento de cepas de nematoides resistentes e reduzir a contaminação de produtos de origem animal com produtos químicos (KRYCHAK-FURTADO, 2006).

Mangifera indica L. (Anacardiaceae) é uma planta originária da Índia, conhecida popularmente como manga. Atualmente difundida em várias regiões tropicais e subtropicais, possui um dos frutos mais populares no mundo (LAKSHMINARAYANA *et al.*, 1983). A variedade Ubá possui fruto pequeno, pesando de 100 a 150g, de formato oval, com aproximadamente 13% de casca. A polpa desse é firme, saborosa e succulenta, o que tem motivado grande interesse comercial sobre essa fruta (RAMOS *et al.*, 2005).

O Nordeste brasileiro e o Norte de Minas Gerais são tradicionais produtores de mangas, possuindo condições climáticas ideais para o cultivo da mangueira. Além disso, essa planta é comumente encontrada em pomares comerciais ou de subsistência (ALBUQUERQUE; ANDRADE, 2002).

A manga tem sido recomendada no tratamento das bronquites crônicas e outras alterações como disenteria e hemorragias intestinais. Tem apresentado ainda atividade diurética e estimulante da função láctea. As folhas são adstringentes e as sementes possuem propriedades anti-helmínticas (BRAGA, 2001). É ainda uma das plantas ricas em vitamina C, nutriente importante para tratar ou prevenir o escorbuto (CARDELLO; CARDELLO, 1998).

As helmintoses gastrintestinais constituem um dos principais fatores limitantes para a ovinocultura, ocasionando declínio da produção de carne, leite ou lã, menor número de crias, baixo desenvolvimento dos cordeiros e maiores gastos com medicamentos, equipamentos e assistência especializada (MACEDO, 2007). Para o controle dos helmintos, empregam-

se anti-helmínticos sintéticos, entretanto o seu uso indiscriminado tem favorecido a seleção de cepas de nematoides resistentes, além da poluição ambiental e do acúmulo de resíduos nos alimentos (WALLER, 1997)

Desde os primeiros relatos de resistência aos anti-helmínticos, esse fenômeno deixou de ser curiosidade e deu origem a crises em alguns setores da atividade pecuária. Esses fatos têm sido especialmente relatados nas criações de pequenos ruminantes das regiões tropicais e subtropicais da América do Sul, onde há registros de nematoides resistentes a todos os grupos de anti-helmínticos de amplo espectro atualmente disponíveis (WALLER, 1997).

A validação científica das plantas medicinais é uma etapa inicial obrigatória para a utilização correta das mesmas ou de seus princípios ativos. Esses compostos são substâncias com propriedades biológicas, farmacêuticas ou terapêuticas potencialmente aplicáveis na prática clínica. Desse modo, este trabalho buscou avaliar a eficácia anti-helmíntica de extratos aquosos de frutos imaturos e folhas de *Mangifera indica* para o controle de nematoides gastrintestinais de ovinos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos na experimentação animal e aprovados pela Comissão de Ética de Experimentação Animal (CETEA – UFMG), sob Protocolo n°.042-2/08.

2.1 Experimento 1 - Frutos imaturos e folhas de *M. indica*: extrato aquoso a quente

2.1.1 Coleta do material vegetal

A coleta foi única, realizada em novembro de 2007, na comunidade rural do Planalto (16°55'18" de latitude e 43°52'11" de longitude), localizada a 25 km do centro de Montes Claros, no Norte de Minas Gerais. Frutos imaturos e folhas de *Mangifera indica* var. Ubá foram coletados manualmente de uma única árvore no período da manhã. Os frutos foram considerados imaturos pela coloração verde do pericarpo e peso abaixo de 90g. A variedade Ubá foi selecionada, por estar em frequência nessa região.

2.1.2 Obtenção dos extratos

Após a coleta, os frutos e folhas foram minuciosamente vistoriados e os materiais que apresentavam lesões ou deteriorações foram descartados. A metodologia de obtenção dos extratos foi adaptada de Krychak-Furtado (2006). Os frutos foram cortados com o auxílio de uma ferramenta cortante e, juntamente com as folhas, foram secos em estufa com circulação forçada de ar (Tecnal, TE-394/3), à temperatura de 40°C ± 5 até peso constante. Posteriormente, foram moídos e armazenados em temperatura de aproximadamente 4°C.

Para o preparo dos extratos, o material vegetal foi pesado e acrescido de água destilada e incubado em banho-maria a 60°C, por 60 minutos. Após esse tempo, foi realizada filtração em funil com gaze.

Para a comparação do efeito anti-helmíntico, ambos os extratos vegetais foram obtidos na concentração de 250 mg mL⁻¹ e, posteriormente, diluídos em água destilada estéril para as concentrações de 200, 150, 100 e 50 mg mL⁻¹. Além dessas cinco concentrações, o experimento contou com o controle negativo, com água destilada estéril e o controle positivo, com ivermectina,¹¹ na concentração 16 µg mL⁻¹. Cada tratamento e cada controle contaram com quatro repetições.

2.1.3 Avaliação *in vitro* da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos

Após a quantificação dos ovos por grama de fezes (OPG), utilizando solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e leitura no microscópio em câmara de *Mc-Master* (UENO e GONÇALVES, 1998), foram selecionados quatro ovinos mestiços Santa Inês, com idade entre seis e dez meses, naturalmente infectados, com contaminação parasitária superior a 500 OPG.

O teste de inibição do desenvolvimento larval foi realizado no mês de fevereiro de 2008, pelo método descrito por Borges (2003), adaptado da técnica de coprocultura quantitativa, proposta por Ueno (1995).

Cinco a 15 gramas de fezes frescas, obtidas diretamente da ampola retal de cada um dos animais selecionados, foram transportadas ao Laboratório de Parasitologia do ICA/UFMG em Montes Claros, Norte de Minas Gerais. As fezes homogeneizadas foram distribuídas, por meio de amostras de dois gramas, em copos plásticos descartáveis, livres de contaminação parasitária. Posteriormente, 2 mL de cada extrato ou dos controles positivo, com uma solução contendo ivermectina na concentração 16 µg mL⁻¹, negativo, com água destilada estéril, foram adicionados às fezes, para os respectivos tratamentos.

¹¹ Ranger LA, Vallée, Montes Claros, MG, Brasil

2.2 Experimento 2 – Frutos imaturos de *M. indica*: extrato aquoso a frio

2.2.1 Coleta do material vegetal

A coleta foi única, realizada em outubro de 2008 no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais (16°44'06" de latitude e 43°51'42" de longitude) em Montes Claros, no Norte de Minas Gerais. Frutos imaturos de *Mangifera indica* var. Ubá foram coletados manualmente de duas árvores no período da manhã.

2.2.2 Obtenção dos extratos

Os frutos frescos foram cortados, acrescidos de água destilada, liquidificados e peneirados, obtendo-se um suco. Esse suco foi seco a uma temperatura de 105°C, para determinação do teor de extrativos. Para o teste *in vivo* foi utilizado o suco na concentração de 1000 mg de matéria verde mL⁻¹ e o teor de extrativos correspondeu a 74 mg mL⁻¹. Na avaliação do efeito anti-helmíntico *in vitro*, o suco foi diluído em água destilada para as concentrações 800, 600, 400, 200 e 100 mg mL⁻¹. Cada um desses tratamentos, juntamente com os controles negativo, com água destilada estéril e positivo, com levamisol¹² (0,2 mg mL⁻¹) foram realizados em cinco repetições.

2.2.3 Avaliação *in vitro* da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos

Foram selecionadas borregas mestiças Santa Inês x Dopper, com idade entre seis a dez meses, naturalmente infectadas e com contaminação parasitária superior a 500 ovos por grama de fezes (OPG). Esses animais foram selecionados após a quantificação do OPG, utilizando-se solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e leitura no microscópio em câmara de *Mc-Master* (UENO e GONÇALVES, 1998).

O teste de inibição do desenvolvimento larval foi realizado no mês de fevereiro de 2008 pelo método descrito por Borges (2003), adaptado da técnica de coprocultura quantitativa, proposta por Ueno (1995).

Fezes frescas, obtidas diretamente da ampola retal de cada um dos animais selecionados, foram transportadas ao Laboratório de Parasitologia do ICA/UFMG em Montes Claros, Norte de Minas Gerais. Após a homogeneização, amostras de dois gramas foram distribuídas em copos plásticos descartáveis, livres de contaminação parasitária. Posteriormente, 2 ml de cada extrato, dos controles positivo e negativo foram adicionados às fezes, para os respectivos tratamentos.

2.3 Experimento 3 – Frutos imaturos avaliados *in vivo*

2.3.1 Teste *in vivo* de redução da contagem de ovos nas fezes

Este experimento foi realizado em uma propriedade rural, localizada no município de Montes Claros, Norte de Minas Gerais, no mês de outubro de 2008. Os ovinos selecionados para o experimento permaneceram em um piquete e receberam cana de milho triturada, além de água e mistura mineral *ad libitum*.

Trinta ovinos mestiços Santa Inês, com peso médio de 18,5kg e com quatro a oito meses de idade foram amostrados. As fezes foram coletadas diretamente do reto nos dias zero e sete do experimento para contagem do OPG pela técnica de *Mc-Master* (UENO e GONÇALVES, 1998). Os animais selecionados apresentavam infecção natural por trichostrongilídeos e contaminação superior a 500 OPG e foram distribuídos em três grupos com idade e pesos homogêneos e identificados por colar. A administração das soluções foi realizada por via oral, com o auxílio de sonda esofágica, em dose única e de acordo com o peso corporal de cada animal. Dez animais receberam o extrato aquoso de frutos frescos de *M. indica* na dose 1 ml kg⁻¹ de peso corporal (p.c.), 10 animais foram tratados com albendazol¹² 10

¹² Ripercol*L Solução Oral, Fort Dodge, Campinas, SP, Brasil

¹³ Aladazol 10 Co – Vallée, Montes Claros, MG, Brasil

mg kg⁻¹ p.c., 10 animais não foram tratados e constituíram o grupo controle.

A identificação dos principais gêneros de nematoides presentes nos animais selecionados foi realizada após a visualização microscópica de larvas de terceiro estágio. As coproculturas e a identificação dessas larvas foram realizadas segundo o método e características descritas em Ueno e Gonçalves (1998).

2.4 Testes fitoquímicos

Os testes para a determinação dos principais metabólitos secundários presentes nos extratos de folhas e frutos de *M. indica* foram realizados de acordo com metodologia colorimétrica, proposta por Matos (1997). Para a realização dos testes, foram utilizadas alíquotas dos mesmos extratos, diluídos em água destilada.

2.5 Análises estatísticas

A fórmula abaixo descrita, adaptada de Borges (2003), foi empregada para a determinação da porcentagem de redução do número de larvas por grama de fezes:

$$\% \text{ Eficácia} = 100 - \frac{(\text{LDPG do grupo tratado} \times 100)}{\text{LDPG do grupo controle}}$$

Os resultados obtidos sofreram transformação logarítmica, $\text{Log}(x+1)$ e foram submetidos à análise de variância. No primeiro experimento, a análise foi feita no esquema fatorial 2X5 (duas partes vegetais e cinco concentrações). As médias foram comparadas pelo teste Scott-Knott até 5% de probabilidade. No segundo experimento, além da ANOVA, a dose letal 50% (DL_{50}) foi determinada por meio da análise *probit* do programa SAEG¹⁴.

2.5.1 Cálculo da porcentagem de redução de ovos nas fezes

A eficácia anti-helmíntica do extrato fresco foi estimada pela fórmula:

$$\%FECR = 100 \times \left(1 - \frac{T}{C}\right)$$

Onde T e C são a média de OPG dos grupos tratado e controle, respectivamente (COLES *et al.*, 1992).

¹⁴ Sistema para Análises Estatísticas

3 RESULTADOS

No experimento 1, os grupos tratados com frutos e folhas diferiram estatisticamente entre si pelo teste t de *Student* ao nível de 5% de probabilidade. Todas as concentrações avaliadas do extrato aquoso de frutos imaturos de manga apresentaram eficácia superior a 90% e se igualaram estatisticamente à ivermectina. Em contrapartida, todos os extratos de folhas diferiram estatisticamente da ivermectina e as concentrações 150 e 200 mg mℓ⁻¹ foram estatisticamente iguais à água. Os resultados da análise de variância e a porcentagem de eficácia dos extratos estão apresentados na TAB. 1:

TABELA 1

Número médio de larvas por grama de fezes em coproculturas tratadas com extrato aquoso de folhas e frutos verdes de manga e suas respectivas eficácias em reduzir o número de larvas viáveis

Concentração do extrato (mg mℓ ⁻¹)	Folha		Fruto	
	Larvas viáveis	Eficácia (%)	Larvas viáveis	Eficácia (%)
50	11,50 ± 09,6 Ba	90,05	4,0 ± 5,2 Ba	91,01
100	13,00 ± 15,6 Ba	88,76	0,0 ± 0,0 Bb	100
150	51,50 ± 39,6 Aa	55,47	0,0 ± 0,0 Bb	100
200	38,25 ± 23,6 Aa	66,93	0,0 ± 0,0 Bb	100
250	08,75 ± 09,2 Ba	92,43	0,0 ± 0,0 Bb	100
Água	44,50 ± 24,0 A	-	44,5 ± 24 A	-
Ivermectina (16 µg mℓ ⁻¹)	0,0 ± 0,0 C	100	0,0 ± 0,0 B	100

Mesmas letras maiúsculas nas colunas e minúsculas nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott até 5% de probabilidade.

Comparando as diferentes partes do vegetal, o tratamento com frutos foi melhor em todas as concentrações, exceto na menor (50 mg mℓ⁻¹), que não diferiu estatisticamente. Contudo ambas as eficácias nesta concentração dos extratos superiores a 90 %.

No segundo experimento, o extrato obtido a partir de frutos frescos de manga apresentou eficácia acima de 99% no teste de inibição do desenvolvimento larval na concentração 800 mg mL⁻¹. Nessa concentração, o extrato fresco foi estatisticamente semelhante ao anti-helmíntico comercial (p<0,05) (TAB. 2):

TABELA 2

Número médio de larvas por grama de fezes em coproculturas tratadas com extrato aquoso de frutos imaturos frescos de *Mangifera indica* e suas eficácias

Concentração do extrato (mg mL ⁻¹)	Larvas viáveis	Eficácia (%)
100	46,2 ± 43,1 A	51,7
200	48,5 ± 23,71A	48,4
400	14,2 ± 11,5 B	84,89
600	4,2 ± 3,7 C	95,53
800	0,6±1,3 D	99,36
Água	94±80,7 A	-
Levamisol (0,2 mg mL ⁻¹)	0±0,0 D	100

Mesmas letras não diferem estatisticamente pelo teste Scott-Knott até 5% de probabilidade.

Considerando a análise *probit* do Sistema de Análises Estatísticas (SAEG), as DL₅₀ e DL₉₀ do extrato de frutos frescos em matéria verde seriam 123,7 mg mL⁻¹ e 486,3 mg mL⁻¹, respectivamente.

A FIG 1 demonstra a probabilidade de sobrevivência de larvas de trichostrongilídeos de ovinos, em função de doses do extrato aquoso de frutos imaturos frescos de *M. indica*:

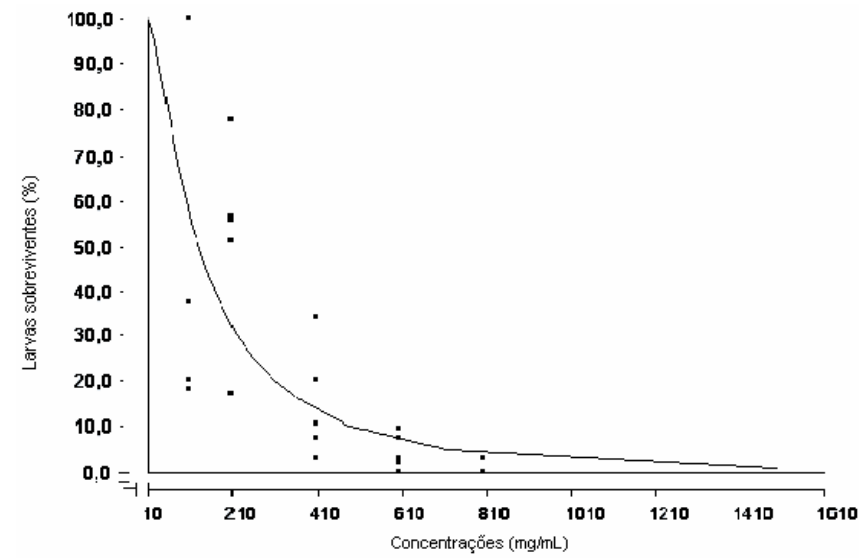


FIGURA 1 - Gráfico da atividade de *Mangifera indica* expressa em probabilidade de sobrevivência de larvas de trichostrongilídeos de ovinos, em contraste com diferentes dosagens do extrato aquoso de frutos imaturos frescos.

No teste *in vivo*, o suco do fruto fresco administrado na dose de 74 mg de matéria seca por quilograma de p.c. apresentou eficácia de 52,9%, para a redução da contagem de ovos nas fezes dos animais. As médias de OPG dos borregos dos grupos tratados e do grupo controle estão apresentados na TAB 3.

TABELA 3.

Média de OPG e desvio padrão dos grupos de ovinos após sete dias do tratamento com extrato de frutos frescos de *Mangifera indica*, albendazol e do grupo controle

Tratamentos	OPG	Eficácias
Albendazol (10 mg kg ⁻¹ p.c.)	8 ± 20,0	99,7%
<i>M. indica</i> (74mg kg ⁻¹ p.c.)	1193 ± 1626,6	52,9%
Controle	2536 ± 4294,5	-

A identificação das larvas indicou que 99,8% eram do gênero *Haemonchus* e apenas 0,2% *Trichostrongylus*. Esses dados evidenciaram a maior prevalência e o predomínio do gênero *Haemonchus* nos ovinos avaliados.

Na análise fitoquímica, tanto as folhas quanto os frutos demonstraram reação positiva para a presença de taninos. Ambos os extratos apresentaram flavonoides e o reativo de Shinoda indicou a presença de flavonas nos extratos de folhas e frutos. Foi verificada a presença de alcaloides e saponinas nas folhas, mas não nos frutos dessa espécie. A TAB. 4 mostra as classes de compostos, bem como os reativos utilizados na sua identificação nos extratos aquosos de frutos imaturos e folhas de manga:

TABELA 4.

Resultados das reações indicativas de presença ou ausência de taninos, de flavonoides, de saponinas e de alcaloides nos extratos aquosos de folhas e frutos imaturos de *Mangifera indica*

Classes	Reativos	Extratos	
		Folha	Fruto
Taninos	Cloreto férrico	+	+
	Acetato chumbo	-	-
	Acetato cobre	+	+
	Ácido acético + Acetato chumbo	-	-
Flavonoides	Shinoda	+	+
	Cloreto férrico	+	+
	NaOH	+	+
Saponinas	Rosol	-	-
	Mitchell	+	-
	Rosenthalen	-	-
	Sulfo-vanilínico	-	-
Alcaloides	Liebermann	-	-
	Dragendorff	+	-
	Mayer	-	-
	Bouchardat	+	-

+ positivo, - negativo

4 DISCUSSÃO

Os resultados indicam que os extratos aquosos de folhas e frutos de manga possuem efetiva atividade anti-helmíntica, pois inibiram o desenvolvimento larval mesmo na menor concentração avaliada (50 mg mL^{-1}), com eficácias superiores a 90%. Esses dados corroboram os resultados obtidos por Costa *et al.* (2002), que obtiveram 95,66% de eficácia da fração etanólica do extrato hexânico de sementes de manga, na concentração de 50 mg mL^{-1} .

Segundo a classificação do índice de eficácia proposto pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP), um produto seria efetivo quando promover acima de 90% de ação anti-helmíntica; moderadamente efetivo quando atuasse entre 80 a 90%; pouco efetivo quando a ação fosse entre 60 e 80% e não efetivo em níveis abaixo de 60% (POWERS *et al.*, 1982).

No presente estudo, foi observado que, para os extratos aquosos de folhas e frutos avaliados na concentração 50 mg mL^{-1} , o número médio de larvas viáveis não diferiu estatisticamente. Esse dado é importante para se minimizar a utilização dos frutos, parte vegetal economicamente importante, e as folhas poderiam ser obtidas e utilizadas durante todo o ano. Futuros estudos avaliando concentrações inferiores a 50 mg mL^{-1} devem ser considerados para se estimar as DL_{50} e DL_{90} .

A metodologia utilizada para a avaliação da eficácia anti-helmíntica *in vitro* neste trabalho preconizou a mistura do extrato diretamente com as fezes coletadas. Dessa forma, parte de seus princípios ativos pode não ter interagido diretamente pelo contato com ovos e larvas. O produto a ser testado, sendo adicionado às coproculturas, torna o ambiente mais próximo das condições normais de desenvolvimento dos ovos, melhorando e aumentando o rigor e a precisão da metodologia utilizada.

No teste *in vivo*, o percentual de redução da contagem de ovos nas fezes encontrado após tratamento com *M. indica* (52,9%) deve ser considerado para o controle da helmintose ovina. Entretanto, por falta de protocolos específicos para extratos de plantas, obteve-se índice de redução

pouco eficaz, quando comparado aos propostos pela WAAVP.

Em experimentos *in vivo*, os extratos de plantas muitas vezes não alcançam o índice proposto pela WAAVP. Nos trabalhos de Githiori *et al.* (2003) e de Iqbal *et al.* (2004), utilizando o teste de redução de ovos nas fezes, obtiveram-se eficácias de 34 e 67,2% para os extratos de *Albizia anthelmintica* e *Artemisia brevifolia*, respectivamente.

Frequentemente, os componentes ativos do extrato não estão isolados e uma dose mais elevada ou em maior frequência de aplicação poderia melhorar a eficácia dos extratos. Além disso, os animais deste estudo apresentavam infecção elevada de trichostrongilídeos e muitos deles apresentavam sintomatologia clínica, como pelos quebradiços, baixo escore corporal, mucosas pálidas e edema submandibular.

Os sintomas apresentados pelos animais deste estudo são compatíveis com quadros de infecções maciças por *Haemonchus contortus*, o que foi comprovado após a identificação das larvas, correspondendo a 99,8% dos parasitos presentes nas coproculturas. Esse nematoide tem sido relatado como a principal espécie endoparasita de ovinos no Brasil e no mundo, por apresentar maior prevalência, elevada patogenicidade e rápida seleção de populações resistentes aos anti-helmínticos convencionais (SANGSTER, 2001).

A manga é amplamente utilizada na indústria alimentícia, devido às suas propriedades antioxidantes, à sua palatabilidade e não há registros, na literatura científica, de toxicidez para animais. Essas características, aliadas aos dados obtidos neste estudo, indicam o potencial promissor da utilização da *M. Indica* no controle alternativo das verminoses de ovinos pela agricultura familiar ou em escala industrial.

5 CONCLUSÃO

O extrato aquoso de folhas na concentração 50 mg mL^{-1} apresentou 90,05% de eficácia *in vitro*, não diferindo do extrato dos frutos na mesma concentração. O extrato de frutos frescos de manga demonstrou eficácia *in vitro* na inibição do desenvolvimento larval de 99,3% na concentração 800 mg mL^{-1} .

No teste *in vivo*, a porcentagem de redução do OPG foi de 52,9%, utilizando o extrato aquoso dos frutos frescos de manga na dose de 74 mg de extrato seco kg^{-1} p.c. Além disso, os animais não apresentaram efeitos adversos ao extrato que demonstrou ser inócuo nas condições deste experimento, indicando que essa planta pode contribuir para o controle da helmintose em ovinos. Entretanto, faz-se necessário ainda determinar os mecanismos pelos quais esses extratos atuam, bem como as maneiras de serem integrados com sucesso nos diversos sistemas de produção ovina.

CAPÍTULO 4 - EFICÁCIA DE *Genipa americana* L. SOBRE NEMATOIDES GASTRINTESTINAIS DE OVINOS**RESUMO**

O controle de nematoides gastrintestinais vem sendo comprometido, devido à resistência aos diferentes grupos de anti-helmínticos sintéticos. Extratos obtidos de plantas podem ser alternativas promissoras no tratamento da verminose e a espécie *Genipa americana* tem sido descrita como possuidora de propriedades anti-helmínticas. O presente trabalho buscou avaliar a eficácia anti-helmíntica *in vitro* dessa espécie sobre ovos e larvas de trichostrongilídeos de ovinos. O extrato aquoso de folhas de *G. americana* foi avaliado pelo teste de inibição do desenvolvimento larval nas concentrações 200, 150, 100, 60 e 40 mg mL⁻¹. Já o extrato etanólico foi avaliado pelo teste de redução da eclosão de ovos nas concentrações 100, 80, 60, 40 e 20 mg mL⁻¹. Nas análises fitoquímicas, ambos os extratos evidenciaram a presença de taninos e flavonoides. Considerando a análise *probit*, a eficácia de 90% seria alcançada para os extratos etanólico e aquoso de folhas de jenipapo, nas concentrações 33,8 e 49,3 mg mL⁻¹, respectivamente. Os extratos avaliados dessa planta podem representar uma alternativa viável aos anti-helmínticos sintéticos. Entretanto estudos são necessários para verificar a toxicidade para ovinos e a sua eficácia *in vivo*.

Palavras-chave: Folhas de Jenipapo. *Anti-helmíntico*. Eclosão de ovos. Coprocultura quantitativa, Norte de Minas.

CHAPTER 4 - *Genipa americana* L. EFFICACY ON SHEEP GASTROINTESTINAL NEMATODES**ABSTRACT**

The gastrointestinal nematode control has been compromised due to the resistance to several groups of synthetic anthelmintic drugs. Plant extracts may be alternatives to the helminthiasis treatment, and the *G. americana* has shown anthelmintic properties. This present study aimed to evaluate the *in vitro* anthelmintic efficacy of this species over sheep trichostrongylides eggs and larvae. The *G. americana* leaves' aqueous extract have been evaluated by the larval development inhibition test at 200, 150, 100, 60 and 40 mg mL⁻¹ concentrations. The leaf ethanol extract at concentrations of 100, 80, 60, 40 and 20 mg mL⁻¹ has been assessed by reducing nematode egg hatching test. In the phytochemical analyses, both extracts showed the presence of tannins and flavonoids. Considering the probit analysis, 90% of efficacy would be achieved for the genipap leaf aqueous and ethanolic extracts, in the concentrations of 33,8 and 49,3 mg mL⁻¹, respectively. The evaluated extracts of this species could represent a viable alternative to synthetic anthelmintics. However, future studies are needed to verify its toxicity to sheep and its efficacy *in vivo*.

Keywords: Genipap leaves. *Anthelmintic*. Egg hatching. Quantitative coproculture. North of Minas Gerais.

1 INTRODUÇÃO

No Brasil, a demanda por carne ovina tem crescido, principalmente nos grandes centros urbanos. Em virtude desse potencial apresentado pelo mercado consumidor brasileiro, os criadores vêm optando por sistemas de criação mais intensivos. Entretanto, para que se obtenha êxito é imprescindível garantir a sanidade dos ovinos criados.

As helmintoses gastrintestinais constituem o principal fator sanitário limitante da criação e são controladas basicamente por anti-helmínticos sintéticos. Esses são muitas vezes utilizados indiscriminadamente, favorecendo a seleção de cepas de nematoides resistentes e a poluição ambiental, além de acumular resíduos nos alimentos (WALLER *et al.*, 1997)

Os compostos anti-helmínticos devem ser respeitados como recursos preciosos. Para a indústria farmacêutica, a busca por moléculas anti-helmínticas inéditas que venham a colaborar no rodízio com as atuais drogas é um processo laboroso e oneroso e uma possibilidade considerada remota para os próximos anos (HENNESSY, 1997). Portanto, a pesquisa de formas alternativas para o controle das helmintoses gastrintestinais torna-se imprescindível.

O jenipapeiro (*Genipa americana* L.) é uma espécie arbórea da família das Rubiáceas que pode ser empregada na medicina caseira, na alimentação animal e humana, no curtimento de couros, no reflorestamento e na indústria madeireira. A espécie tem importância ecológica para o repovoamento de animais, sendo viável para o plantio em áreas brejosas degradadas, crescendo com maior facilidade em regiões de clima quente (EPSTEIN, 2001).

A utilização de plantas medicinais no controle de verminose é uma alternativa que poderá reduzir a ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal e o aparecimento de resistência anti-helmíntica aos produtos convencionais, bem como reduzir o custo com a aquisição desses. O presente trabalho buscou avaliar a eficácia anti-helmíntica *in vitro* de *Genipa americana* sobre ovos e larvas de trichostrongilídeos de ovinos, determinando as concentrações mais efetivas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material vegetal e obtenção dos extratos

Folhas de *Genipa americana* L. (Jenipapo) foram coletadas na comunidade rural do Planalto (16°55'18" S e 43°52'11" O), no município de Montes Claros, Norte de Minas Gerais. Em coleta única, realizada no mês de janeiro de 2008, no período da manhã. A identificação seguiu os padrões da taxonomia clássica com consulta à literatura botânica disponível. O material vegetal foi selecionado, removendo as folhas com lesões e submetido à secagem em estufa, com circulação forçada de ar, à temperatura de 40°C ± 5 até peso constante. Em seguida, foi moído e conservado à aproximadamente 4°C, até o momento de uso.

Foram realizados dois experimentos. No primeiro, em fevereiro de 2008, o material vegetal moído foi acondicionado em béquer, acrescentando água destilada e levando ao banho-maria a 60°C, durante 60 minutos. Após esse período, foi realizada filtração a quente em funil com gaze. O extrato aquoso, na concentração 200 mg mL⁻¹, foi diluído em água destilada estéril, obtendo-se as concentrações 150, 100, 60 e 40 mg mL⁻¹.

Avaliou-se a eficácia anti-helmíntica dos extratos, por meio do teste de inibição do desenvolvimento larval, pareada a um controle negativo, com água destilada estéril e com um controle positivo, com ivermectina¹⁵ (16 µg mL⁻¹). Cada concentração e os controles foram realizados com quatro repetições.

O segundo experimento foi realizado em novembro de 2008. O extrato utilizado havia sido obtido em fevereiro de 2008, acondicionando o material vegetal moído em recipientes de vidro âmbar acrescentando etanol PA. O vidro fechado foi conservado em local escuro e seco durante 10 dias. Foi realizada filtração, em funil com papel de filtro qualitativo e o extrato foi levado à estufa de circulação forçada de ar a 40°C ±5 até atingir peso constante e conservado à temperatura de aproximadamente 4°C. Neste experimento, o extrato etanólico bruto foi ressuspendido em água destilada

¹⁵ Ranger LA, Vallée, Montes Claros, MG, Brasil.

estéril nas concentrações 100, 80, 60, 40 e 20 mg mL⁻¹ e avaliada a sua eficácia anti-helmíntica frente a ovos de nematoides gastrintestinais de ovinos. O protocolo contou ainda com um controle positivo, com levamisol¹⁶ (0,2 mg mL⁻¹) e um controle negativo, empregando-se água destilada estéril. Cada concentração e os controles foram realizados com quatro repetições.

Adotaram-se todos os procedimentos experimentais de acordo com os princípios éticos na experimentação animal e previamente aprovados pela Comissão de Ética de Experimentação Animal (CETEA – UFMG), Protocolado sob n°.042-2/08.

2.2 Avaliação *in vitro* da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos em coproculturas

Foram selecionados quatro ovinos mestiços Santa Inês, com idade entre seis e dez meses naturalmente infectados, com contaminação parasitária superior a 500 ovos por grama de fezes (OPG). Esses animais foram selecionados após a quantificação do OPG, utilizando solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e leitura no microscópio em câmara de *McMaster* (UENO e GONÇALVES, 1998). Amostras de cinco a 10 gramas de fezes foram coletadas diretamente da ampola retal e imediatamente transportadas ao Laboratório de Parasitologia do ICA/UFMG, campus Montes Claros.

No primeiro experimento, o teste de inibição do desenvolvimento larval foi realizado no mês de fevereiro de 2008, pelo método descrito por Borges (2003), adaptado da técnica de coprocultura quantitativa, proposta por Ueno (1995). O número total das larvas observadas foi dividido por dois e o resultado expresso em larvas desenvolvidas por grama de fezes (LDPG).

¹⁶ Ripercol, Fort Dodge, Campinas, SP, Brasil.

2.3 Avaliação *in vitro* da redução da eclosão de ovos de trichostrongilídeos de ovinos

Para esta segunda etapa, utilizou-se uma metodologia modificada do teste de eclodibilidade, para determinação de resistência anti-helmíntica, proposto pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP), segundo Coles *et al.* (1992).

Foram coletados diretamente do reto aproximadamente 10g de fezes dos ovinos selecionados para o estudo. A essas foi adicionada solução salina hipersaturada e procedeu-se à filtragem em peneiras dispostas em ordem decrescente de abertura de malha. O filtrado foi acondicionado em tubos cilíndricos e centrifugado a 2.000 rpm, por dez minutos. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e passou por três lavagens com água destilada e centrifugações consecutivas. Na última lavagem, o sedimento foi mantido com um pequeno volume de água destilada, ressuspendido e transferido para tubos de ensaio em alíquotas de 300 µl, contendo aproximadamente 100 ovos. A cada tubo de ensaio contendo 300 µl da suspensão de ovos foi adicionado igual volume do extrato vegetal a ser estudado ou os controles positivo ou negativo.

Os tubos de ensaio foram vedados com filme plástico e incubados à temperatura de 28°C, durante 72 horas. A ação dos extratos vegetais sobre o desenvolvimento dos ovos foi avaliada, após o período de incubação, transferindo-se o conteúdo dos tubos de ensaio para placas de titulação e leitura em microscopia ótica, empregando-se o aumento de 100 vezes. Foram avaliados todos os ovos e larvas presentes nas amostras, obtendo-se o número de ovos blastomerados, larvados e de larvas eclodidas para cada amostra.

2.4 Análise estatística

A fórmula abaixo descrita, adaptada de Borges (2003), foi empregada para a determinação da percentagem de eficácia na inibição do desenvolvimento larval e na redução da eclosão de ovos: % Eficácia = $100 - (\text{Larvastratado} * 100 / \text{Larvascontrole})$

Para análise estatística, o número de LDPG e de larvas eclodidas foi transformado por meio da equação $Y = \log (y+1)$, submetidos à ANOVA e as médias comparadas, utilizando-se o teste de Scott-Knott, sendo considerado o nível de significância de até 5%. A dose letal 50% (DL50) foi determinada por meio da análise *probit* do Sistema para Análises Estatísticas (SAEG).

2.5 Testes fitoquímicos

Foi realizada avaliação qualitativa de alguns compostos secundários presentes nos extratos aquoso e etanólico de folhas de jenipapo, segundo metodologia colorimétrica, proposta por Matos (1997).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na análise fitoquímica, os extratos aquoso e etanólico evidenciaram a presença de taninos e flavonoides. No extrato etanólico, as reações com acetato de cobre e ácido acético, acrescido de acetato de chumbo apresentaram resultados negativos, indicando a predominância de taninos condensados, uma vez que esta reação é específica para taninos hidrolisáveis. Não foi verificada a presença de alcaloides nos extratos. A TAB. 1 demonstra as classes de metabólitos secundários e os reativos específicos empregados no experimento:

TABELA 1

Resultados das reações indicativas de presença (+) ou ausência (-) de taninos, de flavonoides e de alcaloides nos extratos aquosos e etanólicos de folhas de *Genipa americana*

	Reativos	Extrato aquoso	Extrato etanólico
Taninos	CF	+	+
	ACH	+	+
	ACO	+	-
	AACH	+	-
Flavonoides	Shinoda	+	+
	CF	+	+
	NaOH	+	+
Alcaloides	Dragendorff	-	-
	Mayer	-	-
	Bouchardat	-	-

CF-Cloreto férrico, ACH-Acetato de chumbo, ACO- Acetato de cobre, AACH-Ácido acético e acetato de chumbo

Os taninos e flavonoides são metabólitos secundários considerados responsáveis por importantes atividades terapêuticas. Os taninos condensados são descritos na literatura como possuidores de considerável atividade anti-helmíntica. Podem complexar-se a proteínas livres, reduzindo a disponibilidade dos nutrientes, resultando em morte das larvas por inanição, ou ainda ligar-se à cutícula das larvas, rica em glicoproteínas, causando a sua morte (ATHANASIADOU *et al.*, 2001). Pesquisas têm relatado a redução do número de ovos de nematoides em fezes de ovinos alimentados com

plantas taníferas (LANGE *et al.* 2006; MARLEY *et al.* 2003).

É importante ressaltar que, tanto para o teste de inibição do desenvolvimento larval, como para a redução da eclosão ovos, as substâncias predominantes nos extratos podem ser as responsáveis pela sua respectiva atividade. Entretanto a possível interação e o sinergismo entre as substâncias ativas presentes não devem ser descartados (SIMÕES *et al.*, 1999).

Ainda não há legislação específica para anti-helmínticos fitoterápicos de uso veterinário. Entretanto, segundo a classificação do índice de eficácia proposto pela WAAVP, um produto sintético seria efetivo quando promovesse acima de 90% de ação anti-helmíntica; moderadamente efetivo quando atuasse entre 80 a 90%; pouco efetivo quando a ação fosse entre 60 e 80% e não efetivo em níveis abaixo de 60% (POWERS *et al.*, 1982).

Ambos os extratos de jenipapo apresentaram atividade anti-helmíntica significativa ($p < 0,05$). O extrato aquoso de *Genipa americana*, na concentração 100 mg mL^{-1} apresentou atividade estatisticamente similar à ivermectina e na concentração 200 mg mL^{-1} inibiu 100% do desenvolvimento larval. Já o extrato etanólico apresentou 100% de eficácia no teste de redução da eclosão de ovos, na concentração 100 mg mL^{-1} (TAB. 2).

TABELA 2

Número médio de larvas, desvio padrão e eficácia de extratos aquoso e etanólico de *G. americana* sobre o desenvolvimento larval e a eclosão de ovos de helmintos, respectivamente

Concentração (mg mL ⁻¹)	Extrato aquoso (Larvas)		Concentração (mg mL ⁻¹)	Extrato etanólico (Ovos)	
	Larvas viáveis	Eficácia (%)		Larvas viáveis	Eficácia (%)
40	19 ± 28,3 B	74,9	20	13,5 ± 8,4B	86,9
60	4 ± 5,3 B	94,5	40	13,3 ± 3,8B	86,7
100	1 ± 0,5 C	99,6	60	4,5 ± 3,8 D	95,5
150	1 ± 0,5 C	99,6	80	5,5 ± 2,3 C	94,5
200	0 ± 0,0 C	100	100	0 ± 0,0 E	100
Água	78 ± 34,6 A	-	Água	57 ± 12,9 A	46,3
Ivermectina	0 ± 0,0 C	100	Levamisol	0 ± 0,0 E	100

Mesmas letras maiúsculas nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste Scott - Knott até 5% de probabilidade

A FIG. 1 demonstra a sobrevivência de larvas, em função de dosagens do extrato aquoso de folhas de jenipapo. Com base na curva representada pelo gráfico, a DL₅₀ foi 25,19 mg mL⁻¹.

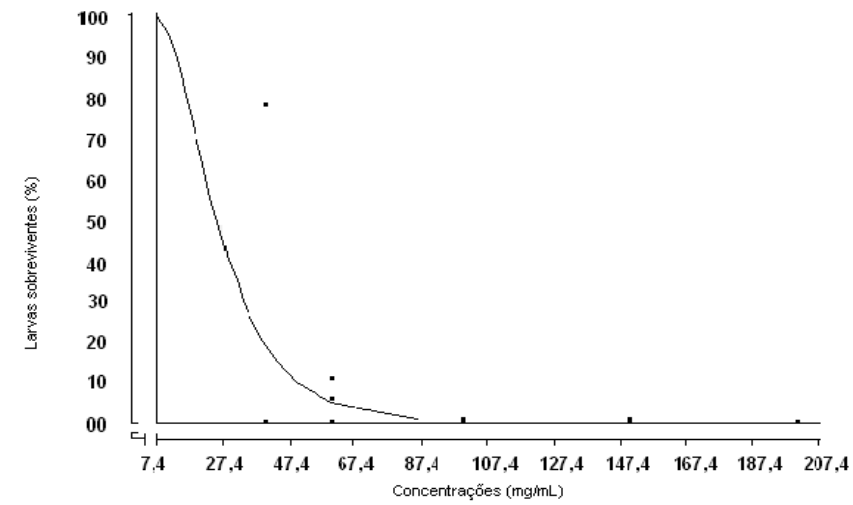


FIGURA 1 - Gráfico da atividade do extrato aquoso de jenipapo sobre o desenvolvimento larval de trichostrongilídeos de ovinos, expresso em probabilidade de sobrevivência de larvas

Na figura 2, pode-se observar a porcentagem de larvas eclodidas 72 horas após a administração do extrato etanólico de folhas de jenipapo. A DL_{50} foi $3,83 \text{ mg mL}^{-1}$. Todas as concentrações de ambos os extratos diferiram estatisticamente do controle com água destilada.

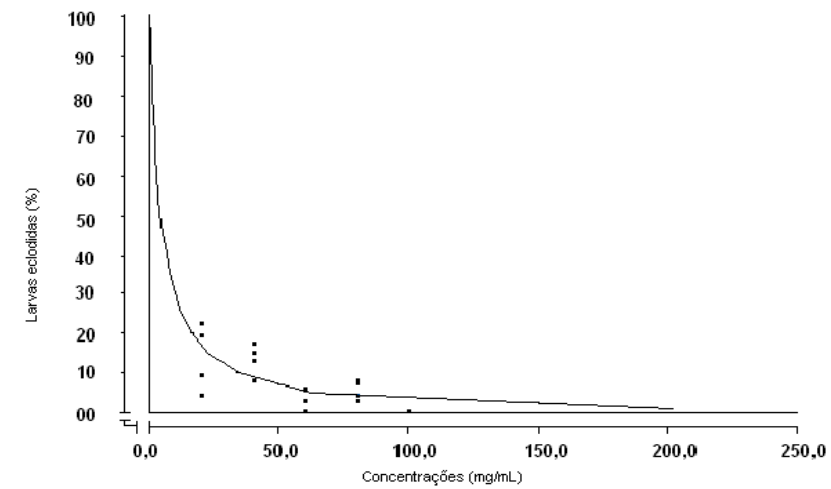


FIGURA 2 - Gráfico da atividade do extrato etanólico de jenipapo sobre eclosão de ovos de trichostrongilídeos de ovinos, expresso em probabilidade de eclosão de larvas

Considerando a classificação da WAAVP, após a análise *probit*, os extratos etanólicos e aquosos de folhas de jenipapo seriam considerados efetivos, a partir das concentrações 33,83 e 49,25 mg mL⁻¹, inibindo em 90% a eclosão de ovos e desenvolvimento larval, respectivamente. Esses dados corroboram os obtidos por Krichak-Furtado (2006), que observou efeito ovicida com eficácia de 100%, utilizando o extrato hidroalcolólico de folhas de jenipapo, na concentração 50 mg mL⁻¹.

A pesquisa por anti-helmínticos naturais se inicia pelos testes *in vitro* dos extratos totais das plantas. Nesses testes, os extratos são colocados diretamente em contato com os ovos ou larvas do parasito para avaliar o efeito sobre a eclosão dos ovos ou o desenvolvimento larval (HAMMOND *et al.*, 1997). Neste estudo conduzido no Norte de Minas, a metodologia utilizada no teste de inibição do desenvolvimento larval preconizou a adição do extrato às fezes, o que permitiu uma avaliação mais semelhante ao ambiente natural de desenvolvimento larval dos nematoides. Essa poderia ser uma das causas da DL₅₀ do extrato aquoso obtida ter sido mais elevada. Entretanto, a água apresenta maior disponibilidade para os produtores e menor custo, além de apresentar menores riscos toxicológicos às pessoas e ao meio ambiente.

Ambos os extratos representam alternativas promissoras para o controle de trichostrongilídeos, desde que a sua inocuidade e a eficácia em ovinos sejam avaliadas.

4 CONCLUSÃO

Os extratos aquoso e etanólico de *G. americana* foram efetivos na inibição do desenvolvimento larval e na redução da eclosão de ovos de trichostrongilídeos de ovinos, nas concentrações de 200 e 100 mg mL⁻¹, respectivamente. Com base na análise *probit*, a eficácia de 90% seria alcançada para os extratos aquoso e etanólico de folhas de jenipapo, nas concentrações de 49,25 e 33,83 mg mL⁻¹, respectivamente. Os resultados obtidos, juntamente com futuros estudos, avaliando a toxicidade e a eficácia *in vivo*, poderão contribuir para a utilização racional dessa espécie vegetal como alternativa aos anti-helmínticos convencionais.

CAPITULO 5 – EFEITO DE *Caryocar brasiliense* Camb. SOBRE O DESENVOLVIMENTO LARVAL DE NEMATOIDES OVINOS**RESUMO**

As helmintoses gastrintestinais constituem um importante problema sanitário para a ovinocultura em todo o mundo. Frutos de *Caryocar brasiliense* Camb. são utilizados na alimentação humana e o aproveitamento das cascas poderia constituir uma alternativa econômica e ecologicamente viável para o tratamento dessa parasitose. Nesse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a eficácia do extrato aquoso da casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) sobre o desenvolvimento larval de nematoides de ovinos. A eficácia anti-helmíntica *in vitro* foi avaliada pela técnica de coproculturas quantitativas de um total de 15 matrizes mestiças Santa Inês. Esses animais eram naturalmente infectados, sendo que *Trichostrongylus* spp. e *Haemonchus* spp. corresponderam aos principais gêneros presentes nas coproculturas. O extrato aquoso da casca de pequi na concentração 200 mg mL⁻¹ inibiu em 94% o desenvolvimento larval de nematoides em comparação à coproculturas livres do extrato vegetal. Posteriormente, as doses requeridas para induzir 50% e 90% de inibição do desenvolvimento larval foram calculadas, por meio da análise *probit* e corresponderam a 23,82 mg mL⁻¹ e 53,19 mg mL⁻¹, respectivamente. Os resultados demonstraram o potencial promissor da utilização desse subproduto como alternativa aos anti-helmínticos sintéticos. Futuros estudos poderão definir as melhores estratégias de utilização da casca do pequi no controle da verminose ovina.

Palavras-chave: Helmintos gastrintestinais. Plantas medicinais. Coprocultura quantitativa. *Caryocar brasiliense* Camb. - Norte de Minas Gerais.

CHAPTER 5 - EFFECT OF *Caryocar brasiliense* CAMB. ON THE LARVAL DEVELOPMENT OF SHEEP NEMATODES**ABSTRACT**

The gastrointestinal helminthiasis represents an important sanitary problem for the sheep breeding around the world. Fruit of *Caryocar brasiliense* Camb, popularly known as *pequi*, have been used as food and the best use of fruit peel could be an economic and environmental sustainable alternative. In this context, this present study aimed to evaluate the anthelmintic efficacy of aqueous extract of the fruit peel of pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) on the larval development of sheep nematodes. The *in vitro* anthelmintic efficacy was evaluated by quantitative coprocultures from a total of 15 (fifteen) Santa Inês crossbred ewes. These animals were naturally infected, being the *Trichostrongylus* spp. and *Haemonchus* spp. the most present nematodes in the coprocultures. The aqueous extract of pequi peel at the concentration of 200 mg mL⁻¹ showed 94% of nematode larval development inhibition compared to plant extract free coprocultures. Subsequently, the required quantity to induce the inhibitions of 50 and 90% on the larval development were calculated using the probit analysis and corresponded to 23,82 mg mL⁻¹ and 53,19 mg mL⁻¹, respectively. The results showed the promising potential of this product use as an alternative for the synthetic sheep anthelmintics. Future studies may define better strategies for the use of *pequi* peel on the sheep verminosis control.

Keywords: Gastrointestinal helminths. Medicinal plants. Quantitative coproculture. *Caryocar brasiliense* Camb. North of Minas Gerais.

1 INTRODUÇÃO

A criação de pequenos ruminantes tem sido praticada por diferentes segmentos produtivos, abrangendo desde a agricultura familiar até empresas rurais. As helmintoses representam o principal problema sanitário nesses animais e todas as categorias podem ser intensamente parasitadas, reduzindo não somente o ganho de peso, mas a produção de leite, lã e pele, além da capacidade reprodutiva (PINHEIRO *et al.*, 2000).

O controle de nematoides gastrintestinais em pequenos ruminantes é realizado quase exclusivamente com anti-helmínticos sintéticos (MELO, 2003). No entanto, a seleção de populações de vermes resistentes a várias classes dessas drogas é realidade em países de diferentes continentes, inclusive no Brasil (AKHTAR *et al.*, 2000; MELO *et al.*, 2003). Além disso, as bases medicamentosas disponíveis no mercado possuem limitações, como o custo elevado, a possibilidade de resíduos nos alimentos e o risco de poluição ambiental (HERD, 1996; WALLER *et al.*, 1997).

A utilização de extratos de plantas no controle de verminose é uma alternativa que poderá reduzir a seleção de helmintos resistentes aos vermífugos comerciais e a ocorrência de resíduos nos produtos de origem animal e no meio ambiente, bem como o custo envolvido na aquisição desses. Muitas plantas são tradicionalmente conhecidas como possuidoras de atividade antiparasitária, necessitando, entretanto, que sua eficácia seja cientificamente comprovada (AMARANTE, 2007).

Caryocar brasiliense Camb., popularmente denominada pequi, é uma árvore nativa do Cerrado e os seus frutos são muito utilizados tanto para alimentação humana quanto para fins terapêuticos, como, por exemplo, no tratamento de resfriados, de bronquites, de tosses e ainda como afrodisíaco (VIEIRA; MARTINS, 1998). Extratos da folha e da casca do caule dessa planta têm ação anti-micótica e moluscicida (BEZERRA *et al.*, 2002; PASSOS *et al.*, 2002; MOTTER *et al.*, 2004), além de ação leishmanicida, bactericida e antioxidante (PAULA JÚNIOR *et al.*, 2006).

A casca representa cerca de 80% do peso total, enquanto a polpa representa 8% e a amêndoa, aproximadamente, 2% do fruto (VERA *et al.*, 2005). Uma forma de agregar valor à espécie seria a utilização de outras partes da planta, como a casca do fruto, que não é utilizada comercialmente. O melhor aproveitamento desse produto pode constituir uma alternativa ecológica, social e economicamente viável, pois possibilitará a ampliação dos lucros, a geração de novos empregos e a redução de resíduo orgânico depositado no ambiente. O presente trabalho buscou avaliar a eficácia anti-helmíntica *in vitro* do extrato aquoso do farelo da casca de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) para o controle alternativo de nematoides gastrintestinais de ovinos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

O exocarpo e o mesocarpo externo (casca) do fruto de *Caryocar brasiliense* Camb. foram obtidos no Mercado Municipal de Montes Claros, no Norte de Minas Gerais, nas safras 2006/2007 e 2007/2008. A metodologia de obtenção dos extratos foi adaptada de Krychak-Furtado (2006). As amostras foram obtidas, removendo-se as cascas com lesões ou em deterioração, sendo em seguida, lavadas e desidratadas ao sol durante dois dias. Posteriormente, o material foi triturado em moinho de facas, para a obtenção do farelo. Esse material foi identificado e conservado à temperatura de aproximadamente 4°C em geladeira. O material vegetal foi submetido à extração aquosa em banho-maria, durante uma hora, a 60°C. Após esse período, o material foi filtrado em gaze e papel de filtro qualitativo. A solução obtida foi utilizada em seguida.

Os procedimentos adotados com os animais neste trabalho estiveram de acordo com os princípios éticos da experimentação animal, sendo aprovados no protocolo 42-2/2008 pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG.

Experimento 1

Em fevereiro de 2007, avaliou-se a ação anti-helmíntica do extrato na concentração de 200 mg mL⁻¹ em coproculturas individuais, comparando-se a um controle com água destilada estéril. Foram utilizadas como doadoras de fezes 15 ovelhas adultas mestiças Santa Inês, provenientes de propriedades rurais do município de Montes Claros, no Norte de Minas (16°44'06" de latitude e 43°51'42" de longitude). Esses animais possuíam infecção natural por nematoides gastrintestinais e contaminação superior a 500 ovos por grama de fezes (OPG). Duas amostras de fezes de cada animal, coletadas diretamente da ampola retal, contendo dois gramas cada, foram separadas para constituírem, respectivamente, os grupos tratado e controle.

Experimento 2

Em março de 2008 procedeu-se à seleção de cinco ovinos mestiços Santa Inês, com idade entre seis e dez meses, naturalmente infectados e com OPG superior a 500. As fezes coletadas diretamente da ampola retal foram misturadas, homogeneizadas e distribuídas nos tratamentos. O extrato das cascas de pequi foi empregado nas concentrações 200, 160, 100, 60 e 40 mg mL⁻¹ e utilizou-se um controle positivo, com ivermectina¹⁷ na concentração 16 µg mL⁻¹ e um controle negativo, com água destilada estéril. Para todos os tratamentos, utilizaram-se quatro repetições.

2.1 Avaliação *in vitro* da inibição do desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos

Amostras contendo cinco a 10 gramas de fezes coletadas diretamente da ampola retal dos ovinos selecionados foram imediatamente transportadas ao Laboratório de Parasitologia do ICA/UFMG, em Montes Claros.

Para a identificação das larvas de nematoides confeccionaram-se lâminas coradas com lugol e os gêneros foram diferenciados após a visualização em microscopia óptica, utilizando a chave de Keith (1953).

Os testes de inibição do desenvolvimento larval foram realizados em outubro de 2007 e março de 2008 pelo método adaptado da técnica de coprocultura quantitativa, proposta por Ueno (1995), conforme o trabalho de Borges (2003).

2.2 Análise estatística

A fórmula abaixo, adaptada de Borges (2003), foi empregada para a determinação da porcentagem de eficácia na inibição do desenvolvimento larval: % Eficácia = $100 - \frac{\text{Larvas do grupo tratado}}{\text{Larvas do grupo controle}} \times 100$

Larvas do grupo controle

Os dados referentes aos valores de LDPG previamente transformados em $\log(x + 1)$ foram submetidos à análise de variância. Compararam-se as médias pelo teste Scott-Knott até 5% de probabilidade.

As médias obtidas no primeiro experimento foram analisadas pelo teste T de *Student* até 1% de probabilidade. As doses letais 50% (DL₅₀) e 90% (DL₉₀) para as larvas de nematoides, por contato, foram determinadas por meio da análise *probit* do Sistema para Análises Estatísticas - SAEG (2007).

2.3 Testes fitoquímicos

Avaliação qualitativa de compostos secundários presentes no extrato aquoso da casca dos frutos de pequi foi realizada, de acordo com metodologia colorimétrica, proposta por Matos (1997).

¹⁷ Ranger LA, Vallée, Montes Claros, MG, Brasil

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na TAB. 1 estão apresentados os valores médios de larvas obtidas nos grupos controle e tratado, após administração do extrato aquoso do farelo de cascas de pequi:

TABELA 1

Número médio por animal e desvio padrão de larvas desenvolvidas por grama de fezes de ovinos (LDPG) em coproculturas tratadas ou não tratadas com extrato aquoso do farelo da casca de pequi (200 mg mL⁻¹)

Matrizes ovinas	Água destilada	Extrato aquoso (200 mg mL ⁻¹)
1	740	270
2	104	0
3	240	15
4	2571	48
5	576	8
6	527	25
7	266	0
8	375	0
9	210	0
10	33	0
11	378	0
12	304	0
13	25	0
14	234	0
15	456	0
Média	469,27 ^a	24,4 ^b
Desvio padrão	614,56	69,27

*Médias seguidas de letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste T de *Student* ao nível de significância de 1%.

Neste experimento, o extrato aquoso da casca de pequi, na concentração 200 mg mL⁻¹, inibiu significativamente (p<0,01) o desenvolvimento de larvas de helmintos gastrintestinais nas coproculturas, provenientes de todos os quinze animais avaliados, quando comparado com o grupo controle, com água destilada (TAB. 1). A eficácia desse extrato vegetal na inibição do desenvolvimento larval foi de 94,8%.

A identificação das larvas obtidas nas amostras demonstrou que 85,68% delas corresponderam aos nematoides *Trichostrongylus* spp., 13,67%; aos *Haemonchus* spp., 0,36%; aos *Oesophagostomun* spp. e 0,25%; aos *Strongyloides* spp., não sendo observada diferença significativa (p>0,95) entre os grupos tratados e controle. Esse dado na prevalência dos helmintos indica fortemente a ação deletéria do extrato sobre os diferentes gêneros de vermes detectados, demonstrando bom espectro de atuação anti-helmíntica.

A TAB. 2 demonstra a sobrevivência de larvas, bem como a eficácia do extrato aquoso de cascas de pequi na inibição do seu desenvolvimento.

TABELA 2

Número médio de larvas viáveis, desvio padrão e eficácia do extrato aquoso de cascas dos frutos de *Caryocar brasiliense* sobre o desenvolvimento larval de nematoides gastrintestinais de ovinos

Concentração (mg mL ⁻¹)	Extrato aquoso (Larvas)	
	Larvas viáveis	Eficácia (%)
40	18,5 ± 24,6 B	99,02
60	9,75 ± 10,6 B	99,48
100	0,5 ± 0,5 B	99,97
160	0 ± 0,0 B	100
200	0 ± 0,0 B	100
Água	1894 ± 1144 A	-
Ivermectina (16 µg mL ⁻¹)	0 ± 0,0 B	100

Médias seguidas de letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste Scott-Knott até 5% de probabilidade.

Todas as concentrações do extrato diferiram do grupo submetido ao contato com água destilada e se igualaram ao grupo tratado com ivermectina ($16 \mu\text{g mL}^{-1}$).

A figura 1 apresenta a curva obtida do número de larvas viáveis, em função do aumento das concentrações do extrato aquoso de cascas de pequi:

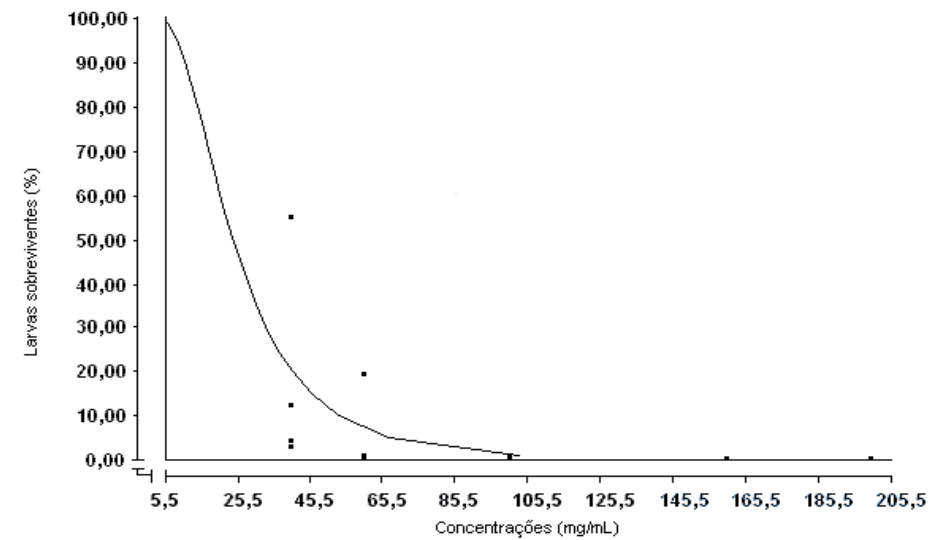


FIGURA 1 - Gráfico da probabilidade de sobrevivência de larvas de helmintos, em função de doses do extrato aquoso de cascas de pequi, por meio da análise *probit*.

As doses requeridas para induzir 50 e 90% de inibição do desenvolvimento larval, calculadas por meio da análise *probit*, foram $23,82 \text{ mg mL}^{-1}$ e $53,19 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente.

Segundo a classificação do índice de eficácia, proposto pela *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (WAAVP), um produto sintético é efetivo quando promove acima de 90% de ação anti-helmíntica; moderadamente efetivo quando atua entre 80 a 90%; pouco efetivo quando a ação é entre 60 e 80% e não efetivo em níveis abaixo de 60% (POWERS *et al.*, 1982).

Os testes fitoquímicos qualitativos realizados neste estudo indicaram a presença de catequinas, de esteroides, de flavonoides, de saponinas, de taninos totais, de taninos catequéticos e xantonas.

Os taninos condensados são substâncias descritas na literatura como possuidoras de atividade anti-helmíntica. Esses metabólitos podem associar-se às proteínas livres, reduzindo a disponibilidade dos nutrientes e resultando em morte das larvas por inanição, ou podem ainda aderir à cutícula das larvas, rica em glicoproteínas (ATHANASIADOU *et al.*, 2001). Na literatura científica, a redução do número de ovos de nematoides em fezes de ovinos alimentados com plantas taníferas, como por exemplo, *Lespedeza cuneata*, *Lotus corniculatus* e *Cichorium intybus*, tem sido descrita (LANGE *et al.*, 2006; MARLEY *et al.*, 2003).

Neste estudo, a metodologia de avaliação da eficácia anti-helmíntica empregou a mistura do extrato com as fezes coletadas. Desta forma, parte de seus princípios ativos pode não interagir diretamente pelo contato com ovos e larvas. Apesar dessa possibilidade, ao se adicionar às coproculturas o produto a ser testado, o ambiente do teste de eficácia seria o mais próximo das condições normais de desenvolvimento dos ovos, aumentando o rigor da avaliação da eficácia anti-helmíntica.

Ribeiro *et al.* 2007, avaliando o efeito da casca do pequi, em substituição ao capim elefante, na dieta de caprinos, não observaram efeitos toxigênicos, aumentando a expectativa de uso desse subproduto como anti-helmíntico.

O potencial anti-helmíntico do pequi, verificado neste trabalho, deve ser considerado para possibilitar o melhor aproveitamento da casca do fruto dessa planta do cerrado brasileiro, que poderá constituir-se numa atividade ecológica, social e economicamente viável.

4 CONCLUSÃO

O extrato aquoso da casca de pequi na concentração de 200 mg mL⁻¹ apresentou eficácia de 94,8% para a inibição do desenvolvimento larval de helmintos. A DL₅₀ e DL₉₀ estimadas para os parasitas foram 23,82 mg mL⁻¹ e 53,19 mg mL⁻¹, respectivamente, indicando o seu uso promissor no controle alternativo da helmintose gastrintestinal. Os resultados obtidos, juntamente com futuros estudos, avaliando a toxicidade e a eficácia *in vivo*, poderão contribuir para a utilização desse subproduto como alternativa aos medicamentos convencionais.

REFERÊNCIAS

ADDAE-MENSAH, I. **Plant biodiversity, herbal medicine, intellectual property rights and industrially developing countries: socio-economic, ethical and legal implications.** [S. l. : s. n.], [2006?]. Cap. 7. Disponível em: <http://www.crvp.org/book/Series02/II-5/chapter_vii.htm>. Acesso em: 26 out. 2008.

ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Anthelmintic activity of *Spigelia anthelmia* extract against gastrointestinal nematodes of sheep. **Parasitology Research**, v. 101, n. 1, p. 63-69, Jan. 2007a.

ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Anthelmintic efficacy of *nauclea latifolia* extract against gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **African Journal of Traditional, Complimentary and Alternative Medicines**, v. 4, n. 2, p. 148-56, Mar. 2007b.

ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Anthelmintic activity of extracts of *spondias mombin* against gastrointestinal nematodes of sheep: studies in vitro and in vivo. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 3, p. 223-35, Apr. 2005.

ADEMOLA, I. O.; FAGBEMI, B. O.; IDOWU, S. O. Evaluation of the anthelmintic activity of *Khaya senegalensis* extract against gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, v. 122, n. 2, p. 151-64, June, 2004.

AKHTAR, M. S. IQBAL, Z.; KHAN, M. N.; LATEEF, M. Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the indo – PAKISTAN subcontinent. **Small Ruminant Research**, v. 38, n. 2, p. 99-107, Apr. 2000.

ALAWA, C. B. I.; ADAMU, A. M.; GEFU, J. O.; AJANUSI, O. J.; ABDU, P. A.; CHIEZEY, N. P.; ALAWA, J. N.; BOWMAN, D. D. In vitro screening of two nigerian medicinal plants (*Vernonia amygdalina* and *Annona senegalensis*) for anthelmintic activity. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 1, p. 73-81, Apr. 2003.

ALBUQUERQUE, U. P.; ANDRADE, L. H. C. Conhecimento botânico tradicional e conservação em uma área de caatinga no estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasilica**, v. 16, n. 3, p. 273-285, July/Sep. 2002.

ALMEIDA, M. A. O.; BOTURA, M. B.; SANTOS, M. M.; ALMEIDA, G. N.; DOMINGUES, L. F.; COSTA, S. L.; BATATINHA, M. J. M. Efeitos dos extratos aquosos de folhas de *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf (capim-santo) e de *Digitaria insularis* (L.) Fedde (capim-açu) sobre cultivos de larvas de nematoides gastrintestinais de caprinos. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 3, p. 125-29, jul./set. 2003.

ALMEIDA, S. P.; PROENÇA, C. E. B.; SANO, S. M.; RIBEIRO, J. F. **Cerrado: espécies vegetais úteis**. Planaltina: Embrapa – CPAC, 1998. 464 p.

ALMEIDA, W. V. F. **Uso de plantas medicinais no controle de helmintos gastrintestinais de caprinos naturalmente infectados**. 2005. 85 f. Dissertação (Mestrado em Controle de Parasitismo em Sistemas Agrossilvopastoris) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2005.

AL-QARAWI, A. A.; MAHMOUD, O. M.; SOBAIH, M. A.; HAROUN, E. M.; ADAM, S. E. I. A preliminary study on the anthelmintic activity of *Calotropis procera* latex against *Haemonchus contortus* infection in Najdi sheep. **Veterinary Research Communications**, v. 25, n. 1, p. 61-70, Jan. 2001.

AMARANTE, A. F. T.; SALES, R. O. Controle de endoparasitoses dos ovinos: uma revisão. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 1, n. 2, p. 25-47, jul./dez. 2007.

ANDERSON, N. Internal parasites of sheep and goats. In: COOP, I. E. (Ed.). **Sheep and goat production**. Amsterdam: Elsevier. 1982. p. 175-191. (World Animal Science, C1).

ANUÁRIO DA PECUÁRIA BRASILEIRA – ANUALPEC. São Paulo: ANUALPEC, 2006. p. 277.

ARAÚJO, J. V. **Interação entre larvas infectantes de *Cooperia punctata* e fungos predadores do gênero *arthrobotrys*, caracterização de isolados de *arthrobotrys* e seu uso no controle biológico de Nematodeos parasitos gastrintestinais de bovinos**. 1996. 110 f. Tese (Doutorado em Parasitologia) – Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 1996.

ASSIS, L. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; VIEIRA, L. S.; COSTA, C. T. C.; SOUZA, J. L. Ovicidal and larvicidal activity in vitro of spigelia anthelmia Linn. extracts on haemonchus contortus. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n. 1-2, p. 43-9, Nov. 2003b.

ASSIS, R. C. L.; ARAÚJO, J. V. Avaliação da viabilidade de duas espécies de fungos predadores do gênero monacrosporium sobre ciatostomíneos após passagem pelo trato gastrintestinal de equinos em formulações de alginato de sódio. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 3, p.109-113, jul./set. 2003a.

ASUZU, I. U.; GRAY, A. I.; WATERMAN, P. G. The anthelmintic activity of D-3-O- ethylchiroinositol isolated from piliostigma thonningii stem bark. **Fitoterapia**, v. 70, n. 1, p. 77-9, Feb. 1999.

ATHANASIADOU, S.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F. COOP, R. L. Direct anthelmintic effects of condensed tannins towards different gastrointestinal nematodes of sheep: in vitro and in vivo studies. **Veterinary Parasitology**, v. 99, n. 3, p. 205-219, Aug. 2001.

ATHANASIADOU, S.; TZAMALOUKAS, O.; KYRIAZAKIS, I.; JACKSON, F.; COOP, R. L. Testing for direct anthelmintic effects of bioactive forages against trichostrongylus colubriformis in grazing sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 3/4, p. 233-43, Feb. 2005.

BARRETO, M. A.; SILVA, J. S. Avaliação da resistência de Nematodeos gastrintestinais em rebanhos caprinos do estado da Bahia – (resultados preliminares). In: SEMINÁRIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 1999, Salvador. **Anais...** Salvador: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 1999. p. 160.

BATATINHA, M. J. M.; BOTURA, M. B.; SANTOS, M. M.; SILVA, A.; ALMEIDA, M. G. A. R.; SANTANA, A. F.; BITTENCOURT, T. C. B. S. C.; ALMEIDA, M. A. O. Efeitos do suco de alho (allium sativum linn.) sobre Nematodeos gastrintestinais de caprinos. **Ciência Rural**, v. 34, n. 4, p. 1265-66, jul./ago. 2004.

BATISTA, L. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAES, S. M.; VIEIRA, L. S. Atividade ovicida e larvicida in vitro de spigelia anthelmia e momordica charantia contra o nematódeo haemonchus contortus. **Ciência Animal**, v. 9, n. 2, p. 67-73, 1999.

BEZERRA J. C. B.; SILVA, I. A.; FERREIRA, H. D.; FERRI, P. H.; SANTOS, S. C. Molluscicidal activity against biomphalaria glabrata of brasilian cerrado medicinal plants. **Fitoterapia**, v. 73, n. 5, p. 428-430, ago. 2002.

BIZIMENYERA, E. S.; GITHIORI, J. B.; ELOFF, J. N.; SWAN, G. E. In vitro activity of peltophorum africanum sond. (Fabaceae) extracts on the egg hatching and larval development of the parasitic nematode trichostrongylus colubriformis. **Veterinary Parasitology**, v. 142, n. 2/3, p. 336-43, Dec. 2006.

BORGES, C. C. L. Atividade in vitro de anti-helmínticos sobre larvas infectantes de Nematodeos gastrintestinais de caprinos, utilizando a técnica de coprocultura quantitativa (Ueno, 1995) **Parasitología Latinoamericana**, v. 58, n. 3/4, p. 142 -147, jul. 2003.

BRAGA, R. **Plantas do nordeste**: especialmente do Ceará. 5. ed. 2001. 204 p. (Coleção Mossoroense, v.1)

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; MACIEL, M. V.; COSTA, C. T. C.; MACEDO, I. T. F.; OLIVEIRA, L. M. B.; BRAGA, R. R.; SILVA, R. A.; VIEIRA, L. S.; NAVARRO, A. M. C. Anthelmintic activity of lippia sidoides essential oil on sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 154, n. 1/2, p. 167-70, June, 2008.

CAMURÇA-VASCONCELOS, A. L. F.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; MACIEL, M. V.; COSTA, C. T. C.; MACEDO, I. T. F.; OLIVEIRA, L. M. B.; BRAGA, R. R.; SILVA, R. A.; VIEIRA, L. S.; NAVARRO, A. M. C. Anthelmintic activity of croton zehntneri and lippia sidoides essential oils. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 2/3, p. 288-94, Sep. 2007.

CARDELLO, H. M. A. B.; CARDELLO, L. Teor de vitamina c, atividade de ascorbato oxidase e perfil sensorial de manga (mangífera índica L.) var. haden, durante o amadurecimento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 18, n. 2, p.211-7, May, 1998.

COLES, G. C.; BAUER, F. H. M.; BORGSTEEDE, S.; GREERTS, S.; KLEI, M. A.; TAYLOR, T.; WALLER, P. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) methods for the detection of anthelmintic resistance in nematodes of veterinary importance. **Veterinary Parasitology**, v. 44, n. 1/2, p. 35-44, 1992.

COSTA, C. A. F.; VIEIRA, L. S.; PANT, K. P. Valores de eritrócitos e eosinófilos em cordeiros deslanados, antes e depois de medicações antihelmínticas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF., v. 21, n. 2, p. 193-201, fev. 1986.

COSTA, C. T. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; MACIEL, M. V.; CAMURCA-VASCONCELOS, A. L. F.; MORAIS, S. M.; MONTEIRO, M. V. B.; FARIAS, V. M.; SILVA, M. V.; SOUZA, M. M. C. Anthelmintic activity of *azadirachta indica* a. juss against sheep gastrointestinal nematodes. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n.3/4, p. 306-10, Apr. 2006.

COSTA, C. T. C.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; SOUZA, M. M. C.; LEITE, F. K. A. Efeito ovicida de extratos de sementes de mangífera indica I. sobre *haemonchus contortus*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 11, n. 2, p. 57-60, ago. 2002.

DAWO, F.; TIBBO, M. Anthelmintic effect of *halothamus somalensis* in arsi-bale goats. **Livestock Research for Rural Development**, v. 17, n. 6, June, 2005. Disponível em: <<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd17/6/dawo17068.htm>>. Acesso em: 18 jan. 2008.

DOS SANTOS, V. T.; GONÇALVES, P. C. Verificação de estirpe resistente de *Haemonchus* resistente ao thiabendazole no Rio Grande do Sul (Brasil). **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**, v. 9, p. 201-209, 1967 *apud* FARIAS, M. T.; BORDIN, E. L.; FORBES, A. B.; NEWCOMB, K. A survey on resistance to anthelmintics in sheep stud farms of southern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 2, p. 209-214, Oct. 1997.

DURET, P.; HOCQUEMILLER, R.; CAVE, A. Bulladecin and atemotetrolin, two bis-tetrahydrofuran acetogenins from *annona atemoya* seeds. **Phytochemistry**, v. 48, n. 3, p. 499-506, June, 1998.

EGUALE, T.; TILAHUN, G.; DEBELLA, A.; FELEKE, A.; MAKONNEN, E. In vitro and in vivo anthelmintic activity of crude extracts of *coriandrum sativum* against *haemonchus contortus*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 110, n. 3, p. 428-33, Apr. 2007.

EGUALE, T.; TILAHUN, G.; GIDEY, M.; MEKONNEN, Y. In vitro anthelmintic activities of four ethiopian medicinal plants against *haemonchus contortus*. **Pharmacologyonline**, v.3, n.12, p.153-165, Sep./Dec. 2006.

EPISTEIN, L. Cultivo e aproveitamento do jenipapo. **Revista Bahia Agrícola**, Salvador, BA, v. 4, n. 3, p. 23-24, dez. 2001.

FOOD AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS – FAO. Meat and meat products. **Food Outlook**, n. 2, Dec. 2006. Disponível em: <<http://www.fao.org/docrep/009/j8126e/j8126e10.htm>>. Acesso em: 09 set. 2008.

GATHUMA, J. M.; MBARIA, J. M.; WANYAMA, J.; KABURIA, H. F. A.; MPOKE, L.; MWANGI, J. N. Efficacy of myrsine africana, albizia anthelmintica and hilderbrantia sepalosa herbal remedies against mixed natural sheep helminthosis in Samburu district, Kenya. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 91, n.1, p. 7–12, Mar. 2004.

GIRÃO, E. S.; MEDEIROS, L. P.; CARVALHO, J. H. DE; GIRÃO, R. N. **Identificação e avaliação de plantas medicinais com efeito anti-helmíntico em caprinos**. Teresina: EMBRAPA-CPAMN, 1998. 42 p. (Documentos, 29).

GITHIORI, J. B.; HOGLUND, J.; WALLER, P. J. BAKER, R. L. Anthelmintic activity of preparations derived from myrsine africana and rapanea melanophloeos against the nematode parasite, haemonchus contortus, of sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 80, n. 2/3, p.187-91, May, 2002.

GITHIORI, J. B.; HÖGLUND, J.; WALLER, P. J.; BAKER, R. L. The anthelmintic efficacy of the plant, albizia anthelmintica, against the nematode parasites H. contortus of sheep and heligmosomoides polygyrus of mice. **Veterinary Parasitology**, v. 116, n.1, p. 23-34, Aug. 2003.

GONÇALVES, P. C. **Epidemiologia da helmintose ovina em Guaíba (RS)**. 1974. 41 f. Dissertação (Mestrado em Doenças Parasitárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1974.

GOPAL, R. M.; POMROY, W. E.; WEST, D. M. Resistance of field isolates of trichostrongylus colubriformis and ostertagia circumcincta to ivermectin. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 5, p. 781-786, May, 1999.

HAMMOND, J. A.; FIELDING, D. BISHOP, S. C. Prospects for plant anthelmintics in tropical veterinary medicine. **Veterinary Research Communication**, v. 21, n. 3, p. 213-228, Apr. 1997.

HECKENDORN, F.; HARING, D. A.; MAURER, V.; SENN, M.; HERTZBERG, H. Individual administration of three tanniferous forage plants to lambs artificially infected with *haemonchus contortus* and *cooperia curticei*. **Veterinary Parasitology**, v. 146, n. 1/2, p. 123-34, May, 2007.

HENNESSY, D. R. Modifying the formulation or delivery mechanism to increase the activity of anthelmintic compounds. **Veterinary Parasitology**, v. 72, n. 3/4, p. 367-382, Nov. 1997.

HERD, R. Impactos ambientais associados aos compostos endectocidas. In: PADILHA, T. **Controle dos nematóides gastrintestinais em ruminantes**. Coronel Pacheco: EMBRAPA – CNPGL, 1996. p. 95-111.

HORDEGEN, P.; CABARET, J.; HERTZBERG, H.; LANGHANS, W.; MAURER, V. In vitro screening of six anthelmintic plant products against larval *haemonchus contortus* with a modified methyl-thiazolyl-tetrazolium reduction assay. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 108, n. 1, p. 85-89, Nov. 2006.

HÖRDEGEN, P.; HERTZBERG, H.; HEILMANN, J.; LANGHANS, W.; MAURER, V. The anthelmintic efficacy of five plant products against gastrointestinal trichostrongylids in artificially infected lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 17, n. 1/2, p. 51-60, Nov. 2003.

HOUNZANGBE-ADOTE, M. S.; PAOLINI, V.; FOURASTE, I.; MOUTAIROU, K.; HOSTE, H. In vitro effects of four tropical plants on three life-cycle stages of the parasitic nematode, *haemonchus contortus*. **Research in Veterinary Science**, v. 78, n.1, p. 155-160, Apr. 2005b.

HOUNZANGBE-ADOTE, M. S.; ZINSOU, F. E.; HOUNPKE, V.; MOUTAIROU, K.; HOSTE, H. In vivo effects of *Fagara* leaves on sheep infected with gastrointestinal nematodes. **Tropical Animal Health and Production**, v. 37, n. 3, p. 205-214, Apr. 2005a.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Censo Agropecuário 2006**: resultados preliminares. Rio de Janeiro: IBGE, 2006. 146 p.

IQBAL, Z.; LATEEF, M.; ASHRAF, M.; JABBAR, A. Anthelmintic activity of *artemisia brevifolia* in sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2/3, p. 265–68, Aug, 2004.

IQBAL, Z.; LATEEF, M.; JABBAR, A.; GHAYUR, M. N.; GILANI, A. H. In vivo anthelmintic activity of *butea monosperma* against trichostrongylid nematodes in sheep. **Fitoterapia**, v. 77, n. 2, p. 137-140, Feb. 2006b.

IQBAL, Z.; LATEEF, M.; JABBAR, A.; MUHAMMAD, G.; KHAN, M. N. Anthelmintic activity of *calotropis procera* (ait.) ait. f. flowers in sheep. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 102, n. 2, p. 256-61, Nov. 2005.

IQBAL, Z.; LATEEF, M.; KHAN, M. N.; JABBAR, A.; AKHTAR, M. S. Anthelmintic activity of *swertia chirata* against gastrointestinal nematodes of sheep. **Fitoterapia**, v. 77, n. 6, p. 463-65, Sep. 2006a.

IQBAL, Z.; SARWAR, M.; JABBAR, A.; AHMED, S.; NISA, M.; SAJID, M. S.; KHAN, M. N.; MUFTI, K. A.; YASEEN, M. Direct and indirect anthelmintic effects of condensed tannins in sheep. **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 1-2, p. 125-131, Mar. 2007.

JABBAR, A.; IQBAL, Z.; KHAN, M.N. In vitro anthelmintic activity of *trachyspermum ammi* seeds. **Pharmacognosy Magazine**, v. 2, n. 6, p. 126-129, Apr./Jun, 2006.

KABUKI, T., NAKAJIMA, H., ARAI, M., UEDA, F., KUWABARA, Y. & TOSAKO, F. S. Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*mangifera indica* L.) kernel seeds. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 61-66, Oct. 2000.

KAHIYA, C.; MUKARATIRWA, S; THAMSBORG, S. M. Effects of acacia nilotica and acacia karoo diets on *haemonchus contortus* infection in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 115, n.3, p. 265-74, July, 2003.

KEITH, R. K. The differentiation of infective larvae of some common nematode parasites of cattle. **Australian Journal of Zoology**, v. 1, n. 2, p. 223-235, Aug. 1953.

KETZIS, J. K.; TAYLOR, A.; BOWMAN, D. D.; BROWN, D. L.; WARNICK, L. D.; ERB, H. N. *Chenopodium ambrosioides* and its essential oil as treatments for *haemonchus contortus* and mixed adult-nematode infections in goats. **Small Ruminantes Research**, v. 44, n. 3, p. 193-200, June, 2002.

KOMEN, C.; WANJALA, F. M.; KIPRONO, P. C. Efficacy of *jasminum abyssinicum* treatment against *haemonchus contortus* in sheep. **African Journal of Traditional Complementary and Alternative Medicines**, v. 2, n. 3, p. 264-68, Dec. 2005.

KRYCHAK-FURTADO, S. **Alternativas fitoterápicas para o controle da verminose ovina no estado do Paraná: testes in vitro e in vivo**. 2006. 147 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Departamento de fitotecnia e fitossanitarismo. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006.

KRYCHAK-FURTADO, S.; NEGRELLE, R. B.; MIGUEL, O. G.; ZANIOLO, S. R.; KAPRONEZAI, J.; RAMOS, S. J.; SOTELLO, A. Efeito de carica papaya L. (caricaceae) e musa paradisíaca Linn. (musaceae) sobre o desenvolvimento de ovos de Nematodeos gastrintestinais de ovinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, n. 2, p. 191-97, abr./jun. 2005.

LAKSHMINARAYANA, G., CHANDRASEKHARA, R. T., RAMALINGASWAMY, P. A. A Variations in content, characteristic and composition of mango seeds and fat. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 60, n. 1, p.88-89, jan.1983.

LANGE, K. C.; OLCOTT, D. D.; MILLER, J. E.; MOSJIDIS, J. A.; TERRILL, T. H.; BURKE, J. M. KEARNEY, M. T. Effect of sericea lespedeza (*lespedeza cuneata*) fed as hay, on natural and experimental *haemonchus contortus* infections in lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 141, n.3/4, p. 273-78, Nov. 2006.

LATEEF, M.; IQBAL, Z.; AKHTAR, M.; JABBAR, A.; KHAN, M.; GILANI, A. Preliminary screening of *trachyspermum ammi* (L.) seed for anthelmintic activity in sheep. **Tropical Animal Health and Production**, v. 38, n. 6, p. 491-96, Aug. 2006.

LE JAMBRE, L. F.; DOBSON, R. J.; LENANE, I. J.; BARNES, E. H. Selection for anthelmintic resistance by macrocyclic lactones in *Haemonchus contortus*. **International Journal for Parasitology**, v. 29, n. 7, p. 1101-1111, July, 1999.

LEBOEUF, M.; CAVE, A.; BHAUMIK, P. K.; MUKHERJEE, B.; MUKHERJEE, R. The phytochemistry of the annonaceae. **Phytochemistry**, v. 21, n. 12, p. 2783-2813, Mar. 1982.

LIMA, M. D. **Perfil cromatográfico dos extratos brutos das sementes de *Annona muricata* L. e *Annona squamosa* L. através da cromatografia líquida de alta eficiência.** 2007. 160 f. Dissertação (Mestrado em química e Biotecnologia) - Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2007.

LORENZI, H. **Árvores brasileiras:** manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: Plantarum, 1998. v. 2, 368 p.

MACEDO, F. R. **Efeitos da administração da folha de nim indiano (*azadirachta indica* A. juss) no controle de helmintos em ovinos infectados naturalmente.** 2007. 57 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, DF, 2007.

MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M.; CAMURCA-VASCONCELOS, A. L.; COSTA, C. T.; CASTRO, C. M. Ovicidal and larvicidal activity of melia azedarach extracts on haemonchus contortus. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1/2, p. 98-104, Aug. 2006.

MARLEY, C. L.; COOK, R.; BARRETT, J.; KEATINGE, R.; LAMPKIN, N. H. The effect of birdsfoot trefoil (*lotus corniculatus*) and chicory (*cichorium intybus*) on parasite intensities and performance of lambs naturally infected with helminth parasites. **Veterinary Parasitology**, v. 112, n. 3/4, p. 147-55, June, 2003.

MATOS, F. J. A. **Introdução à fitoquímica experimental.** 2. ed. Fortaleza: UFC, 1997. v.1. 141 p.

MELO, A. C. F. L. Nematodeos resistentes a anti-helmíntico em rebanhos de ovinos e caprinos do estado do Ceará, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n. 2, p. 339-344, abr. 2003.

MELO, A. C. F. L.; BEVILAQUA, C. M. L.; VILLAROEL, A. S.; GIRÃO, M. D. Resistência a antihelmínticos em nematóides gastrintestinais de ovinos e caprinos, no município de Pentecoste, Estado do Ceará. **Ciência Animal**, v. 8, n.1, p. 7-11, 1998.

MIN, B. R.; POMROY, W. E.; HART, S. P.; SAHLU, T. The effect of short-term consumption of a forage containing condensed tannins on gastrointestinal nematode parasite infections in grazing wether goats. **Small Ruminant Research**, v. 51, n. 3, p. 279-83, Mar. 2004.

MINHO, A. P. **Efeito anti-helmintico de taninos condensados sobre Nematodeos gastrintestinais em ovinos**. 2006. 168 f. Tese (Doutorado - Energia Nuclear na Agricultura) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2006.

MOLENTO, M. B. Resistência de helmintos em ovinos e caprinos. In: XIII CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13.; SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETISIOSES, 1., 2004, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto: Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v.13, 2004. Suplemento 1.

MOTTER, M. D. S.; SILVA, L. D.; BORGES-DE-OLIVEIRA, R.; YAMADA, A. T.; SANTOS, S. C.; SABÓIA-MORAIS, S. M. T. Índice mitótico em células epiteliais da brânquia de guaru (*Poecilia vivipara*) tratados com frações da casca do caule e da folha de pequi (*Caryocar brasiliensis*). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 41, n. 4, p. 221-227, July/Aug. 2004.

NUNOMURA, R. C. S.; SILVA, E. C. C.; OLIVEIRA, D. F.; GARCIA, A. M.; BOELONI, J. N.; NUNOMURA, S. M.; POHLIT, A. M. In vitro studies of the anthelmintic activity of *Picrolemma sprucei* hook. f. (simaroubaceae). **Acta Amazônica**, v. 36, n. 3, p. 327-30, ago. 2006.

OLIVEIRA, D. B.; AMORIM, A.; BRAGA, M. M.; MATTOS, D. G.; ALMOSNY, N. R. P. Atividade anti-helmíntica da babaneira (*Musa sp*) em caprinos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA, 15., 1997. Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1997. p. 65.

ONYEYILI, P. A.; NWOSU, C. O.; AMIN, J. D.; JIBIKE, J. I. Anthelmintic activity of crude aqueous extract of *Nauclea latifolia* stem bark against ovine nematodes. **Fitoterapia**, v. 72, n. 1, p. 12-21, Jan. 2001.

PAOLINI, V.; BERGEAUD, J. P.; GRISEZ, C.; PREVOT, F.; DORCHIES, P.; HOSTE, H. Effects of condensed tannins on goats experimentally infected with *Haemonchus contortus*. **Veterinary Parasitology**, v. 113, n. 3, p. 253-61, May, 2003.

PASSOS, X. P.; SANTOS, S. C.; FERRI, P. H.; FERNANDES, O. F. L.; PAULA, T. F.; GARCIA, A. C. F.; SILVA, M. R. R. Atividade antifúngica de *Caryocar brasiliensis* (caryocaraceae) sobre *Cryptococcus neoformans*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, São Paulo, v.35, n. 6, p.623-627, Nov./Dec. 2002.

PAULA-JUNIOR, W.; ROCHA, F. H.; DONATTI, L.; FADEL-PICHETH, C. M. T.; WEFFORT-SANTOS, A. M. Leishmanicidal, antibacterial, and antioxidant activities of caryocar brasiliense Cambess leaves hydroethanolic extract. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, p. 625-630, dez. 2006. Suplemento.

PESSOA, L. M.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M. L.; LUCIANO, J. H. S. Anthelmintic activity of essential oil of ocimum gratissimum linn. and eugenol against haemonchus contortus. **Veterinary Parasitology**, v. 109, n. 1, p. 59-63, Oct. 2002.

PINHEIRO, R. R.; GOUVEIA, A. M. G.; ALVES, F. S. F.; HADDAD, J. P. A. Aspectos epidemiológicos da caprinocultura cearense. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 52, n. 5, p. 534-543, out. 2000.

POWERS, K. G.; WOOD, I. B.; ECKERT, J.; GIBSON, T.; SMITH, H. J. World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (W.A.A.V.P.) guidelines for evaluating the efficacy of anthelmintics in ruminants (bovine and ovine). **Veterinary Parasitology**, v. 10, n. 4, p. 265-284, July, 1982.

POZO, O. V. C. **O pequi (Caryocar brasiliense)**: uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais. 1997. 100 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1997.

QUADROS, D. G.; RODRIGUES, L. R. A.; XAVIER, C. P.; SOUZA E CUNHA, M. L. C.; PEREIRA, D. C. S.; CUNHA NETO, W. C.; FEITOSA, J. V. Prevalência de helmintos gastrintestinais em cabras e ovelhas pastejando capim-mombaça. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004.

RAMOS, A. M.; COUTO, F. A.; REZENDE, P. M.; LELIS, F. M. V.; BENEVIDES, S. D.; PEREZ, R. **Manga Ubá**: boas práticas agrícolas para produção destinada à agroindústria. Viçosa: Editora UFV, 2005. v. 1. 64 p.

RAMOS, C.; PALOSCHI, C. G.; PERUSSOLO, S.; FREITAS, R. Gastrointestinal and pulmonary helminths in sheep on the Santa Catarina Plateau. In: CONFERENCE WORLD ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF VETERINARY PARASITOLOGY, 11., 1985, Rio de Janeiro. **Resumos...** Rio de Janeiro: WAAVP, 1985. p. 24.

RANGEL, V. B.; LEITE, R. C.; OLIVEIRA, P. R.; SANTOS JUNIOR, E. J. Resistência de cooperia spp. e haemonchus spp. às avermectinas em bovinos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 2, p.186-190, abr. 2005.

RIBEIRO, F. L. A.; GERASSEV, L. C.; DUARTE, E. R.; RUFINO, L. M. A.; MARINHO, E. M.; BONFA, H. C. Efeitos dos níveis de substituição do capim elefante (pennisetum purpureum, schumack) pelo farelo da casca de pequi (caryocar brasiliense camb) sobre a degradabilidade ruminal de PB e FDN em caprinos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 44., 2007, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: SBZ, 2007.

ROESLER, R.; MALTA, L. G.; CARRASCO, L. C.; PASTORE, G. Evaluation of the antioxidant properties of the brazilian cerrado fruit annona crassiflora (Araticum). **Journal of Food Science**, v. 71, n. 2, p. 102-107, May. 2006.

SALUNKHE, D. K.; CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S. **Dietary tannins: consequences and remedies**. Boca Raton: CRC Press, 1990. 200 p. Disponível em: <<http://books.google.com/books>>. Acesso em: 15 jan. 2008.

SANGSTER, N. C. Managing parasiticide resistance. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1/3, p. 89-109, July, 2001.

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: UFSC, 1999. 821 p.

SISTEMA PARA ANÁLISES ESTATÍSTICAS – SAEG. **Versão 9.1**: Fundação Arthur Bernardes. Viçosa: UFV, 2007.

SOUZA, M. M. C.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAIS, S. M.; COSTA, C. T. C., SILVA, A. R. A.; BRAZ-FILHO, R. Anthelmintic acetogenin from annona squamosa L. seeds. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 80, n. 2, p. 271-277, Jun. 2008.

SOUZA, P.; BELLATO, V.; SARTOR, A. A.; RAMOS, C. I. Período para desinfestação das pastagens por larvas de nematóides gastrintestinais de ovinos, em condições naturais nos campos de Lages, SC. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, p. 159-164, ago, 2000.

TERRILL, T. H.; MOSJIDIS, J. A.; MOORE, D. A.; SHAIK, S. A.; MILLER, J. E.; BURKED, J. M.; MUIR, J. P.; WOLFE, R. Effect of pelleting on efficacy of sericea lespedeza hay as a natural dewormer in goats. **Veterinary Parasitology**, v. 146, n. 1/2, p. 117-22, May, 2007.

THOMAZSOCCOL, V.; SOUZA, F. P.; SOTOMAIOR, C. S.; CASTRO, E. A.; MILCZEWSKI, V.; MOCELIN, G.; SILVA, M. resistance of gastrointestinal Nematodes to Anthelmintics in Sheep (*Ovis aries*) **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 41-47, Mar, 2004.

UENO, H. **Cultivo quantitativo de larvas de Nematodeos gastrintestinais de ruminantes com tentativa para prédiagnóstico**. Tokio: Japan International Cooperation Agency, 1995. 138 p.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tokyo: Internatinal Cooperation Agency, 4. ed. 1998. 143 p.

URQUHART, G. M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J. L.; DUNN, A. M.; JENNINGS, F. W. **Parasitologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990.

VASCONCELOS, A. L. C. F. **Avaliação da atividade anti-helmíntica dos óleos essenciais de *Lippia sidoides* e *croton zehntneri* sobre nematoides gastrintestinais de ovinos**. 2006. 83 f. Tese (Doutorado – Área de Concentração em Reprodução e Sanidade Animal) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2006.

VERA, R.; NAVES, R. V.; NASCIMENTO, J. L.; CHAVES, L. J.; LEANDRO, W. M.; SOUZA, E. R. B. Caracterização física de frutos do pequizeiro (*Caryocar brasiliense* camb.) no estado de Goiás. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 35, n. 2, p. 71-79, maio, 2005.

VIEIRA, L. S. **Alternativas de controle da verminose gastrintestinal dos pequenos ruminantes**. Sobral. EMBRAPA-CNPC, 2003. (Documentos, 29).

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R. Resistência anti-helmíntica em rebanhos caprinos no Estado do Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 19, n. 3/4, p. 99-103, jul. 1999.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; PEREIRA, M. F.; DANTAS, L. B.; XIMENES, J. F. Evaluation of anthelmintic efficacy of plants available in Ceará State, Northeast Brazil, for the control of goat gastrointestinal nematodes. **Revue Medicin Veterinaire**, v. 150, n. 5, p. 447-52, May, 1999.

VIEIRA, L. S.; CAVALCANTE, A. C. R.; XIMENES, L. J. F. **Epidemiologia e controle das principais parasitoses de caprinos nas regiões semi-áridas do Nordeste**. Sobral: Embrapa-CNPC, 1997. 50 p.


VIEIRA, P. A. F. **Caracterização dos resíduos de manga (Mangifera indica L.) e efeitos sobre o desempenho e os parâmetros bioquímicos em frangos de corte**. 2007. 92 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2007.

VIEIRA, R. F.; MARTINS, M. V. M. Estudos etnobotânicos de espécies medicinais de uso popular no cerrado. In: SAVANA SIMPOSIUM, 1998, Brasília. **Anais...** Brasília: Embrapa-CPAC, 1998. p. 169-171.

WALLER, P. J. Sustainable helminth control of ruminants in developing countries. **Veterinary Parasitology**. v. 71, n. 2/3, p.195-207, July, 1997.

WALLER, P. The development of anthelmintic resistance in ruminant livestock. **Acta Tropica**, v. 56, n. 2/3, p. 233-243, Mar. 1994.

ANEXO A – Certificado do CETEA



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
- C E T E A -

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 42/2008**, relativo ao projeto intitulado "**Epidemiologia e controle alternativo da helmintose ovina no norte mineiro com extratos de plantas e de fungos: experimentos (in vivo)**", que tem como responsável(is) **Eduardo Robson Duarte**, está(ão) de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pelo **Comitê de Ética em Experimentação Animal (CETEA/UFMG)**, tendo sido aprovado na reunião de **10/ 09/2008**.

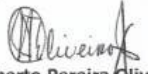
Este certificado expira-se em **10/ 09/ 2013**.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 42/2008**, related to the project entitled "**Epidemiology and alternative control of ovine helminthosis in the north of Minas Gerais with extracts of plants and fungi**", under the supervisors of **Eduardo Robson Duarte**, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Ethics Committee in Animal Experimentation (CETEA/UFMG)**, and was approved in **September 10, 2008**.

This certificate expires in **September 10, 2013**.

Belo Horizonte, 15 de Setembro de 2008.



Prof. Humberto Pereira Oliveira
Coordenador do CETEA/UFMG

Universidade Federal de Minas Gerais
Avenida Antônio Carlos, 6627 – Campus Pampulha
Unidade Administrativa II – 2º Andar, Sala 2005
31270-901 - Belo Horizonte, MG - Brasil
Telefone: (31) 3499-4516 – Fax: (31) 3499-4592
www.ufmg.br/bioetica/cetea - cetea@ppq.ufmg.br

(Mod. Cert. v1.0)